



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS

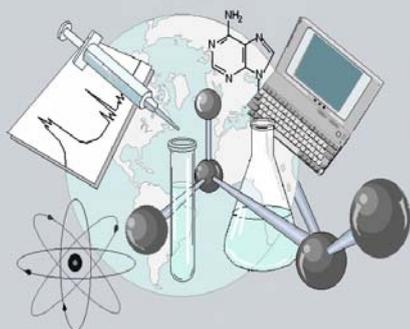
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

**Composição Química e Quantificação de Ácidos Graxos em chocolates, achocolatados em pó, bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolate**

Tese apresentada por **Rúbia Michele Suzuki** ao Programa de Pós-Graduação em Química do Departamento de Química do Centro de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Maringá como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

CEE



Centro de  
Ciências Exatas

MARINGÁ, MARÇO/2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



Universidade Estadual de Maringá

Centro de Ciências Exatas

Departamento de Química

Programa de Pós-Graduação em Química

Este é o exemplar definitivo da Tese apresentada por **Rubia Michele Suzuki**, perante a Comissão Julgadora do Programa de Pós-Graduação em Química em 27 de março de 2009.

**COMISSÃO JULGADORA:**

.....  
**Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza**

PRESIDENTE - DQI/UEM

.....  
**Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer**

MEMBRO - DQI/UEM

.....  
**Prof. Dr. Makoto Matsushita**

MEMBRO - DQI/UEM

.....  
**Profa. Dra. Karin Cristiane Justi**

MEMBRO - UNICENTRO

.....  
**Prof. Dr. Clayton Antunes Martin**

MEMBRO - UTFPR

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S968c Suzuki, Rúbia Michele  
Composição química e quantificação de ácidos graxos em chocolates, achocolatados em pó, bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolate / Rúbia Michele Suzuki. -- Maringá, 2009.  
xiii, 114 f. : il. color., figs.

Inclui bibliografia.  
Orientador : Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza.  
Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química, 2009.

1. Chocolates - Ácidos graxos - Composição química e quantificação. 2. Achocolatados em pó - Ácidos graxos - Composição química e quantificação. 3. Bebidas achocolatadas - Ácidos graxos - Composição química e quantificação. 4. Sorvetes de chocolate - Ácidos graxos - Composição química e quantificação. 5. Ácidos graxos trans - Chocolate. 6. Lipídios - Chocolate. 7. Química de alimentos. 8. Química analítica. I. Souza, Nilson Evelázio de, orient. II. Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Química, Programa de Pós-Graduação em Química. III. Título.

CDD 21.ed. 664.5

---

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS  
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**Composição Química e Quantificação de Ácidos  
Graxos em chocolates, achocolatados em pó,  
bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolate**

**RÚBIA MICHELE SUZUKI**

Tese para obtenção do grau de Doutor  
Orientador: Prof. Dr. Nilson Evelázio de Souza

**MARINGÁ  
2009**

---

## LINHA DE PESQUISA

## QUÍMICA DE ALIMENTOS



---

**“Somos responsáveis por nossa tragédia e por nossa glória”.**

**(Chico Xavier)**

**“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim”.**

**(Chico Xavier)**

**“Não há problema que não possa ser solucionado pela paciência”.**

**(Chico Xavier)**

“Dedico este trabalho ao acontecimento mais importante e que mais eu amo, minha filha Eloísa, pela compreensão, paciência, tolerância, carinho em mais uma etapa abençoada de minha vida. E aos meus pais, Akio e Edna, minha irmã, Gislaine pelo apoio e incentivo”.

---

---

## AGRADECIMENTOS

Um dia, só restarão recordações vagas e distantes. Mas sei que a cada vitória profissional que conquistar, estará em cada momento de minha vida.

Agradeço a Deus por estar presente em todos os momentos da minha vida.

A Eloísa, minha linda filha que muitas das vezes querendo brincar, ficou sentadinha, perto do meu computador somente para ficar próxima de mim.

A minha família, meus pais e minha irmã Gislaine, por ter “aturado” o meu mau humor e minha ausência nos finais de semana.

Ao meu orientador professor Dr. Nilson Evelázio de Souza, que me transmitiu seus conhecimentos e experiências, dedicação e compreensão, expressei meu agradecimento profundo e minha admiração.

Ao Departamento de Química que me forneceu subsídios para a realização deste trabalho.

Aos funcionários da Pós Graduação, Claudemir e Cristina por sempre estar dispostos a me ajudar.

Aos professores, Prof. Dr. Jesuí Vergílio Visentainer, por compartilhar seus conhecimentos e ao prof. Dr. Makoto Matsushita, pelo auxílio na operação do cromatógrafo.

Ao técnico Dirceu Batista de Souza pela cooperação no decorrer do trabalho.

Ao André, Airton e Ari (laboratório de extensão) por sempre me socorrerem com reagentes, materiais, e, pela grande amizade.

A meu colega Clayton Antunes por ter sido a primeira pessoa a me receber no laboratório e a me “apresentar” ao cromatógrafo.

As minhas amigas Ailey, que sempre me deu o ombro para desabafar, a Maria Cristina, que me amparou todas as vezes que mais precisei em todos os estágios deste trabalho e a Paula, que trabalhou comigo e acordou várias vezes de “madrugada” para que este trabalho fosse concluído

Aos meus colegas de trabalho, Juliana, Vanessa, Elton, Jhony, Gisele, Adriana, Carla, Ivane, e Ricardo que estiveram a todo o momento participando em cada processo do meu trabalho.

A todos aqueles que de alguma forma me incentivaram e contribuíram para a realização deste projeto.

---

---

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS .....	viii
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	03
2.1. Chocolate.....	03
2.1.1. Apontamento histórico do chocolate .....	03
2.1.2. Fabricação do chocolate .....	08
Limpeza .....	10
Fermentação.....	10
Torra .....	11
Quebra e separação .....	11
Trituração.....	11
Operações de produção de chocolate .....	13
Mistura .....	13
Refinação .....	14
Conchagem .....	15
Temperagem .....	16
Moldagem .....	18
Zona de embalagem .....	19
Armazenagem .....	19
2.1.3. Benefícios do chocolate.....	19
2.1.4. Alimentos que contém chocolate .....	23
Achocolatados.....	23

---

Sorvete .....	24
2.2. Alimentos <i>diet</i> e <i>light</i> .....	27
2.3. Lipídios e ácidos graxos <i>trans</i> (AGT).....	28
2.3.1. Formação dos ácidos graxos <i>trans</i> (AGT) .....	30
2.3.2. Ácidos graxos <i>trans</i> e suas implicações na saúde .....	32
2.3.3. Análise de ácidos graxos <i>trans</i> .....	34
2.3.4. Análise por cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos de ácidos graxos com detector de ionização em chama .....	38
3. OBJETIVOS.....	45
3.1. Objetivo geral.....	45
3.2. Objetivos específicos .....	45
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
4.1. Amostras.....	45
4.2. Composição centesimal.....	47
4.3. Cálculo dos carboidratos e valor energético .....	48
4.4. Esterificação dos ácidos graxos .....	48
4.5. Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos .....	49
4.6. Quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos .....	49
4.7. Análise estatística.....	50
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	51
5.1. Análises químicas.....	51
5.1.1. Composição centesimal dos chocolates .....	51
5.1.2. Composição centesimal dos produtos contendo chocolate .....	56
5.2. Composição lipídica.....	64
5.2.1. Identificação e quantificação dos ácidos graxos dos chocolates.....	64
5.2.2. Identificação e quantificação dos ácidos graxos dos produtos contendo chocolate .....	78
5.3. Análise da amostra certificada .....	86

---

---

---

6. CONCLUSÕES .....	88
7. REFERÊNCIAS .....	89
8. ANEXOS .....	105

## LISTA DE FIGURAS

1. Fluxograma da fabricação de chocolate.....	09
2. Estrutura básica de sistema numérico dos flavonóides.....	21
3. Estrutura de um flavan-3-ol na forma monomérica .....	21
4. Estruturas e pontos de fusão dos ácidos esteárico, oléico e elaídico .....	30
5. Mecanismo de reação de transesterificação de um triacilglicerol com metanol na presença de hidróxido de sódio.....	39
6. Mecanismo de reação de transesterificação de um triacilglicerol com metanol na presença de um catalisador ácido .....	40
7. Mecanismo de reação de esterificação de um ácido graxo com metanol na presença de catalisador ácido.....	41
8. Amostras de chocolates .....	46
9. Amostras de produtos contendo chocolate. ....	47
10. Teor de lipídios dos chocolates das marcas normais A e B e <i>diets</i> pretos (g/100g de chocolate). ....	55
11. Teores de lipídios dos chocolates normais pretos e brancos das marcas C, D e E (g/100g de chocolate) .....	56
12. Gráfico do comportamento de ácidos graxos entre chocolate <i>diet</i> X chocolate normal.....	69
13. Valores de 16:0 para os chocolates normal, <i>diet</i> e branco das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).....	73
14. Valores de AGS obtidos experimentalmente e descritos nos rótulos nutricionais para os chocolates normais, <i>diets</i> e branco das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate) .....	74
15. Percentagens de calorias com AGS obtidos experimentalmente para chocolates normais, <i>diets</i> e brancos das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).....	75

16. Valores de AGT (18:1-9t) para os chocolates normal, <i>diet</i> e branco das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).....	76
17. Quantidade permitida nas amostras (gramas) de chocolate normais preto, branco e <i>diet</i> , seguindo as normas recomendada, teor de gordura <i>trans</i> menor ou igual a 0,2g/porção .....	78
18. Perfil dos AGT nas amostras (gramas) de produtos contendo chocolate de marcas diferentes na forma normal e <i>light</i> (g/100g de amostra).....	85

## LISTA DE TABELAS

1. Composição centesimal dos chocolates normais pretos de diferentes marcas (g/100g).....	51
2. Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates normais pretos (g/100g).....	51
3. Composição centesimal dos chocolates normais e <i>diets</i> pretos (g/100g).....	52
4. Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates normais e <i>diets</i> pretos (g/100g). ....	52
5. Composição centesimal de chocolates normais brancos das diferentes marcas (g/100g). ....	53
6. Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates brancos (g/100g).....	53
7. Composição centesimal dos achocolatados normais e <i>lights</i> em pó (g/100g amostra).....	57
8. Composição centesimal dos achocolatados normais e <i>lights</i> em pó (g/100g amostra) presentes nos rótulos.....	57
9. Composição centesimal de bebidas achocolatadas normais e <i>lights</i> (g/100g amostra) .....	60
10. Composição centesimal de bebidas achocolatadas normais e <i>lights</i> (g/100g amostra) presente nos rótulos. ....	61
11. Composição centesimal dos sorvetes de chocolate normal e <i>light</i> (g/100g amostra).....	62
12. Composição centesimal dos sorvetes normal e <i>light</i> (g/100g amostra) presentes nos rótulos.....	63
13. Perfil de ácidos graxos em chocolates normais pretos (g/100g de chocolate) .....	66
14. Perfil de ácidos graxos em chocolates normais pretos e <i>diets</i> (g/100g de chocolate) .....	67

---

15. Perfil de ácidos graxos em chocolates brancos (g/100g de chocolate) .....	71
16. Ácidos graxos saturados (AGS) encontrados por MInim e Cecchi (1998), chocolates pretos das marcas A e E (mg/g de lipídios) .....	72
17. Perfil de ácidos graxos em achocolatados em pó normal e <i>light</i> (mg/100g de amostra).....	80
18. Perfil de ácidos graxos em sorvete normal e <i>light</i> (mg/100g de amostra).....	82
19. Perfil de ácidos graxos em bebidas achocolatadas normal e <i>light</i> (mg/100g de amostra).....	84
20. Análise da amostra certificada .....	87

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi caracterizar através da composição centesimal e da quantificação em ácidos graxos, as diferenças entre chocolates normais (branco e preto) e *diets*, produtos (achocolatados em pó, bebidas achocolotadas e sorvetes de chocolate) contendo chocolate na forma normal e *light*, com ênfase aos ácidos graxos *trans*. Foram analisadas as principais marcas de chocolates pretos na forma normal e *diet* e branco, produtos contendo chocolate como sorvetes, achocolatados (pó e líquido) na forma normal e *light*, comercializados em diferentes supermercados da região de Maringá. As marcas foram designadas por letras, sendo avaliados cinco lotes por marca e três unidades por lote. Cada lote foi analisado separadamente em triplicatas. Foi constatado que entre chocolates e achocolatados das mesmas marcas, os dietéticos e os *lights*, respectivamente, apresentaram maiores teores de lipídios. Comparando-se os chocolates normais pretos e brancos das marcas C, D e E, verifica-se que o teor de lipídios dos chocolates brancos foram superiores aos chocolates pretos. Para o sorvete de chocolate *light* o teor de lipídios totais (2,78%) foi inferior ao sorvete normal. Foi utilizado material de referência certificado (leite em pó) para avaliação da exatidão do método de quantificação de ácidos graxos utilizado. A recuperação pode ser considerada quantitativa se for maior que 80%. Dentre as amostras analisadas os ácidos graxos saturados (AGS) destacaram-se os ácidos mirístico (14:0), palmítico (16:0), esteárico (18:0). Dos ácidos graxos monoinsaturados (AGMI), polinsaturados (AGPI) e os ácidos graxos *trans* destacaram-se o oléico (18:1n-9), LA (18:2n-6) e o elaídico (18:1-9t), respectivamente. A quantidade de ácidos graxos *trans* encontrados nas amostras analisadas esteve abaixo e/ou igual ao limite permitido (2,00 g de gordura, numa dieta de 2.000 Cal). Dessa forma, para as bebidas achocolatadas (achocolatado líquido) de marca K *light* e normal seria necessário ingerir 2000 e 250g, respectivamente, logo, para a bebida achocolatada de marca L *light* e normal seria permitido ingerir no máximo 20000 e 400g, respectivamente deste produto para alcançar o limite mínimo de ingestão. Entretanto, para achocolatado em pó não foi identificado ácidos graxos *trans*. Em relação ao sorvete, seria necessário ingerir 1,29Kg de sorvete S na forma *light* e 2000g de sorvete S na forma normal para alcançar o limite mínimo de ingestão. Contudo, todos os produtos analisados estavam abaixo do limite permitido em relação aos ácidos graxos *trans*.

**Palavras chaves:** caracterização química, ácidos graxos, chocolates, produtos de chocolate, lipídios.

## ABSTRACT

Differences between normal (white and black) and diet chocolates and other chocolate products (chocolate powder, chocolate beverages and chocolate ice-creams), featuring normal and light chocolates, with special emphasis on trans fatty acids, are provided by means of their centesimal composition and fatty acids quantification. Main chocolate trademarks, normal and diet modalities, white chocolates, and chocolate products, such as ice-cream, normal and light chocolate powders and liquids, sold in several supermarkets in the region of Maringá PR Brazil, were analyzed. Trademarks were tagged by letters. Whereas five groups were evaluated by trademark, with three units per group, each group was analyzed separately and in triplicate. Results show that chocolate and chocolate products, diet and light, of the same trademark had respectively higher lipid rates. When normal chocolates, black and white, of trademark C, D and E were compared, lipid rates of white chocolates were higher than those in black chocolates. Total lipids (2.78%) in light chocolate ice-cream were lower than in normal ice-cream. Certified reference material (powdered milk) confirmed preciseness of quantification method for fatty acids. Quantitative recovery occurred when it was higher than 80%. Myristic (14:0), palmitic (16:0), stearic (18:0) acids were conspicuous among samples of saturated fatty acids (SFA) analyzed. Oleic (18:1n-9), LA (18:2n-6) and elaidic (18:1-9t) acids were respectively conspicuous among mono-insaturated (AGMI), polyinsaturated (AGPI) and trans fatty acids. Amount of *trans* fatty acids in samples analyzed was lower than and/or equal to permitted level (2.00 g of fat within a 2,000-cal diet). An input of 2000 and 250g respectively is respectively necessary for trademark K light and normal chocolate beverages. Consequently, in the case of chocolate beverage of trademark L, light and normal, maximum 20,000 and 400g should be respectively the product's intake. However, no trans fatty acids were found in powder chocolate products. Further, intake of 1.29kg of light ice-cream S and 2,000g of normal ice-cream S is necessary for minimum limits. All analyzed products were below the allowed limit for *trans* fatty acids.

**Key words:** chemical characterization; fatty acids; chocolates; chocolate products; lipids.

## 1. INTRODUÇÃO

O chocolate é o produto obtido por processamento de manufatura adequado, a partir da mistura de um ou mais ingredientes: farelo de cacau (conhecido internacionalmente como “caca nibs”), massa ou pasta de cacau, ou “liquor”, manteiga de cacau, com ou sem ingredientes opcionais permitidos pelo Food and Agricultural Organization (Mini e Cecchi, 1998).

O consumo do chocolate nos últimos tempos esteve associado à maior ingestão de gorduras saturadas com conseqüente elevação do colesterol e aumento do risco de doenças crônicas. Contudo, atualmente verifica-se uma tendência à valorização do chocolate, com estudos comprovando seus benefícios à saúde e estimulando o seu consumo diário (Ding *et al.*, 2006).

O chocolate é considerado um alimento medicinal tendo diversas aplicabilidades. Os benefícios atribuídos ao chocolate devem-se à presença de flavonóides encontrados no cacau, como aumento da capacidade antioxidante no plasma, redução de agregação plaquetária.

O cacau utilizado no chocolate não está na forma de grãos, pois estes não fornecem gordura suficiente para a fabricação de chocolate. O produto utilizado é a manteiga de cacau (Mini e Cecchi, 1998). Mesmo o chocolate apresentando quantidades benéficas de flavonóides, eles contêm quantidades de gorduras saturadas que não permitem o seu consumo em grande quantidade e com frequência.

A formação de ácidos graxos *trans* (AGT) durante o processo de hidrogenação na indústria é muito útil, pois estes conferem às gorduras hidrogenadas características físicas semelhantes às das gorduras saturadas, como por exemplo maior ponto de fusão, associadas às modificações das características químicas sensoriais (Azevedo e Gonçalves, 1999).

Apesar da sua utilidade tecnológica, os efeitos do consumo desses ácidos graxos nos alimentos têm apresentado grande controvérsia, no que diz respeito ao efeito dos ácidos graxos na fisiologia e metabolismo humano.

A saúde e o bem estar do ser humano têm sido foco constante de muitas pesquisas na área de alimentos processados. Nos últimos anos observa-se uma maior preocupação da população com a alimentação e a demanda por produtos mais saudáveis vem crescendo a cada ano. A comprovação dessa afirmação pode ser evidenciada no dia a dia, pois está evidente nas prateleiras dos supermercados o aumento constante da oferta de alimentos dietéticos e de reduzidas calorias (*lights*), baixa caloria, enriquecido com fibras, minerais, ou com algum outro composto que comprova o bem estar do consumidor.

Um dos grandes acontecimentos no setor de chocolates, balas e confeitários foi o surgimento de ingredientes substitutos do açúcar e da gordura, surgindo, portanto os produtos *diet* e *light*. Devido a isso, houve um grande desenvolvimento industrial, principalmente porque o consumidor passou a entender melhor os benefícios desses produtos, além da preocupação com a saúde em geral e o controle de calorias ingeridas têm aumentado consideravelmente nos últimos anos.

Este trabalho aborda uma breve revisão bibliográfica sobre o chocolate, alimentos contendo chocolate, ácidos graxos *trans*, alimentos *diets* e *lights*. A parte experimental refere-se à quantificação de ácidos graxos com ênfase aos ácidos graxos *trans*, presentes em diferentes marcas de chocolate, entre normais (branco e preto) e *diets*, bem como os produtos contendo chocolate na forma normal e *light*, achocolatados em pó e líquido (bebidas achocolatadas) e sorvetes, além da determinação da composição centesimal desses alimentos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1- Chocolate

#### 2.1.1- Apontamentos históricos do Chocolate

Uma lenda asteca conta que o Deus da luta roubou uma árvore de cacau da terra dos filhos do Sol para presentear seus amigos com a “delícia dos deuses” (Minifie, 1989). Essa lenda influenciou Linneu, que classificou a planta, denominado-a *Theobroma caçãõ L.*, que significa “alimento dos deuses” (Minifie, 1989; McFaden e France, 2003). Esta planta, *Theobroma caçãõ*, pode ser dividida em dois grupos diferentes. O primeiro grupo é conhecido como Crioulo e o segundo grupo como Forasteiro (De Zaan, 1993). O grupo Forasteiro é o tipo de cacau mais comercializado no Brasil.

As primeiras plantações de cacau conhecidas, foram estabelecidas pelos Maias, nas planícies a sul de Yucatan, cerca de 600 aC (Beckett, 2000).

Quando os europeus descobriram a América Central, as árvores do cacau estavam sendo plantadas pelos Astecas no México e pelos Incas no Peru. As favas de cacau eram extremamente valiosas, usadas como uma moeda de troca e também para produzir uma bebida conhecida como “*chocolat*”. As favas eram torradas em potes de barro e esmagadas entre pedras, por vezes eram utilizadas mesas decoradas aquecidas ou pedras de moinho. A pasta obtida desta forma poderia ser adicionada em bolos ou em água fria para fazer a bebida. Baunilha, especiarias ou mel eram adicionados frequentemente à bebida agitando-a vigorosamente para torná-la mais espumosa (Beckett, 2000).

Cristóvão Colombo comprou e levou para a Europa algumas favas de cacau só por curiosidade (Beckett, 2000).

Em 1520, após a conquista do México, Don Cortez apresentou a bebida na Espanha, a qual foi adicionada açúcar para superar os *flavours*, amargo e adstringente, mas a bebida permaneceu virtualmente desconhecida no resto da Europa por quase cem anos. Foi para a Itália em 1606 e França em 1657 (Beckett, 2000). Era considerada uma bebida para a aristocracia, devido ao seu

elevado custo, a sua expansão foi associada à ligação entre famílias poderosas, por exemplo, a princesa espanhola, Anna de Áustria, que apresentou a bebida ao seu esposo Louis XII de França e a corte francesa em 1615 (Beckett, 2000; Dillinger *et al*, 2000).

As primeiras casas de bebida de chocolate foram estabelecidas em Londres em 1657 (Beckett, 2000) e em 1727 foi adicionado leite à bebida, esta idéia foi atribuída a Nicholas Sanders (Beckett, 2000). Surgiu então um problema com o chocolate, que era muito gorduroso. Mais da metade da fava é manteiga de cacau e esta irá derreter em água quente tornando partículas de cacau difíceis de dispersar, assim como o aspecto desagradável, porque a gordura vem à superfície (Beckett, 2000).

Em 1828 o holandês, Conrad Van Houtten, encontrou uma forma de modificar a bebida, removendo parte da gordura. Ele desenvolveu a prensa de cacau, extraindo, portanto a gordura do cacau moído, obtendo-se assim a manteiga de cacau. Os cotilédones da fava de cacau eram prensados para produzir um “bolo” duro, com cerca da metade da gordura removida, era moída até ficar em pó, que poderia ser utilizada depois para produzir uma bebida muito menos gordurosa. Para fazer este pó dispersar melhor na água quente ou no leite, o holandês começou a tratar as favas de cacau durante o processo de torra, com um líquido alcalino, que ficou conhecido como o Processo de Dutching. Mudando o tipo de agente alcalino, também é possível alterar a cor do cacau em pó (Beckett, 2000).

Com o uso das prensas para remover a manteiga de cacau, os produtores de cacau em pó tiveram que procurar um mercado para esta gordura, problema que foi resolvido por confeitos que pensavam que o chocolate para comer poderia ser produzido fazendo uma mistura moída de açúcar e favas de cacau. No entanto, desta mistura resultava um material friável e duro, assim, adicionando a gordura extra, este iria cobrir as partículas sólidas, formando a barra uniforme e dura, conhecida hoje, que derrete na boca. Quase vinte anos depois da invenção da prensa, em 1847, a primeira

fábrica britânica foi estabelecida em Bristol no Reino Unido por Joseph Fry (Beckett, 2000; McFadden e France, 2003).

Ao contrário de Conrad Van Houtten, Fry usou as máquinas a vapor, recentemente desenvolvidas, para fornecer energia à sua fábrica. É interessante referir, que muitas das primeiras companhias de chocolate, incluindo a Cadbury, Rowntree e Hershey (EUA) foram fundadas por Quakers ou por pessoas de convicções religiosas semelhantes, isto pode ter sido porque as convicções pacíficas e abstinências os protegiam, conseguindo assim trabalhar em muitas indústrias. No fim do ano de 1890, a Cadbury e a Rowntree foram para fora das suas cidades, já Fry permaneceu no centro de Bristol e não se expandiu tão rapidamente como as outras duas companhias. Posteriormente Fry tornou-se parte da Cadbury (Beckett, 2000).

Com o desenvolvimento do chocolate para comer, a procura do cacau aumentou grandemente, inicialmente o cacau vinha das Américas. A primeira plantação de cacau no Brasil foi no estado da Bahia em 1746. (Beckett, 2000).

Em 1879 um ferreiro africano ocidental levou algumas plantas para a Costa Dourada (hoje Gana). O governador britânico percebeu seu potencial e encorajou a plantação de árvores, como resultado Gana tornou-se a maior fonte de cacau de qualidade (Beckett, 2000).

Em 1876, surge o primeiro chocolate de leite, feito por Daniel Peter na Suíça. O chocolate não pode conter muita umidade, porque a água reage com o açúcar e torna o chocolate derretido numa pasta, em vez de um líquido de escoamento suave. O que significa que Daniel Peter teve que encontrar uma forma de secar o abundante leite líquido. Problema que foi resolvido, pelo desenvolvimento da fórmula do leite condensado, por Henri Nestlé. O que significa que ele tinha muito menos água para evaporar. Também ele foi capaz de remover a umidade restante, usando máquinas relativamente baratas (Beckett, 2000).

Em 1880, Rodolphe Lindt, na sua fábrica na Suíça, inventou uma máquina que produzia chocolate mais macio e com melhor sabor. Esta foi

conhecida como concha, devido à sua forma, que consistia numa gamela de granito, com um cilindro, normalmente do mesmo material, o qual empurra o chocolate morno de um lado para o outro durante vários dias, quebrando aglomerados e algumas partículas maiores e cobrindo-as todas com gordura. Ao mesmo tempo a umidade e algumas substâncias químicas ácidas evaporam-se, produzindo um chocolate mais macio e de sabor menos adstringente (Beckett, 2000; Beckett, 1999).

Em 1914, acontece a Primeira Guerra Mundial, determinando o fim da expansão das indústrias chocolateiras. Foram feitas restrições às exportações do produto. Tabletes de chocolates passaram a fazer parte da ração de emergência dos soldados americanos em serviço, porém não estavam adequados a este uso. Em 1934, o capitão Paul Logan desenvolveu uma fórmula de ração à base de chocolate, contendo cacau, açúcar, leite em pó desnatado, manteiga de cacau, vanilina, aveia e vitamina B1, que em seguida foi batizada de “Ração D”. A Companhia Hershey, desenvolveu nova “Ração D” para a Segunda Guerra Mundial, a qual continha outros ingredientes nutritivos e possuía cerca de 600 calorias. Durante a guerra foram produzidos cerca de meio milhão de tabletes por dia. Com fim da Segunda Guerra Mundial, as primeiras indústrias chocolateiras voltaram a aumentar suas produções e o chocolate se tornaria um dos produtos mais populares em todo o mundo (Beckett, 2000; McFadden e France, 2003).

Na primeira metade do século XX, o leite usado para fazer o chocolate tinha pouca qualidade, o que causou problemas na indústria do chocolate, em que as maiores vendas eram no Natal, época do ano em que o fornecimento de leite fresco era muito limitado. No Reino Unido e em alguns países, isto levou ao desenvolvimento de um ingrediente intermediário, designado por Chocolate Crumb (Beckett, 2000; Beckett, 1999).

A fava de cacau contém substâncias conhecidas como antioxidantes, estas restringem o rompimento das gorduras, as que normalmente tornam a gordura do leite azeda. A adição de açúcar, já é conhecida para prolongar a vida-útil dos alimentos (usado em compotas), no entanto, os fabricantes de

chocolate adicionavam açúcar e cacau ao leite e secavam tudo junto, designando como chocolate crumb, que tinha um tempo de vida-útil de, no mínimo um ano (Beckett, 2000; Beckett, 1999).

O leite produzido durante o pico da primavera pode então ser usado para fazer o chocolate do Natal seguinte. Porém, o processo de secagem introduziu um *flavour* ao cozido do chocolate e é por esta razão que muitos chocolates do Reino Unido têm um sabor diferente de alguns do continente europeu, os quais são feitos com leite em pó (Beckett, 2000; Beckett, 1999).

Em 1930, surgiu o primeiro chocolate branco, este foi feito com açúcar, leite em pó e manteiga de cacau. As qualidades dos antioxidantes são preservadas, principalmente na substância escura do cacau, o que significa que o chocolate branco não tem tanta durabilidade como o chocolate ao leite, o qual deve ser mantido em uma embalagem opaca, a luz acelera a decomposição da gordura do leite (Beckett, 2000; Beckett, 1999).

Nos dias atuais, a parcela da população brasileira que consome chocolate passou de 57% em 1999, para 67% em 2007, conforme estudo realizado pelo IBOBE (IBOPE, 2008). O tablete de chocolate puro tem preferência da maioria (82%) e os bombons vêm logo em seguida (72%), enquanto as barras recheadas ficam em terceiro lugar na preferência nacional, com 58%.

O consumo *per capita* na região sudeste é o segundo maior do País (28,26), ficando atrás apenas da região Sul (28,58). Entretanto, é nessa região que se encontra o maior potencial de consumo de chocolates: 52,72%. Em seguida, estão as regiões Sul (17,88%), Nordeste (15,85%) e, mais distante, Centro-Oeste (8,15%) e Norte (5,39%).

## 2.1.2- Fabricação do Chocolate

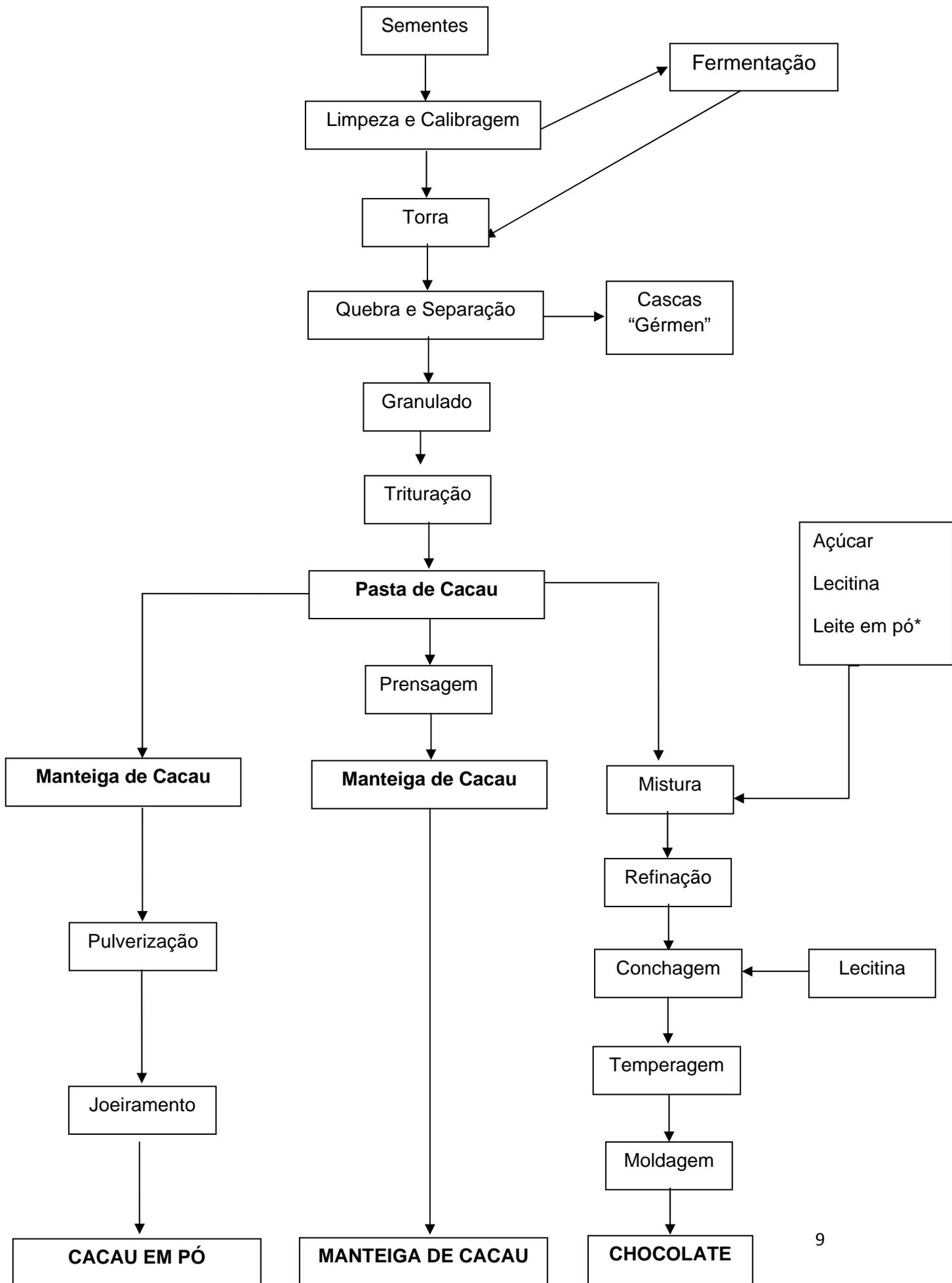
As normas internacionais recomendadas para a fabricação do chocolate têm como referência a FAO (Food and Agricultural Organization) e ICCO (Internacional Cocoa and Chocolate Organization), ambas de 1976, que se aplicam em diversos tipos de produtos homogêneos, preparados com *cocoa nibs* ou farelo de cacau, massa de cacau, pasta de cacau, manteiga de cacau ou cacau em pó com adição de açúcares, produtos lácteos e ingredientes opcionais previstos nas normas, de acordo com os tipos desejados de chocolate adequado, com diferentes rendimentos gordurosos (Minin e Cecchi, 1998; Minin, Cecchi e Minim, 1999).

Segundo a legislação brasileira, o chocolate deve ser obtido de matérias primas sãs e limpas, isentas de matéria terrosa, de parasitas, detritos de animais, cascas de semente de cacau e outros detritos vegetais. No preparo de qualquer tipo de chocolate, o cacau deve estar presente, no mínimo, na proporção de 32%. O açúcar empregado no seu preparo deve ser a sacarose, podendo ser substituída parcialmente por glicose. É expressamente proibido adicionar óleos estranhos a qualquer tipo de chocolate, bem como à manteiga de cacau. Também não podem ser adicionados amidos ou féculas estranhas (ANVISA, 1978).

O processo de transformar cacau em chocolate começa na seleção e mistura dos grãos. Em geral, são utilizadas diversas variedades de grãos. Todos os grãos são separados manualmente antes de começar a torrefação. E cada variedade de grãos é separada individualmente.

As operações do processo de fabricação do chocolate, podem ser observadas na Figura 1.

**Figura 1- Fluxograma da fabricação do chocolate**



\*Apenas adicionado em chocolate ao leite e em chocolate branco

## **- Limpeza**

Antes de ser processado, o cacau é sujeito a uma operação de limpeza. A finalidade é não só retirar os materiais estranhos, como fibras de juta, metais, areias, madeira, que iriam alterar o *flavour* e sobrecarregar o equipamento, como também é feita por questões de higiene. Esta separação pode ser feita por crivos, cama fluida ou separadores magnéticos (Minifie, 1989).

## **- Fermentação**

O cacau, para ser utilizado na fabricação do chocolate precisa passar por um processo de fermentação. A fermentação correta e posterior secagem da semente de cacau são fundamentais para o desenvolvimento de aromas e precursores.

O fruto do cacau é coletado da árvore e partido ao meio para a retirada das sementes. Um fruto pode conter de 30 a 40 sementes envolvidas na polpa do fruto. Após a remoção das sementes juntamente com a polpa, as mesmas são dispostas em caixas ou engradados para a fermentação. Em algumas regiões, ao invés de caixas especiais para a fermentação, utilizam-se folhas de bananeira (De Zaan, 1993; Wollgast e Anklam, 2000). A fermentação ocorre em duas etapas e o tempo médio de fermentação é de seis a sete dias revolvendo as sementes, duas vezes durante o processo (Baker, Tomilins e Gay, 1994). Este tempo pode variar dependendo se a semente é do tipo Criollo ou Forasteiro. Na primeira fase da fermentação, a polpa do fruto sofre a ação de fungos e microorganismos presentes na atmosfera, que realizam uma fermentação anaeróbica, na qual açúcares, carboidratos e proteínas são quebrados e convertidos em etanol, dióxido de carbono e ácido acético. O ambiente gerado pela decomposição da polpa se torna líquido, ácido, úmido e quente, o que inibe a germinação da semente e permite que as substâncias presentes no interior desta, migrem para fora da semente (De Zaan, 1993; Wollgast e Anklan, 2000). A polpa, após a fermentação se transforma em um

líquido, escorre e é drenada. Como resultado da drenagem, o ar é introduzido no sistema e começa a segunda etapa de fermentação (De Zaan, 1993).

### **- Torra**

É nesta operação que se desenvolve o *flavour* do cacau, a partir dos precursores resultantes de uma fermentação e secagem corretas. Livres das impurezas, as amêndoas de cacau são levadas aos torradores, visando realçar o sabor, reduzir a umidade e facilitar a retirada da casca. O cacau chega aos torradores com 7 a 8% de umidade e sai com 1,5 a 2%. A retirada de quase toda a água existente, é fundamental para um bom desempenho nas etapas seguintes de moagem e prensagem, evitando bloqueios nos moinhos (Minifie, 1989). A escolha do tempo e da temperatura da torra depende essencialmente das características do cacau comercial, do tipo de torrador e do produto que se pretende obter. A temperatura pode variar entre 95°C e 175°C e o tempo entre 15 e 70 minutos (Minifie, 1989; De Zaan, 1993).

### **- Quebra e Separação**

Torradas e com a umidade bem reduzida, as amêndoas passam pelo quebrador e descascador, recebendo a denominação de **nibs**, que é o cacau limpo, torrado, quebrado e descascado. As sementes são submetidas a uma ação de quebra pela ação de moinhos e rolos, que não deverão estar muito apertados, pois não interessa moer e sim apenas liberar os cotilédones (Minifie, 1989; De Zaan, 1993).

### **- Trituração**

Esta operação tem por objetivos, provocar a redução da dimensão das partículas e a ruptura das células dos cotilédones de modo a libertar a gordura neles existentes - manteiga de cacau. O calor resultante da fricção ou o

aplicado funde a manteiga de cacau, então o tamanho das partículas é reduzido tomando-se progressivamente mais fluida e solidificada após arrefecimento, a que se dá o nome de pasta de cacau (Minifie, 1989).

O processo de trituração influencia as características do produto final, condicionando assim a sua qualidade. As cascas e o gérmen, apesar de existirem em pequenas proporções, influenciam negativamente o “*flavour*” da pasta e, além disso, a trituração é dificultada pela presença de casca e de gérmen, bem como a umidade (Minifie, 1989).

A partir deste ponto do processo produtivo – obtenção da pasta de cacau – a produção pode divergir para uma das três direções. A pasta de cacau pode sofrer uma série de transformações, de modo ser convertida diretamente em chocolate, ou alternativamente pode ser usada para produzir manteiga de cacau ou cacau em pó (Rosa *et al.*, 2001).

Para obtenção da manteiga de cacau, a pasta de cacau é submetida a uma prensagem hidráulica que evita a formação de temperaturas elevadas. Desta prensagem obtém-se a gordura do cacau – manteiga de cacau – e a torta de cacau material desengordurado (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

Após a extração da gordura, a torta de cacau resultante é arrefecida, não só para que a manteiga de cacau presente se solidifique, mas também para facilitar a posterior pulverização (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

Após a pulverização, há uma operação de joeiramento, durante a qual as partículas finas são separadas das mais grosseiras, que voltam a ser trituradas. Obtém-se assim o cacau em pó (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

O cacau em pó cujo processamento tenha sido correto, e desde que seja convenientemente armazenado, poderá ser mantido em boas condições durante bastante tempo (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

## - Operações de Produção do Chocolate

- **Mistura**

Nesta fase são misturados os vários ingredientes necessários ao fabrico do chocolate. Para o chocolate escuro, é adicionado açúcar pulverizado à pasta de cacau, e a uma parte da manteiga de cacau, o emulsificante e os aromatizantes. No chocolate de leite, além de referidos, adiciona-se também leite em pó. Todos estes ingredientes devem ser misturados com alguma homogeneização e em quantidades específicas (Minifie, 1989).

O resultado desta primeira operação é uma pasta homogênea, denominada “pasta de chocolate”. Nesta fase, não se adiciona à totalidade da quantidade de manteiga de cacau, mas apenas o suficiente para que a massa adquira a consistência necessária, oscilando a percentagem total de gordura na massa entre os 20 e 25%. À quantidade restante adiciona-se mais tarde, durante a conchagem. O mesmo acontece com a lecitina (agente emulsificante), em que apenas de um terço a um quarto é adicionada na mistura (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

O processo de chocolate ao leite é idêntico ao chocolate escuro, apenas diferenciando deste, pelo fato de na mistura incluir o ingrediente leite, que está ausente no fabrico do chocolate escuro. No chocolate ao leite, existem diferenças de *flavour*, conforme se utilize leite em pó, como é o caso da Europa Continental, ou leite líquido (“processo Crumb”), como é o caso da Inglaterra e algumas zonas da América (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

O fator textura possui já, no início do processo, um papel relevante, pois se esta for muito quebradiça a pasta não irá escalar corretamente nos rolos de refinação. Se, pelo contrário, a textura for muito dura, muito compacta, a passagem entre os rolos irá ser retardada e/ou incerta (Minifie, 1989).

Nesta fase, é necessário garantir a precisão da dosagem de cada constituinte da receita, a fim de garantir a repetição da operação. De modo a assegurar esta repetibilidade, toma-se igualmente necessário promover a homogeneização da mistura, através do estabelecimento de um tempo de

mistura preciso, para que exista uma consistência constante e que geralmente oscila entre 12 a 15 minutos (Minifie, 1989).

- **Refinação**

Esta operação tem como objetivo principal, a redução da dimensão das partículas dos constituintes da pasta de chocolate produzida durante a mistura, por ação de forças de atrito, de cisalhamento e abrasivas (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

Minifie (1989) refere que para o chocolate ao leite, um diâmetro de partículas refinadas menor que 25  $\mu\text{m}$ , conduzirá a uma textura viscosa, enquanto que a presença de uma pequena porção de partículas, com dimensões superiores a 65  $\mu\text{m}$ , resultará numa melhor textura. Segundo este autor, as partículas devem ser iguais ou inferiores a 35  $\mu\text{m}$ .

De modo geral, são utilizados refinadores de rolos, que são constituídos por três ou cinco rolos montados verticalmente, que rodam em direções opostas e que sob elevada pressão, pulverizam as partículas para dimensões de 20 – 30  $\mu\text{m}$  ou superiores a 15  $\mu\text{m}$ , respectivamente no Reino Unido e restante da Europa (Rosa *et al.*, 2001).

A pasta de chocolate é forçada a passar entre dois rolos mais baixos e um filme de pasta é então transferido para os de imã, por velocidade de rotação dos rolos aumentarem da base para o topo (Minifie, 1989). Este processo é contínuo até chegar ao último cilindro, donde um raspador retira o produto sob a forma de pó fino. Este processo físico de redução de granulometria é devido ao esmagamento das partículas por efeito de pressão e da força de corte, pela diferença na velocidade dos cilindros (Rosa *et al.*, 2001).

Nos refinadores mais modernos, a pressão entre os rolos é controlada hidraulicamente e cada rolo é arrefecido internamente com jatos de água, cuja temperatura é termostaticamente regulada. É essencial, um correto arrefecimento, pois estas máquinas geram quantidade considerável de calor, resultante da fricção, que se não for imediatamente dissipado, poderá provocar

uma distorção nos rolos, com conseqüente refinação desigual (Rosa *et al.*, 2001).

Embora, o principal papel da refinação, seja reduzir a dimensão das partículas, o refinador atua igualmente como dispersor, na medida em que os aglomerados são “polidos” e as partículas “molhadas” como a gordura líquida. A ação de dispersão do refinador leva a que os outros objetivos desta operação sejam facilitar a distribuição da massa de cacau pelos outros ingredientes e provocar desenvolvimento de *flavour* (Minifie, 1989).

A refinação pode provocar alterações de cor. Assim, em igualdade de outros fatores, quanto menor for à dimensão das partículas resultantes desta operação, mais escuro será a cor do chocolate (Rosa *et al.*, 2001).

- **Conchagem**

Trata-se de um processo em que o chocolate é agitado mecanicamente, é fundamental para a formação das características do produto final, principalmente da textura e do *flavour* (Minifie, 1989).

Após a refinação, a pasta de chocolate não está suficientemente suave para o palato, os *flavours* dos ingredientes ainda não foram combinados e o “aroma puro” ainda não está definido. Estas carências são resolvidas com a conchagem, etapa obrigatoriamente presente na fabricação do chocolate de alta qualidade. O preço desses produtos reflete não só a superior qualidade dos ingredientes básicos, como também o custo do processamento de conchagem (Rosa *et al.*, 2001).

A manteiga de cacau desempenha um papel fundamental na “conchagem”, por ser um grande contribuinte para o melhoramento da textura, que envolvendo as partículas do chocolate, o tornam mais macio e mais fluído. As condições requeridas neste processo (tempo e temperatura) dependem do tipo de concha utilizada, do tipo do chocolate elaborado e das características dos ingredientes utilizados no chocolate e também a qualidade de *flavour* que se pretende obter. Por exemplo, para a produção de um chocolate de boa qualidade, o tempo de “conchagem” pode chegar às 72 horas (Martin, 1994).

As temperaturas de “conchagem” para um chocolate escuro podem atingir 80 ou 100 °C, enquanto que no chocolate ao leite, as temperaturas situam-se entre 45 e 60 °C. Segundo Martin (1994), acima dos 60°C as proteínas do leite alteram-se fisicamente podendo afetar o *flavour* e a textura.

A lecitina é um agente emulsificante capaz de reduzir a viscosidade da massa. Quando adicionada ao chocolate, este fica mais fluído, o que permite a confecção de chocolates com menor quantidade de manteiga de cacau, que como se sabe é muito dispendioso (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

Durante a “conchagem” o teor de umidade diminui e os compostos voláteis indesejáveis são removidos, como por exemplo, o ácido acético e aldeídos com baixo ponto de ebulição. A volatilização destes componentes é fundamental para o *flavour* do chocolate (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

- **Temperagem**

A temperagem tem como objetivo permitir a cristalização da manteiga de cacau numa forma estável e uma distribuição homogênea dos núcleos de cristais por todo chocolate. Esta operação consiste no arrefecimento do chocolate à medida que o chocolate é continuamente agitado (Minifie, 1989; Rosa *et al.*, 2001).

O processo de temperagem controla características como, a sensação na boca e a textura de um chocolate, regulando a massa com os cristais de gordura solidificada, indicando a quantidade de cristais estáveis formados. Os cristais determinam o tipo de estrutura que vai formar durante o arrefecimento e subseqüentemente asseguram a fineza e maciez do chocolate (Feuge *et al.*, 1962).

O processo de temperagem envolve três estágios térmicos. Numa primeira fase, o chocolate fundido sofre um arrefecimento de 46 a 49 °C para cerca de 28 a 29 °C, no caso do chocolate escuro, e em um grau mais baixo para o de leite, devido a presença de gorduras lácteas. A esta temperatura, o chocolate já deve ter suficientes cristais de manteiga de cacau na forma estável, que assegurem a presença de formas estáveis de manteiga de cacau

após o arrefecimento. Numa segunda fase, o chocolate é aquecido para temperaturas de 32 a 33 °C e de 31 a 32 °C, para o chocolate escuro e ao leite, respectivamente. Este aumento de temperatura tem dois objetivos: não só diminuir a viscosidade da pasta de chocolate, que aumenta na primeira fase à medida que os cristais vão se formando, mas também assegurar que qualquer forma instável seja derretida (Minifie, 1989).

O equipamento utilizado neste processo é um conjunto de tanques cilíndricos providos de uma pá que, ao movimentar-se, coloca a pasta líquida em contato com a superfície arrefecida do tanque. A pasta é submetida a agitação em uma determinada temperatura, em que se consegue não só a cristalização nas formas mais estáveis da manteiga de cacau, mas também, evitam a separação de camadas da pasta, até esta seguir para a moldagem (Minifie, 1989).

Uma temperagem adequada permite que a manteiga de cacau cristalize em formas estáveis que possuem baixos níveis de energia remanescente, do qual resultará um chocolate estável, que sofrerá alterações mínimas de calor latente de cristalização após a solidificação. Por outro lado, se a temperagem for mal executada, o chocolate resultante irá apresentar uma estrutura homogênea, será pouco resistente ao calor e terá elevada tendência para ocorrência do “bloom” (Minifie, 1989).

“Bloom”, ou mais conhecido por “flor do chocolate”, é o termo que se dá a uma fina película de aspecto acinzentado esbranquiçado, que se observa, por vezes, na superfície do chocolate. Este fenômeno é prejudicial à aparência (perda de brilho) e a qualidade do chocolate, podendo afetar muitos produtos com ele confeccionados, tornando-os inadequados para uso comercial (Feuge *et al.*, 1962; Minifie, 1989).

No chocolate é possível distinguir dois tipos de “bloom” – o “bloom” da gordura ou “fat bloom” do chocolate e o “bloom” do açúcar ou “sugar bloom”. O “sugar bloom” surge quando a umidade entra em contato com o chocolate. (Minifie, 1989).

O "bloom" pode ser causado por uma inadequada temperagem, um arrefecimento incorreto, más condições de armazenamento (alterações de altas e baixas temperaturas) ou pela adição no chocolate de gorduras incompatíveis com a manteiga de cacau (Minifie, 1989).

Geralmente, "fat bloom" é causado pela separação da manteiga de cacau da matriz, com extrusão da gordura para a superfície, o que conduz ao aparecimento de uma cobertura branca que prejudica a aparência e afeta a qualidade organoléptica (Feuge *et al.*, 1962; Minifie, 1989).

Já o "sugar bloom", que também provoca manchas brancas na superfície do produto devido à migração de cristais de açúcar, é basicamente causado devido a alta umidade relativa na sala de empacotamento ou estocagem (temperatura deve estar entre 15 e 18°C e a umidade entre 40 a 50%); ocorrência de condensação quando o produto refrigerado entra na sala de empacotamento e/ou mãos úmidas na mesa de empacotamento (para produtos cobertos) (Loisel *et al.*, 2006).

A textura como também a "sensação na boca", proporcionada por um produto confeccionado com chocolate, são controladas no processo de temperagem. Este processo regula a forma como os cristais de gordura solidificam e a quantidade de cristais estáveis que se formam (Minifie, 1989).

- **Moldagem**

Após a temperagem, a massa de chocolate líquida é colocada em moldes, a uma temperatura entre 30 a 40°C. Os moldes podem ser metálicos, ou de plásticos, por motivos de economia de energia e higiene (Minifie, 1989).

Os moldes devem ser previamente aquecidos, para que não ocorra um arrefecimento drástico da massa ao contactar com o molde. Este aquecimento deve ser uniforme, de modo a evitar pontos quentes e frios localizados (Rosa *et al.*, 2001). A temperatura na qual são aquecidos os moldes é próxima da do chocolate temperado (Minifie, 1989).

Após o depósito de chocolate nos moldes, estes sofrem uma ação de vibração que assegura a distribuição uniforme do chocolate, removendo as bolhas de ar da base, que, entretanto focaram na massa de chocolate (Minifie, 1989).

A solidificação e sua moldagem realizam-se com a ajuda de uma refrigeração artificial, sendo o chocolate de leite refrigerado a temperaturas mais baixas do que o escuro. A refrigeração do chocolate é realizada até que atinja uma temperatura no seu interior aproximadamente de 7°C (Rosa *et al.*, 2001; Minifie, 1989).

- **Zona de Embalagem**

Após a desmoldagem, os produtos seguem para a zona de embalagem. (Minifie, 1989).

- **Armazenagem**

Os produtos de chocolate devem ser guardados em locais bem ventilados, longe de odores estranhos, onde a temperatura do ar e a umidade relativa tenham valores iguais ou próximos da zona de embalagem (18 a 20 ,°C e um máximo de 50%, respectivamente) (Minifie, 1989).

### **2.1.3- Benefícios do Chocolate**

Nos últimos anos o consumo do chocolate esteve associado à maior ingestão de gorduras saturadas, com consequente elevação do colesterol e aumento do risco de doenças crônicas. Contudo, atualmente verifica-se uma tendência a valorização do chocolate, com realizações de estudos comprovando seus benefícios à saúde e estimulando o seu consumo diário (Ding *et al.*, 2006).

O chocolate é considerado medicinal tendo diversas aplicabilidades como, ajudar no ganho de peso, estimular o sistema nervoso, a atividade do estômago e rins, fadiga mental, baixa virilidade e anemia, entre outros. Ele também pode ser usado para administrar drogas farmacológicas e medicamentos com sabor desagradável (Dillinger *et al.*, 2000).

Polifenóis são micronutrientes presentes nas plantas e na dieta, sendo o chocolate uma boa fonte. Estas substâncias são metabólitos secundários das plantas e estão envolvidas na proteção contra a radiação UV e ataque de patógenos. Nos últimos anos estes compostos foram muito estudados, sendo associados com a prevenção de doenças que envolvem o estresse oxidativo, como o câncer, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Além da atividade antioxidante, polifenóis tem diversas outras atividades biológicas ainda não esclarecidas (Manach *et al.*, 2004).

Os flavonóides, uma classe de polifenóis, têm como mecanismo de prevenção, a proteção de moléculas (lipídios, proteínas e ácidos nucleicos) de danos oxidativos, suprimindo a resposta inflamatória e modulando a homeostase vascular (Demrow, Slane e Folts, 1995).

Entre os flavonóides presentes no chocolate destaca-se, a classe dos flavonols. Os flavonols mais conhecidos são os flavan-3-ols, onde possuem uma hidroxila ligada ao carbono 3. Os flavonols mais presentes na semente do cacau são as catequinas e as equicatequinas (Porter, Ma e Chan, 1991; Wollgast e Anklan, 2000; Zhu *et al.*, 2002). A figura 2 apresenta a estrutura básica dos flavonóides, entretanto a figura 3 mostra a estrutura de um flavanol, uma sub-classe dos flavonóides, na forma monomérica (flavan-3-ol). Sabe-se que cerca de 10% do peso do cacau em pó utilizado para fazer bebidas é composto por flavonóides (Hammerstone, Lazarus e Schmitz, 2000). No chocolate amargo há 3,5 mg de catequina por 100g de chocolate, e em chocolate ao leite, a concentração é de 15,9 mg/100g (Arts, Hollman e Kromhout, 1999).

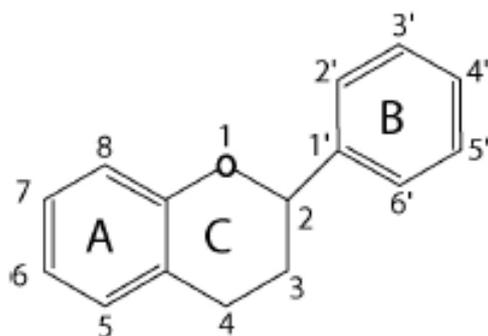


Figura 2: Estrutura básica de sistema numérico dos flavonóides (Efraim. Tucci e Pezoa-Garcia, 2006).

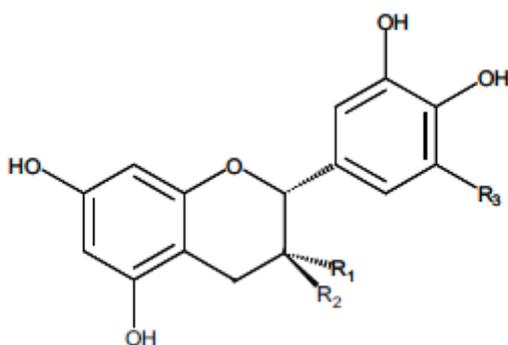
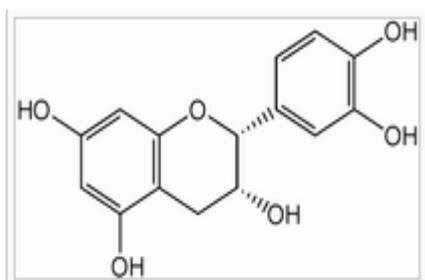
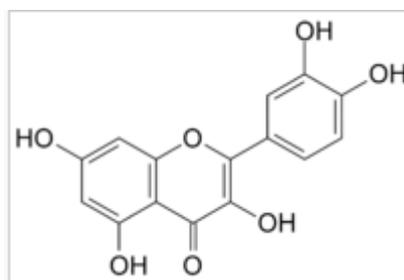


Figura 3: Estrutura de um flavan-3-ol na forma monomérica (Efraim. Tucci e Pezoa-Garcia,

Sendo os  $R_1$  o monômero epicatequina e  $R_2$  catequina



$R_1$



$R_2$

Os benefícios atribuídos ao chocolate devem-se à presença de cacau em sua composição. A quantidade de flavonóides nos produtos de cacau e no chocolate industrializado é dependente da colheita de grãos e condições de processo subseqüentes usado pelos fabricantes de chocolate (Dillinger *et al.*, 2000). Os flavonóides do chocolate são facilmente destruídos pelo calor e inúmeras outras condições comuns do processo de colheita e fabricação do chocolate e, assim, um grande cuidado deve ser tomado pelo fabricante para preservar a existência natural de flavonóides, para que quantidades significativas permaneçam nos produtos finais (Schmitz, 2001).

Os flavonóides encontrados no cacau, que segundo alguns estudos foram maiores que as quantidades encontradas no chá e no vinho (Engler *et al.*, 2004). O consumo de comidas ou bebidas ricas em flavonóides pode estar associado ao aumento da capacidade antioxidante do plasma, redução de agregação plaquetária e melhor funcionamento endotelial (Zhu *et al.*, 2002).

As placas de aterosclerose são formadas com a oxidação de moléculas de LDL (lipoproteína de baixa densidade), gerando uma resposta inflamatória com a ativação plaquetária. As placas formadas podem ainda se desprender do vaso, formando trombos, que podem ocasionar o AVC (Acidente Vascular Cerebral) e infartos. O cacau aumenta a biodisponibilidade de substâncias vasoativas, que estão diminuídas em casos de disfunção endotelial, resultando em falha de seu relaxamento e conseqüentemente elevação de pressão (Zhu *et al.*, 2002).

Não se conhecem reações adversas aos flavonóides do chocolate, porém quando ingeridos na forma concentrada de suplemento, há um potencial de toxicidade (Skibola e Smith, 2000).

## 2.1.4- Alimentos que Contém Chocolate

- **Achocolatados**

Os achocolatados são alimentos consumidos por pessoas de todas as idades e podem ser encontrados em todas as partes do mundo. As suas características sensoriais e nutricionais, assim como a sua praticidade, fazem com que o produto seja bem aceito pelo consumidor. Os achocolatados são produtos tradicionais nas refeições matinais. Não há como negar o fascínio que o sabor do chocolate exerce entre crianças e a praticidade para o consumo dos jovens. Os achocolatados são inseridos na dieta regular das crianças pelos pais, principalmente pelo valor nutritivo relacionado, que atualmente está sendo amplamente divulgado.

Entende-se por achocolatados, os produtos de chocolate em pó (solúveis), agregados sólidos arredondados (linha cereais) e os líquidos, que correspondem a leite aromatizado ou flavorizado com chocolate. Os achocolatados em pó podem ser preparados para consumo, dissolvendo-os em leite ou água. Esses produtos podem ser acondicionados em diferentes embalagens, como:

- ✓ Achocolatados em pó solúveis – embalagens de alumínio, frascos e pacotes plásticos;
- ✓ Achocolatados sólidos na forma de agregados – embalagens na forma de caixas cartonadas e picotadas;
- ✓ Achocolatados líquidos dissolvidos em leite – embalagens longa vida (Tetra Pack e tetra Rex) (Fontes *et al.*, 2008)

O achocolatado tem na sua constituição mais simples, cerca de até 70% de sacarose ou de outros açúcares e aproximadamente de 30% de cacau em pó (Varnam e Sutherland, 1997). Nos achocolatados, pode-se incorporar leite

em pó para conseguir um produto completo e realmente instantâneo. Normalmente, não se recomenda o uso de leite em pó integral, devido às alterações oxidativas que limitam a vida útil do produto (Varnam e Sutherland, 1997). Outros ingredientes típicos usados na formulação de achocolatados comerciais, incluem extrato de malte, açúcar e glicose, vitaminas e sais minerais como suplementos (Mércia e Lannes, 2004).

Como esses produtos vêm sendo amplamente consumidos, muitas indústrias aumentaram a produção de achocolatados, fazendo com que haja grande variedade e preços competitivos ao consumidor. Porém, o processamento, os ingredientes e as concentrações utilizadas não são os mesmos, fazendo com que haja grande variação nas suas propriedades nutricionais, tais como o teor de lipídios, proteínas, carboidratos, entre outros (Mércia e Lannes, 2004).

Os achocolatados líquidos (bebida achocolatada) são considerados bebida láctea, pois o termo bebida láctea, pode englobar uma série de produtos fabricados com leite e soro. Bebida láctea é o produto resultante da mistura do leite (in natura, pasteurizado, UHT, reconstituído, concentrado, em pó, integral, semidesnatado ou parcialmente desnatado e desnatado) e soro de leite (líquido, concentrado ou em pó) adicionado ou não de produto(s) alimentício(s) ou substância alimentícia, gordura vegetal, leite(s) fermentado(s), fermentos lácteos selecionados e outros produtos lácteos. A base láctea representa pelo menos 51% massa/massa (m/m) do total de ingredientes do produto (BRASIL, 1999).

- **Sorvete**

O sorvete é um produto que agrada aos mais variados paladares, de todas as faixas etárias e de qualquer classe social. Sorvetes são alimentos refrescantes, que combinam muito bem com o clima tropical do país, onde existe uma variada gama de ingredientes que podem ser usados para

enriquecer e diversificar ainda mais as receitas de sorvetes, ingredientes que vão das frutas mais exóticas às sementes dos mais diversos tipos (Maia *et al.*, 2008).

Sorvetes são enquadrados na categoria de gelados comestíveis. São produtos alimentícios obtidos a partir de uma emulsão de proteínas, com ou sem adição de outros ingredientes e substâncias que tenham sido submetidas ao congelamento, em condições que garantam a conservação do produto no estado congelado ou parcialmente congelado durante a armazenagem, o transporte e a entrega ao consumo (ANVISA, 1999).

Gelados comestíveis são alimentos obtidos pelo congelamento de uma mistura pasteurizada ou preparado de frutas, compostas de ingredientes lácteos ou não, açúcares, corantes, estabilizantes e emulsificantes (Mathias, Wildmoser e Windhab, 2005).

Segundo a ANVISA (1999), os gelados comestíveis são classificados em:

- sorvetes de creme, que são produtos elaborados basicamente com leite e seus derivados lácteos e ou gorduras comestíveis, podendo ser adicionado de outros ingredientes alimentares;

- sorvetes de leite, que são os produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos, podendo ser adicionados de outros ingredientes alimentares;

- sorvetes, que são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos e ou matérias-primas alimentares e nos quais os teores de gordura e ou proteína são total ou parcialmente de origem láctea, podendo ser adicionados de outros ingredientes alimentares;

- *sherbets*, que são produtos elaborados basicamente com leite e ou derivados lácteos e outras matérias primas alimentares e que contêm apenas uma pequena proporção de gorduras e proteínas, as quais podem ser, total ou

parcialmente, de origem não láctea, podendo ser adicionados de outros ingredientes alimentares;

- Gelados de frutas, ou *sorbets*, que são produtos elaborados basicamente com polpas, sucos ou pedaços de frutas e açúcares, podendo ou não ser adicionados de outros ingredientes alimentares;

- gelados, que são produtos elaborados basicamente com pedaços de frutas e outras matérias-primas, podendo ou não ser adicionados de outros ingredientes alimentícios.

O sorvete pode ser considerado um colóide suspenso ao ar com gordura cristalizada e água, numa solução de açúcar altamente concentrada, contendo hidrocolóides, micelas de caseínas e outras proteínas (Bolliger, Goff e Tharp, 2000). Entretanto, Goff (1992) descreve que a estrutura espumosa do sorvete, pode ser classificada como um complexo coloidal de alta consistência, constituído de três fases distintas: glóbulos de gordura, as bolhas de ar e os cristais de gelo, que são os principais responsáveis pela qualidade do produto final.

O sorvete pode ou não conter gordura de leite, podendo ser classificado em *premium* (altamente gorduroso), *light* (baixa quantidade de gordura), e outros produtos correlatos (Mathias, Wildmoser e Windhab, 2005).

Do ponto de vista nutricional, o sorvete é considerado um alimento completo e de alto valor nutritivo, pois fornece proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C, D, E e K, cálcio, fósforo e outros minerais. Independente da classificação, o sorvete é, devido às suas propriedades nutricionais, uma excelente fonte de energia, e por isto um alimento especialmente desejável para crianças em fase de crescimento e para pessoas que precisam recuperar peso. Pelo mesmo motivo, deve ter uma ingestão controlada ou evitada na dieta de pessoas que necessitam reduzir peso ou mesmo as que não querem ganhá-lo (Maia *et al.*, 2008).

Para atender aos consumidores que procuram alimentos *light*, vários fabricantes inovaram, com a substituição de ingredientes calóricos por

substitutos de gordura e do açúcar. Aliado a isso, o sorvete pode ser elaborado com ingredientes diversificados, substituindo matérias-primas e ingredientes tradicionais por outros que tem finalidade similar, tornando-se também uma alternativa para o aproveitamento de subprodutos da indústria láctea, como o soro do leite e seus derivados, por serem nutritivos e de baixo custo (Malandrin, Paisano e Costa, 2001).

O soro de leite é a fase aquosa que se separa do coalho, durante o processo de elaboração de queijos ou caseínas. Representa, aproximadamente, 90% do peso do leite utilizado para a elaboração do queijo e pode substituir em até 25%, o extrato seco desengordurado do sorvete (Malandrin, Paisano e Costa, 2001).

## **2.2- Alimentos *diet* e *light***

Alimentos *diet* são classificados como alimentos para dietas com restrição de nutrientes e para os alimentos exclusivamente empregados para o controle de peso, ou ainda para atender as necessidades de pessoas com distúrbios no metabolismo de açúcares (sacarose, frutose e/ou glicose). Podem conter no máximo 0,5 g de sacarose, frutose e/ou glicose por 100 g ou 100 mL do produto final a ser consumido. O termo *light* pode ser utilizado quando for cumprido o atributo de redução mínima de 25% no valor energético total ou do conteúdo de um dos nutrientes dos alimentos comparados (Richter e Lannes, 2007; Brasil, 2003).

Os substitutos do açúcar têm ganhado destaque, devido ao aumento da demanda dos consumidores do mercado "*diet* e *light*", inseridos na busca de ingestão de baixas calorias e/ou dietas específicas visando a preocupação com a saúde e o controle de calorias ingeridas tem aumentado consideravelmente nos últimos anos. No Brasil, a cada ano mais de 180 novos produtos *diet* e *light* são lançados no mercado e representam atualmente 12% das vendas do supermercado. Na última década, o mercado brasileiro de *diet* e *light* cresceu 80%, no entanto estima-se que represente apenas 5% do segmento no país,

sendo considerado, portanto, um mercado em potencial para o crescimento (Fandini *et al.*, 2005).

Segundo a FDA (Food and Drug Administration, 1999), o açúcar é definido como qualquer mono ou dissacarídeo e, dessa forma, glicose, frutose e suco de fruta concentrado também apresentam açúcares que devem ser substituídos quando se elabora um produto com o apelo *sugar free*. Isso faz com que os polióis e os edulcorantes artificiais de alto poder adoçante se tornem um grande atrativo para a indústria de chocolate e confeitos na elaboração de produtos *diet* e *light* (Fandini *et al.*, 2005).

### **2.3- Lipídios e ácidos graxos *trans* (AGT)**

Para o termo lipídios não existe uma definição universalmente aceita, entretanto, a maioria dos livros define os lipídios como um grupo de substâncias, baseando-se na sua solubilidade, função química e orgânica, como óleos, gorduras, etc. Isso ocorre, porque os lipídios abrangem um número elevado de substâncias, razão pela qual não é possível defini-los com precisão, mas de maneira genérica (Visentainer e Franco, 2006).

Os lipídios são substâncias que por hidrólise fornecem ácido(s) graxo(s), além de outros compostos, podendo ser os glicerídeos, cerídeos, fosfolipídios e cerebrosídeos (Ornellas, 1983).

As gorduras, tanto de origem animal como vegetal, são constituídas por ácidos graxos saturados e insaturados (mono e polinsaturados). Óleos e gorduras são componentes essenciais para a dieta humana, pois desempenham diferentes papéis no organismo humano, como reserva de energia, fonte de fosfolipídios, esteróis e ácidos graxos essenciais, e ainda auxiliam no transporte e absorção das vitaminas lipossolúveis, além de conferir sabor aos alimentos. (Aued-Pimentel *et al.*, 2003).

Os ácidos graxos são os principais componentes da estrutura lipídica, com exceção do colesterol. Apresentam-se naturalmente como substâncias

livres, esterificadas na forma *cis*, podendo ser encontrado na forma *trans* através do processo de hidrogenação (Mendes, Biscontini e Miranda, 2002).

Os ácidos graxos que não apresentam insaturações são denominados de saturados (Brasil, 2003), e são normalmente encontrados na forma sólida (gordura) e em produtos de origem animal. A exceção é feita para a gordura do coco, que é rica em ácidos graxos saturados, apesar de ser um alimento de origem vegetal.

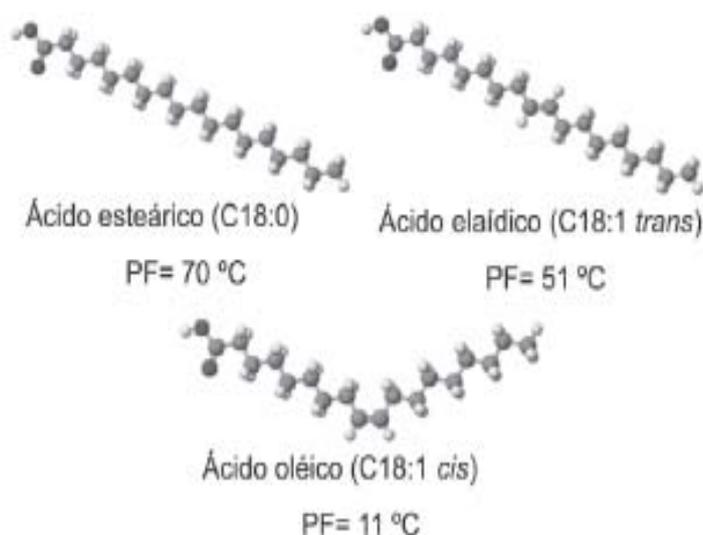
Os ácidos graxos insaturados são normalmente encontrados na forma líquida (óleo) e em produtos de origem vegetal, exceto para os óleos de peixe, que também são ricos em ácidos graxos insaturados, apesar de serem produtos de origem animal que contêm uma ou mais duplas na cadeia. (Wardlaw, 2002).

Os ácidos graxos insaturados que ocorrem naturalmente têm pelo menos uma ligação dupla do tipo *cis* em sua estrutura, e sem essa ligação *cis*, perde-se a natureza de ácido graxo essencial. Assim, quando os óleos naturais são alterados de *cis* para *trans*, a função essencial se perde, existindo uma competição entre a forma *cis* e *trans* (Wardlaw, 2002).

Quimicamente, óleos e gorduras são compostos predominantemente por triacilgliceróis. Ácidos graxos saturados são menos reativos e apresentam ponto de fusão superior em relação ao ácido graxo correspondente de mesmo tamanho de cadeia com uma ou mais duplas ligações. Ácidos graxos insaturados podem existir nas configurações *cis* e *trans*, com diferentes propriedades físico-químicas. Por suas características estruturais, os ácidos graxos na forma *trans* (AGT) têm ponto de fusão mais elevado quando comparado com o seu isômero *cis* correspondente, mas inferior ao ponto de fusão do ácido graxo saturado com mesmo número de átomos de carbono. Assim, os isômeros *trans* podem ser considerados como intermediários entre um ácido graxo original insaturado e um ácido graxo completamente saturado.

A Figura 4 ilustra a estrutura espacial do ponto de fusão dos ácidos oléico, elaídico e esteárico. Os AGT de maior ocorrência são os

monoinsaturados, mas vários isômeros diinsaturados ou mesmo triinsaturados podem ser formados a partir dos ácidos linoléico e linolênico (Ribeiro *et al.*, 2007).



**Figura 4. Estruturas e pontos de fusão dos ácidos esteárico, oléico e eláidico.**

### 2.3.1- Formação dos ácidos graxos *trans* (AGT)

Os ácidos graxos apresentam-se naturalmente na forma *cis*, sendo os isômeros *trans* encontrados em quantidades pequenas ou quase inexistentes em óleos e gorduras vegetais naturais não refinados e em alguns produtos de origem animal (Mendes, Biscontini e Miranda, 2002; Martin *et al.*, 2006). Porém, os ácidos graxos insaturados ingeridos por ruminantes, podem ser parcialmente hidrogenados por sistemas enzimáticos da flora microbiana intestinal desses animais. O primeiro passo da chamada bio-hidrogenação é a isomerização do ácido linoléico pela bactéria anaeróbica *Butrivibrio fibrisolvens* e posterior formação de uma mistura que contém, principalmente, ácido *trans*-

vacênico (18:1-11 $t$ ) e em menor proporção ácido elaídico (18:1-9 $t$ ). Dessa forma, leites e seus derivados e carnes contém isômeros na forma *cis* e *trans* (Costa, Bressan e Sabarense, 2006). O teor de AGT na carne e no leite varia de 1,5 a 6,5%. Estima-se que 2 a 8% dos isômeros *trans* da dieta sejam provenientes desta fonte e veiculados principalmente pelos laticínios (Ribeiro *et al.*, 2007). Dentre estes ácidos graxos, encontra-se o CLA (ácido linoléico conjugado), termo utilizado para se referir um grupo de ácidos octadecadienóicos, isômeros posicionais e geométricos do ácido linoléico. A este grupo é atribuído benefícios à saúde humana, como propriedades antitrombóticas e anticarcinogênicas, prevenção da arteriosclerose e efeitos imunoestimulatórios (Sebedio, Gnaedig e Chardigny, 1999; Talpur, Bhangar e Khuhawar, 2006). Entretanto, a gordura *trans* obtidas por outros processos como, desodorização de óleos vegetais, processo de fritura, hidrogenação catalítica, aumenta o risco de doenças cardíacas coronárias (Talpur, Bhangar e Khuhawar, 2006).

Isômeros *trans* também podem ser formados, embora em pequenas quantidades (0,2 a 6,7%), no processo de desodorização de óleos vegetais e em operações de fritura de alimentos (0 a 35%), por mecanismo induzido termicamente (Martin *et al.*, 2008; Ribeiro *et al.*, 2007; Costa, Bressan e Sabarense, 2006). A formação de AGT durante a fritura de alimentos está muito relacionada com a temperatura do processo e com o tempo de uso do óleo (Sanibal e Mancini-Filho, 2004). Quando são empregadas gorduras parcialmente hidrogenadas, a formação de AGT geralmente é menor, contudo, os teores inicialmente elevados destes ácidos, resultam em uma maior concentração de isômeros *trans* no alimento frito (Aro *et al.*, 1998; Romero, Cuesta e Sanchez-Muniz, 2000).

Entretanto, os AGT são originados principalmente através da hidrogenação catalítica parcial de óleos vegetais ou marinhos. Cerca de 90% dos AGT em alimentos deriva-se deste processo (Ribeiro *et al.*, 2007).

No Brasil, a hidrogenação comercial de óleos vegetais data da década de 50, visando à produção de gorduras técnicas (“shortenings”), margarinas e gorduras para frituras. Com o desenvolvimento de técnicas de hidrogenação seletiva, os óleos vegetais processados rapidamente substituíram as gorduras animais na dieta dos brasileiros. Estas gorduras têm sido largamente empregadas na produção de diversos alimentos, como margarinas, coberturas de chocolate, biscoitos, produtos de panificação, sorvetes, massas e batatas “chips”, entre outros (Ribeiro *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2005).

A formação de AGT durante o processo de hidrogenação na indústria é muito útil, pois estes conferem às gorduras hidrogenadas características físicas semelhantes às das gorduras saturadas, como maior o ponto de fusão, associadas às modificações das características químicas sensoriais (Azevedo e Gonçalves, 1999; Martin *et al.*, 2007).

A gordura vegetal hidrogenada apesar de ser quimicamente mais estável, sua utilização se caracteriza como uma desvantagem nutricional, devido aos seus elevados índices de ácidos graxos saturados e de ácidos graxos *trans* em sua composição (Capriles e Arêas, 2005).

No passado, a formação de isômeros *trans* foi considerada uma vantagem tecnológica, uma vez que, devido a seu maior ponto de fusão em relação aos correspondentes isômeros *cis*, favorecem a criação dos níveis de sólidos desejáveis das gorduras hidrogenadas (Ribeiro *et al.*, 2007).

### **2.3.2- Ácidos graxos *trans* e suas implicações na saúde**

A composição em ácidos graxos dos lipídios da dieta possui um papel importante no risco de desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Estudos epidemiológicos prévios sugerem uma associação entre a ocorrência de doenças cardiovasculares e o consumo de ácidos graxos *trans* (Hu *et al.*, 1999; Willett *et al.*, 1993 ; Willett, 2001).

Os efeitos do consumo de AGT nos alimentos apresentam grande controvérsia, no que diz respeito aos aspectos metabólicos e nutricionais, incluindo digestibilidade, metabolismo, absorção, acúmulo no organismo e seus efeitos nas funções enzimáticas, transporte e deposição de colesterol nas artérias, doenças cardíacas e câncer (Azevedo e Gonçalves, 1999; Mendes, Biscontini e Miranda, 2002).

As principais preocupações com os efeitos dos AGT na saúde têm aumentado, uma vez que estes isômeros são estruturalmente similares às gorduras saturadas, modificam as funções metabólicas das gorduras poliinsaturadas e competem com os ácidos graxos essenciais em vias metabólicas complexas (Ribeiro *et al.*, 2007; Martin, Matsushita e de Souza, 2004).

Os isômeros *cis* são mais rapidamente metabolizados como fonte de energia que os *trans*, e são preferencialmente incorporados em fosfolípidios estruturais e funcionais. Em humanos, a incorporação dos isômeros *trans* nos tecidos depende da quantidade ingerida, do tempo de consumo deste tipo de gordura, da quantidade de ácidos graxos essenciais consumidos, do tipo de tecido e do tipo de isômero (configuração e posição da dupla ligação na cadeia). Os teores encontrados em tecidos adiposos refletem o consumo por longo período de tempo, apresentando normalmente correlação com histórico de ingestão por mais de um ano (Ribeiro *et al.*, 2007).

Os AGT são absorvidos e transportados pelo organismo de forma similar aos demais ácidos graxos presentes na dieta, sendo incorporados em praticamente todas as classes de lipídios nos diversos órgãos (Aued-Pimentel *et al.*, 2003).

Os AGT têm sido correlacionados também com várias disfunções metabólicas, como por exemplo, a inibição do metabolismo de ácidos graxos essenciais, influenciando o desenvolvimento infantil. Entretanto, o principal

efeito à saúde está relacionado ao aumento das LDL-colesterol no plasma, de forma semelhante aos ácidos graxos saturados, aumentando o risco das doenças cardiovasculares (Aued-Pimentel *et al.*, 2003).

Entre as pesquisas voltadas para a análise de ação dos AGT sobre a saúde da criança, encontrou-se como relato comum o bloqueio e inibição da biossíntese dos ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa, na fase fetal e após o nascimento (Ribeiro *et al.*, 2007).

Os mamíferos não são capazes de introduzir permanentemente nos ácidos graxos, uma dupla ligação com a configuração *trans*. Por conseguinte, os AGT encontrados no organismo humano são provenientes da dieta. Esta condição evidencia a importância de se limitar à ingestão deste grupo de ácidos graxos, principalmente com o propósito de diminuir o risco de desenvolvimento das doenças cardiovasculares, que nas últimas décadas tem sido a principal causa de morte e invalidez, na maioria dos países industrializados (Schaefer, 2002).

O consumo de AGT depende do estilo de vida e do grau socioeconômico. As médias de consumo em países desenvolvidos são estimadas em aproximadamente 7 a 8 gramas per capita por dia, ou aproximadamente 6% do total de ácidos graxos consumidos (Ribeiro *et al.*, 2007).

### **2.3.3- Análise de ácidos graxos**

Tradicionalmente a análise de AGT era realizada por espectroscopia do infravermelho, contudo esta técnica não permite individualmente a quantificação dos ácidos graxos. Uma análise completa é possível de ser realizada utilizando a cromatografia em fase gasosa (Ratnayake *et al.*, 1994; Martin *et al.*, 2008) combinada com outras técnicas, em particular a cromatografia em nitrato de prata, espectroscopia do infravermelho, e espectrometria de massa. Outras técnicas que requerem equipamentos

especiais podem ser incluídas, tais como a ressonância magnética nuclear e a cromatografia com fluido super crítico (Basso, Almeida-Gonçalves e Mancini-Filho, 1999).

A cromatografia gasosa é a técnica que mais tem sido aplicada ao estudo dos AGT, devido principalmente ao desenvolvimento de fases estacionárias que possibilitam a separação dos diversos isômeros posicionais e geométricos formados durante a hidrogenação parcial de óleos vegetais e marinhos. São utilizadas colunas com 50 a 100 m de comprimento, contendo fase estacionária de elevada polaridade, geralmente constituída de cianoalquil polisiloxano (Ledox, Laloux e Wolff, 2000; Martin *et al.*, 2008).

A separação dos isômeros *cis* e dos isômeros *trans* irá depender da coluna, da fase estacionária e dos parâmetros operacionais do equipamento, além da disponibilidade dos padrões dos ésteres metílicos dos ácidos graxos que servirão como referência para identificação da amostra, por comparação, entre os tempos de retenção (Basso, Almeida-Gonçalves e Mancini-Filho, 1999).

As colunas capilares de fase estacionária com polaridade elevada são indicadas para a análise de ácidos graxos *cis* e *trans*, pois são capazes de separar os ésteres metílicos dos ácidos graxos pelo grau de insaturação, pela isomeria geométrica e posição das duplas ligações (Ratnayke *et al.*, 1990; Martin *et al.*, 2008).

Colunas contendo fases estacionárias de alta polaridade, sendo quimicamente ligadas, foram produzidas nestes últimos anos. Sendo que esta tecnologia aumenta a resistência mecânica da fase estacionária e confere uma maior estabilidade térmica, resultando no aumento do tempo de vida útil da coluna. Entre estas se destaca a CP Select CB (FAME) por ser 100% ligada quimicamente (Peene *et al.*, 2003; Martin *et al.*, 2008).

Considerando que cada ácido graxo tem seu próprio destino metabólico, (Holmer, 1998; Sebédio, Grandgirard e Prévost, 1998), é importante quantificar cada um dos isômeros *trans* ao estudar o efeito destes ácidos graxos sobre o

metabolismo humano. Segundo Wolff, Precht e Molkentini, (1998), para estudos com alimentos é importante que seja incluída uma etapa preliminar obrigatória, a cromatografia de camada delgada impregnada com nitrato de prata, a fim de suprimir as sobreposições dos AGT na identificação dos ácidos graxos individualmente (Wolff, Precht e Molkentini, 1998; Precht e Molkentini, 2001).

A separação de AGT por CCD/Ag<sup>+</sup> associada à análise por cromatografia em fase gasosa foi muito empregada nas últimas décadas, permanecendo ainda em uso. Os ácidos graxos geralmente são fracionados sob a forma de ésteres metílicos e o processo baseia-se na formação de complexos entre o íon prata e as duplas ligações. Assim, quanto maior o número de duplas ligações do ácido, maior será a extensão da complexação. Devido ao impedimento estérico, ocasionado pela presença de insaturações *trans*, os complexos formados com estas duplas ligações, apresentam menor estabilidade que seus correspondentes *cis*. Por conseguinte, o fator de retenção (R<sub>f</sub> – retention front) dos ésteres metílicos depende principalmente da configuração geométrica das ligações etilênicas e do grau de insaturação do ácido graxo (Dobson, Christie e Nikola-Damyanova, 1995).

Embora esta técnica seja acessível e muito eficaz na separação entre os ácidos graxos *cis*, *trans* e saturados, diversas dificuldades operacionais estão relacionados à sua aplicação. Entre estas, a preparação e o manuseio das placas em local pouco iluminado, o risco de contaminação entre as frações *cis* e *trans*, a influência da temperatura sob a separação, o elevado tempo de análise e a necessidade de um treinamento intenso do analista (Ratnayake, 1998).

Devido a estas dificuldades, foi desenvolvido a cromatografia líquida de alta eficiência com coluna de prata (CLAE/Ag<sup>+</sup>) foi inicialmente empregado colunas de sílica gel impregnadas com nitrato de prata. Nestas colunas, o tempo de uso é limitado pela eluição dos íons Ag<sup>+</sup>. Para controlar este problema, têm sido utilizadas pré-colunas saturadas de nitrato de prata, mas a eluição dos íons Ag<sup>+</sup> contamina as frações, podendo ainda danificar o sistema

de detecção do equipamento. O uso destas colunas tem bastante restrito, principalmente por não serem comercializadas, o que implica em seu preparo no laboratório, requerendo certa experiência para isto (Dobson, Christie e Nikola-Damyanova, 1995).

Devido às dificuldades associadas ao uso de colunas preparadas por impregnação, foram desenvolvidas colunas com trocadores catiônicos ligados a espécie  $\text{Ag}^+$ . A perda de íons  $\text{Ag}^+$  nestas colunas é limitada, uma vez que a prata encontra-se unida a resina através de ligação iônica. Em geral, a resolução destas colunas é gradualmente diminuída após três meses de uso contínuo (Neff, Adolf e El-Agaimy, 1994).

A determinação de AGT através da espectrofotometria no infravermelho está baseada na absorção característica das ligações *trans* em  $967\text{ cm}^{-1}$  e na sua correlação com éster metílico do ácido elaídico. Este método é de rápida execução, entretanto não fornecem informações sobre as proporções dos diferentes isômeros, o número de insaturações, as suas posições e o comprimento da cadeia carbônica. Suas principais dificuldades operacionais estão relacionadas com a necessidade de dissolução quantitativa da amostra em dissulfeto de carbono, solvente volátil, muito tóxico e de odor fétido, além da operação com celas de cloreto de sódio de alta higroscopicidade (Ribeiro *et al.*, 2007; Martin, Matshushita e de Souza, 2004). Também é necessária a preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos, pois os triacilgliceróis absorvem em  $970\text{ cm}^{-1}$  (Ledoux, Laloux e Wolff, 2000). A aplicação desta técnica tem menor precisão nos resultados, quando a quantificação é utilizada para amostras com teores abaixo de 15% de isômeros *trans* (Ulberth e Haider, 1995). Assim, a espectrofotometria no infravermelho normalmente é utilizada como ferramenta qualitativa de elucidação de estruturas químicas, sendo neste caso uma das poucas técnicas de quantificação a que se destina. (Ribeiro *et al.*, 2007).

A ressonância magnética nuclear (RMN  $^{13}\text{C}$ ) é um procedimento alternativo à cromatografia em fase gasosa para a determinação de isômeros *trans*. Na determinação de AGT por RMN  $^{13}\text{C}$  tem sido aplicados sinais por

carbonos alílicos e olefínicos, sendo que esta técnica possibilita a análise de AGT sem a necessidade de preparar derivados de ácidos graxos, contudo o tempo de análise é geralmente superior a 60 minutos. Além disso, o custo do equipamento é elevado e a quantidade de AGT 18:1 deve ser superior a 3% do total de ácidos graxos (Miyake e Ykomizio, 1998).

#### **2.3.4- Análise por Cromatografia em fase gasosa dos ésteres metílicos de ácidos graxos com detector de ionização em chama**

A Cromatografia em fase gasosa é uma ferramenta analítica amplamente utilizada para análises de ácidos graxos em óleos, gorduras e tecidos animais. Os ácidos graxos são determinados como ésteres metílicos. Assim, são necessárias pelo menos duas etapas de preparo da amostra. A extração dos lipídios totais dos tecidos vegetais ou animais e a esterificação dos ácidos graxos (Eder, 1995).

Os ácidos graxos são encontrados nos alimentos comumente na forma de triacilgliceróis e em menor quantidade como ácidos graxos livres, sendo necessário convertê-los em substâncias com maior volatilidade a fim de reduzir a adsorção de solutos no suporte e superfície da coluna e melhorar a separação dos compostos (Drozd, 1975; Gutnikov, 1995).

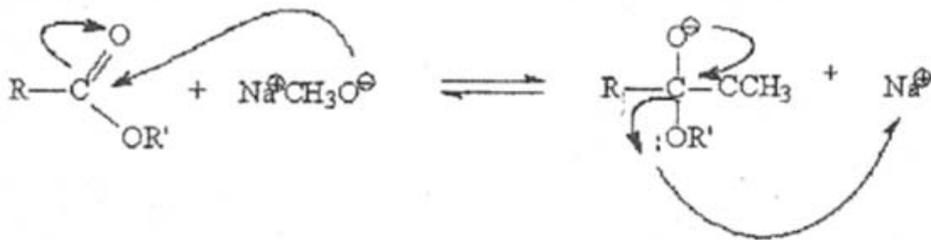
O termo transesterificação é utilizado na literatura, quando o método envolve catálise ácida ou básica, pois há uma dupla troca de acilgliceróis em ésteres de ácidos graxos (éster-éster). O termo esterificação é empregado quando o método envolve uma catálise ácida, por promover a reação entre os ácidos graxos livres com alcoóis gerando ésteres de ácidos graxos (Filip, Zajic e Smidrhál, 1992; Morrison e Boyd, 1996; Milinsk *et al.*, 2008).

Os reagentes mais comuns usados para a transesterificação de acilgliceróis, empregando catálise básica, são o hidróxido de sódio (NaOH), de

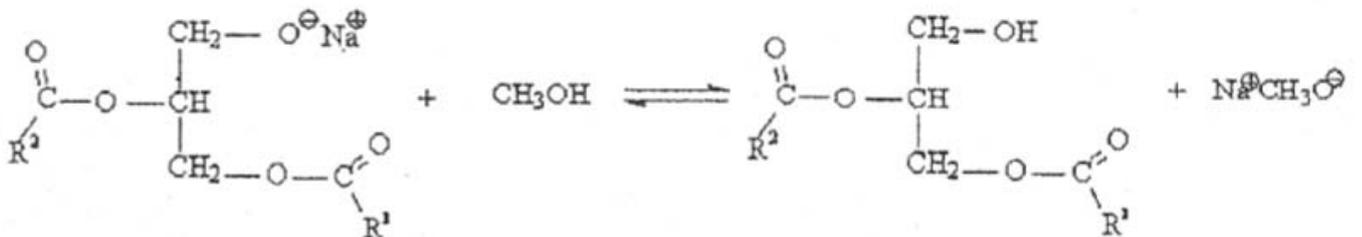
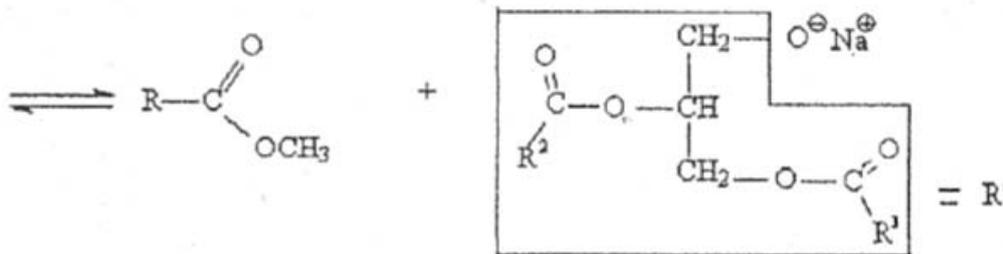
potássio (KOH) em metanol e metóxido de sódio (NaOCH<sub>3</sub>) em metanol (Cetinkaya e Karaosmanoglu, 2004). Os métodos de transesterificação empregando estes reagentes são rápidos e podem ser realizados a temperatura ambiente, em um pequeno intervalo de tempo. Uma desvantagem, porém, é que estes reagentes não convertem ácidos graxos livres em ésteres metílicos de ácidos graxos, devido a reação de saponificação (Bannon *et al.*, 1982; Gutnikov, 1995). A Figura 5 demonstra o mecanismo de reação de transesterificação por catálise básica, entretanto, a figura 6 demonstra o mecanismo de transesterificação por catálise ácida.



ETAPA 1

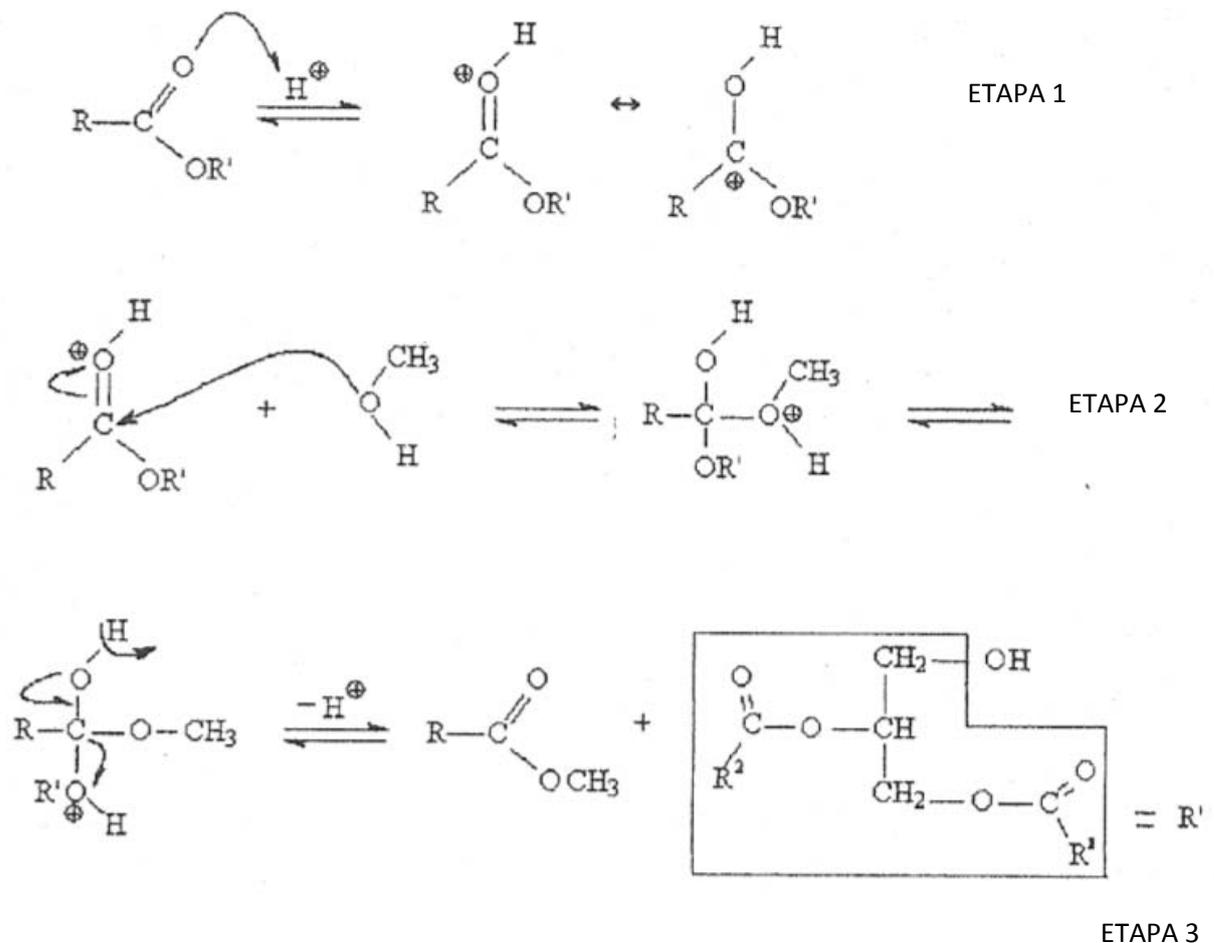


ETAPA 2



ETAPA 3

**Figura 5. Mecanismo de reação de transesterificação de um triacilglicerol com metanol na presença de hidróxido de sódio.**

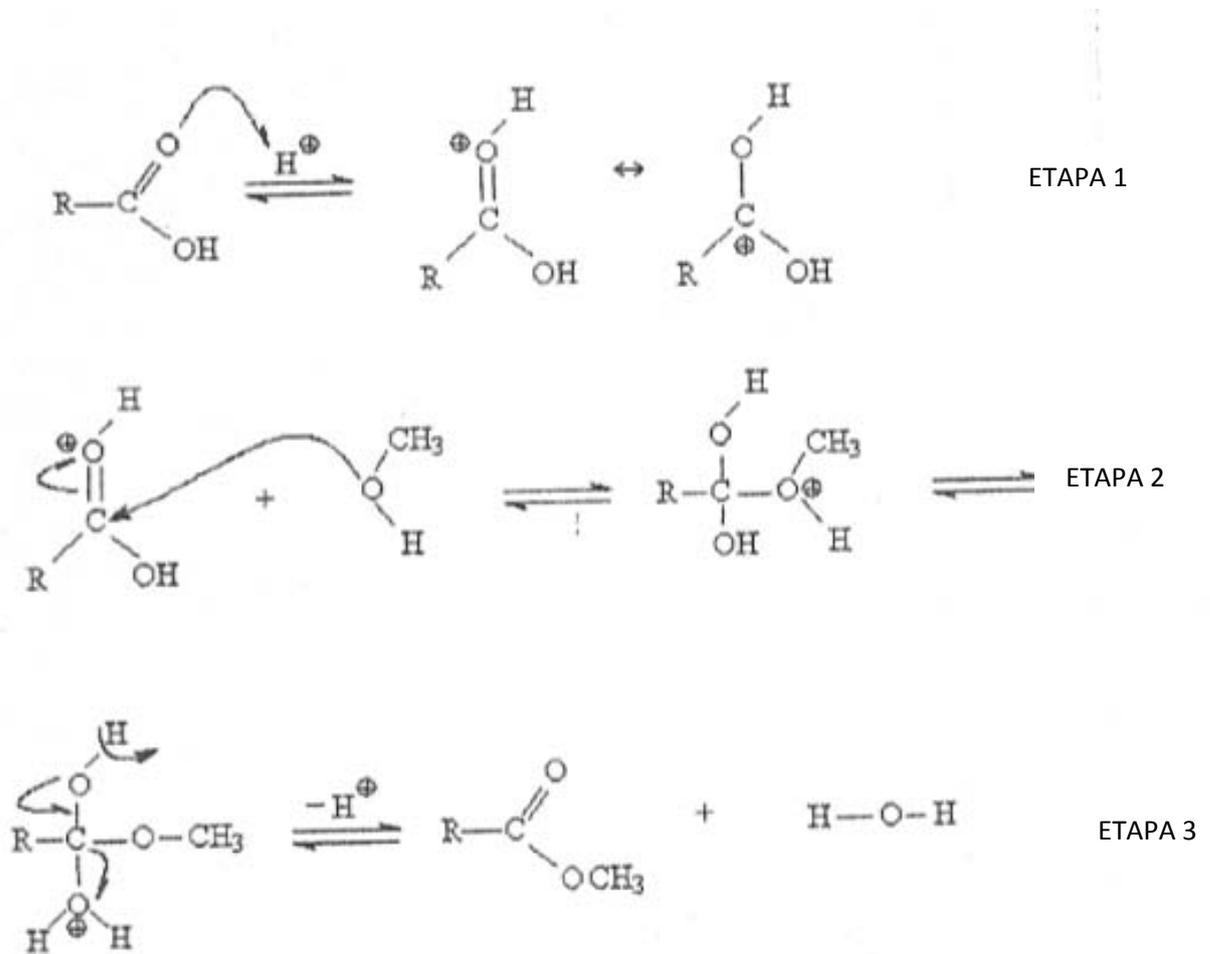


**Figura 6. Mecanismo de reação de transesterificação de um triacilglicerol com metanol na presença de um catalisador ácido.**

Na presença de ácidos graxos livres, o uso de hidróxidos se torna limitado devido à formação de sabão, comprometendo a análise e o rendimento da reação (Bannon *et al.*, 1982). O aumento da temperatura também pode interferir no rendimento da reação, assim como a presença de água (Bandioli, 2004).

Dentre os métodos envolvendo catálise ácida, os reagentes mais empregados são trifluoreto de boro em metanol ( $BF_3/MeOH$ ), ácido clorídrico

em metanol (HCl/MeOH) e ácido sulfúrico em metanol (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/MeOH). Estes reagentes são utilizados tanto para transesterificação de acilgliceróis como para esterificação de ácidos graxos livres (Metcalf e Wang, 1981). A Figura 7 demonstra o mecanismo de reação de esterificação por catálise ácida.



**Figura 7. Mecanismo de reação de esterificação de um ácido graxo com metanol na presença de catalisador ácido.**

A análise de ésteres metílicos de ácidos graxos com detector de ionização de chama é o mais conveniente e usado para a detecção de compostos orgânicos, em especial para a análise de alimentos devido à quantidade mínima detectável ( $10^{-12}$ g), resposta quase universal, faixa de linearidade e resposta rápida (Craske e Bannon, 1987). Como o detector de ionização em chama responde a um número de átomos de carbono que estão entrando no detector por unidade de tempo, ele é um dispositivo *sensível à massa* e não a concentração.

Assim, a resposta do detector de ionização de chama é diferencial, ou seja, a magnitude do sinal é proporcional ao número de carbonos ativos. Esta condição de ésteres metílicos com diferentes cadeias carbônicas apresentarão diferentes respostas no detector de ionização em chama (Ulberth e Haider, 1992; Brondz, 2002; Schreiner e Hulan, 2004; Visentainer e Franco, 2006).

A cromatografia em fase gasosa é uma técnica que permite a separação das substâncias presentes na amostra, podendo ser usada também para a sua identificação. Em análise de alimentos, a cromatografia a gás permite a identificação dos componentes da amostra, através da comparação dos tempos de retenção destes compostos presentes na amostra com aqueles obtidos através da injeção de padrões, contendo as substâncias. No entanto, este procedimento não é conclusivo, porque dois compostos podem ter o mesmo tempo de retenção em determinadas condições de análise.

As alternativas usadas na identificação de ácidos graxos podem ser adição padrão (*spiking* ou fortificação), utilização de padrão secundário, métodos gráficos, utilização de colunas com diferentes polaridades, índices sistemáticos de retenção. O índice de retenção de Kovats é um método que se baseia no comprimento equivalente da cadeia (ECL, *Equivalent Chain Length*), sendo uma técnica que constitui uma metodologia simples, de fácil aplicação e de baixo custo (Visentainer e Franco, 2006).

O método da normalização de área é muito utilizado em análise por cromatografia em fase gasosa equipado com detector em ionização de chama, sendo um método que evita incertezas associadas com a injeção da amostra (Skoog, Holler e Nieman, 2002). Entretanto, o método de normalização de área apresenta algumas limitações como a necessidade de eluição e detecção de todos os componentes injetados, o que nem sempre ocorre devido à discriminação ou retenção irreversível de algum componente e a consideração de que a resposta do detector é igual para todos os componentes, o que não acontece, pois o detector de ionização de chamas apresenta resposta diferencial (Albertyn *et al.*, 1982). Como o detector de ionização em chama não responde de maneira similar para todos os ácidos graxos presentes em uma amostra, é necessário corrigir os valores das respostas do detector (Visentainer e Franco, 2006).

Em uma análise quantitativa de ácidos graxos, o padrão interno é adicionado na amostra a ser analisada. No cromatógrafo são injetados derivados de ácidos graxos, comumente ésteres metílicos de ácidos graxos. Os ácidos graxos respondem diferencialmente no detector de ionização de chama, logo é necessária a utilização de fator de correção para ésteres metílicos em relação a um determinado padrão interno que também é um éster metílico. Existem dois fatores para corrigir a resposta diferencial do detector: fator de correção experimental ou empírico ( $F_{CE}$ ), cujo valor é determinado experimentalmente e o fator de correção teórico ( $F_{CT}$ ), determinado teoricamente a partir do número de carbonos ativos. Para aumentar a acuracidade e confiança na quantificação de ácidos graxos, alguns autores recomendam o uso do fator de correção teórico ( $F_{CT}$ ) nas determinações de ácidos graxos polinsaturados, desde que os parâmetros químicos e instrumentais estejam otimizados, para que desta forma. Os erros oriundos dessa fonte sejam eliminados. Com relação aos ésteres metílicos de cadeia curta, alguns pesquisadores afirmam que, devido ao baixo número de carbonos ativos na molécula, o  $F_{CT}$  pode não ser adequado para as análises de alta acuracidade, e alguns destes pesquisadores recomendam o uso do fator de correção experimental  $F_{CE}$  em análises de ésteres metílicos de leite. Contudo,

outros pesquisadores afirmam que o  $F_{CT}$  também pode ser aplicado para ésteres metílicos com 4:0 e 6:0 átomos de carbono na cadeia principal. A determinação dos fatores de correções  $F_{CE}$  e  $F_{CT}$  para éster de ácido graxo é de fundamental importância na otimização das determinações quantitativas dos ésteres metílicos, uma vez que, a interpretação comparativa entre  $F_{CE}$  e  $F_{CT}$  pode indicar erros que possam estar presentes nas determinações (Visentainer e Franco, 2006).

Devido os componentes injetados no cromatógrafo a gás serem os ésteres metílicos, e, o interesse é quantificar os ácidos graxos e não os ésteres metílicos há a necessidade de se utilizar um fator de conversão para corrigir a resposta diferencial do detector entre um éster metílico e o seu ácido graxo correspondente, este fator é denominado de fator de conversão  $F_{CEA}$  (fator de conversão éster para ácido) (Visentainer e Franco, 2006).

A utilização do método do padrão interno possibilita evitar as incertezas introduzidas na injeção da amostra e variações instrumentais. A amostra analisada e o padrão são injetados conjuntamente e os possíveis erros de injeções ou variações instrumentais ocorrem com ambos, cancelando-se mutuamente (Skoog, Holler e Nieman, 2002; Visentainer e Franco, 2006). Com este método é possível trabalhar com concentrações ou quantidades em massa, através da utilização de fatores de correção (Visentainer e Franco, 2006).

Um padrão interno adequado numa quantificação de ácidos graxos deve apresentar alguns requisitos como: não estar presente na amostra; apresentar alto grau de pureza; ser estável; ser acessível, de baixo custo e não apresentar toxidez; eluir separadamente e próximo dos componentes da amostra, entre outros (Eder, 1995; Visentainer e Franco, 2006).

### **3- OBJETIVO**

#### **3.1- Objetivo geral**

Caracterizar através da composição centesimal e da composição em ácidos graxos, as diferenças entre chocolates normais (branco e preto) e *diets*, produtos (bebidas achocolotadas e sorvetes) contendo chocolate na forma normal e light, com ênfase aos ácidos graxos *trans*.

#### **3.2- Objetivos específicos**

Determinar a composição centesimal aproximada (umidade, cinzas, proteínas e lipídios totais) das amostras de chocolates de diferentes marcas na forma normal (branco e preto) e *diets*, e produtos contendo chocolate.

Quantificar, por cromatografia em fase gasosa, os ácidos graxos, incluindo os AGT em  $\text{mg.g}^{-1}$  de amostra, pelo método de padronização interna em chocolates e produtos contendo chocolate, utilizando os fatores de correção do detector de ionização em chama (DIC).

Comparar os ácidos graxos presentes em diferentes marcas de chocolate, na forma normal (branco e preto) e *diet*, e, entre os produtos contendo chocolate na forma normal e *light*, achocolatados em pó, entre os achocolatados líquidos (bebidas achocolotadas) e, entre sorvetes.

### **4- MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1- Amostragens**

Foram analisadas as principais marcas de chocolates na forma normal e *diet* e branco, produtos contendo chocolate como sorvetes, achocolatados (pó e líquido) na forma normal e *light*, comercializados em diferentes supermercados da região de Maringá. As marcas foram designadas por letras, sendo avaliados cinco lotes por marca e três unidades por lote, as unidades

dos lotes foram misturados. Cada lote foi analisado separadamente em triplicata (Figura 8 e Figura 9).

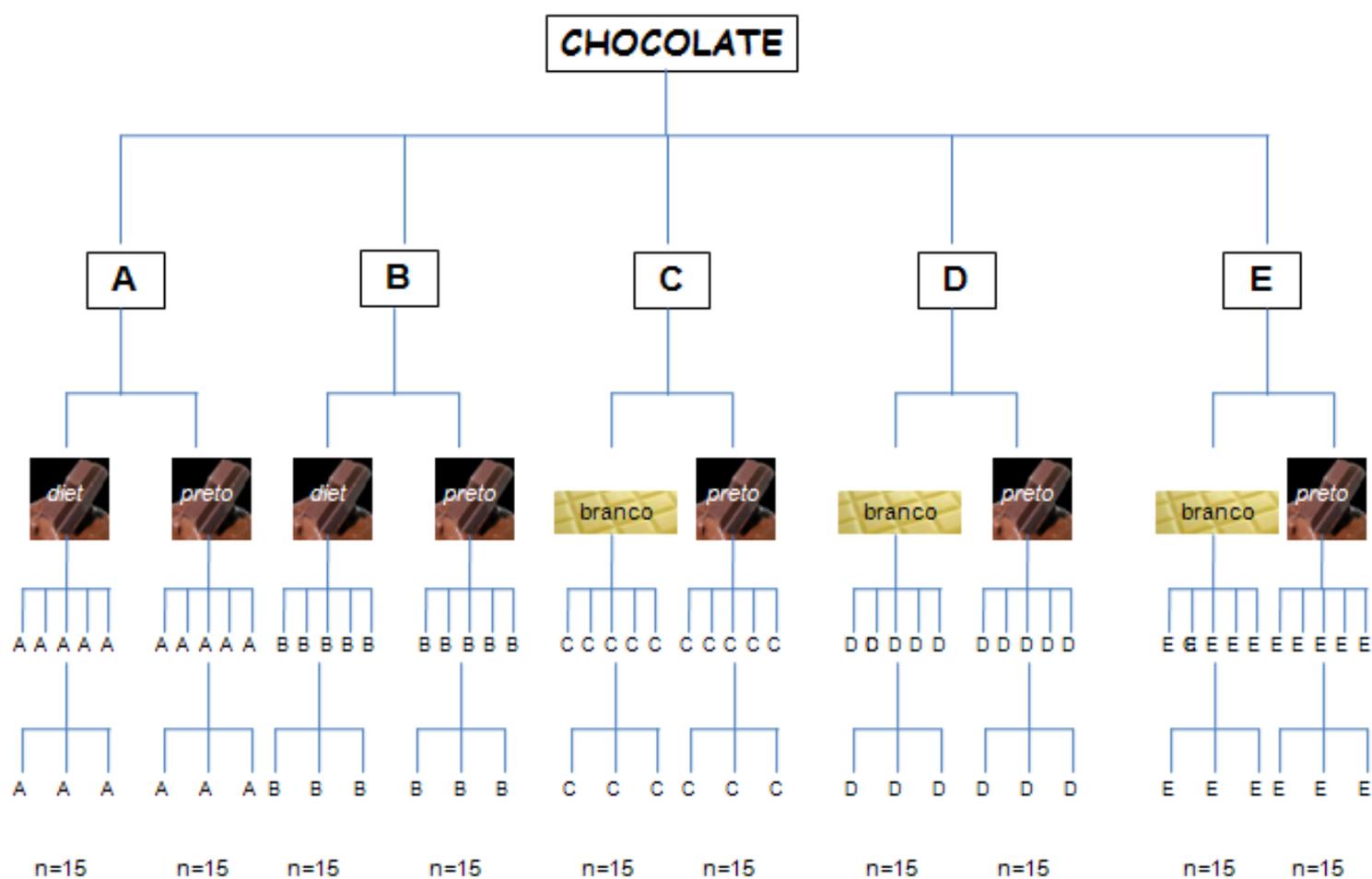


Figura 8. Amostragens de Chocolates

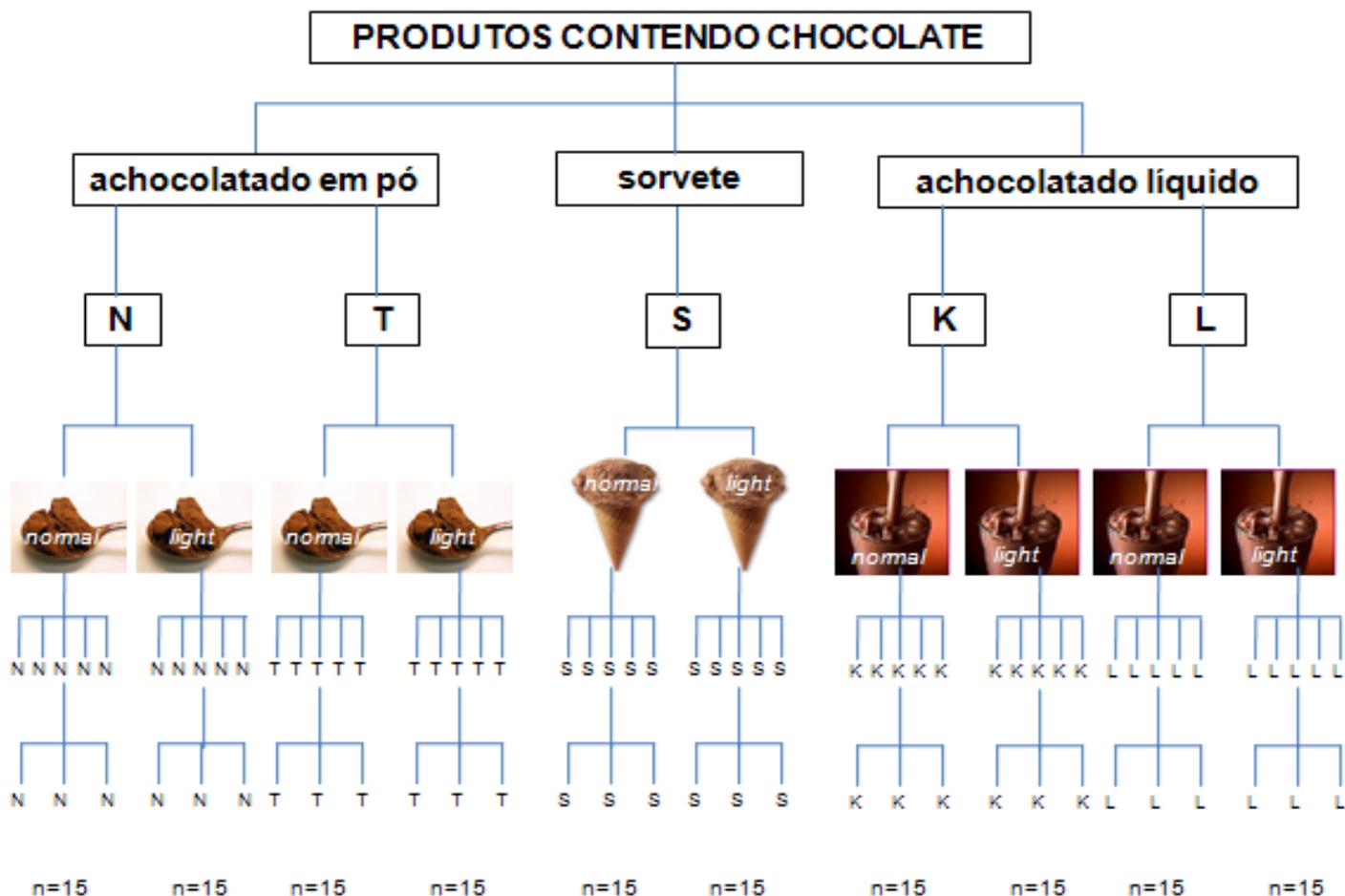


Figura 9. Amostras de produtos contendo chocolate

#### 4.2- Composição centesimal

Os teores de umidade e cinzas das amostras foram determinados conforme método descrito pela AOAC (Cunniff, 1998) e o teor de proteína bruta segundo o método Kjeldahl (Instituto Adolfo Lutz, 2005).

Os lipídios totais (LT) das amostras foram extraídos com uma mistura de clorofórmio e metanol (2:1 v/v), conforme Folch, Less e Stanley (1957).

### 4.3- Cálculo dos carboidratos e valor energético

A caloria refere-se como sendo o calor trocado quando a massa de um grama de água passa de 14,5 °C para 15,5 °C. O correto neste caso seria utilizar kcal (quilocaloria), porém o uso constante em nutrição fez com que modificasse a medida. Assim, quando se diz que uma pessoa precisa de 2.500 calorias, na verdade são 2.500.000 calorias (2.500 quilocalorias). Hoje também é comum expressar quilocalorias escrevendo-se a abreviatura de caloria “Cal” com a letra “C” em maiúsculo. Ex.: 1 Cal = 1.000 cal = 1 Kcal (Dolinsk, 2008).

Os carboidratos foram calculados pela diferença:  $100 - (\% \text{ umidade} + \% \text{ cinzas} + \% \text{ proteína bruta} + \% \text{ lipídios totais})$ . O valor energético (Cal) da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 (Cal/g), ou seja, valor energético,  $\text{Cal} = [(4 \times \text{proteínas}) + (4 \times \text{carboidratos}) + (9 \times \text{lipídios totais})]$ . (Holands *et al.*, 1994).

### 4.4- Esterificação dos ácidos graxos

As preparações de ésteres metílicos de ácidos graxos foram efetuadas conforme método proposto por Hartman e Lago (1973). Foram pesados em tubo de ensaio com tampa rosqueável  $30 \pm 1$  mg de lipídios e adicionados a 50,00mL de solução 0,5 mg/mL de tricosanoato de metila em n-heptano. Após a evaporação do solvente sob fluxo de nitrogênio, os lipídios foram saponificados com solução 0,5 mol/L de hidróxido de sódio em metanol e esterificados com uma mistura constituída de cloreto de amônio, metanol e ácido sulfúrico na proporção de 1:30:1,5 (m/v/v). Após a adição de 4 mL de solução saturada de cloreto de sódio, os ésteres foram extraídos com 1 mL de n-heptano e armazenados em congelador (-18°C) para posterior análise cromatográfica.

#### 4.5- Análise cromatográfica dos ésteres metílicos de ácidos graxos

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados em um cromatógrafo a gás CP-3380 (Varian, EUA), equipado com detector de ionização em chama e coluna capilar de sílica fundida CP-7420 (100 m, 0,25 mm d.i, 0,25  $\mu\text{m}$ , 100% cianopropil ligado, Varian, EUA).

As vazões dos gases foram de 1,4 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de arraste ( $\text{H}_2$ ); 30 mL.min<sup>-1</sup> para o gás de auxiliar ( $\text{N}_2$ ) e 30 e 300 mL.min<sup>-1</sup> para o gás  $\text{H}_2$  e para o ar sintético da chama, respectivamente.

A razão de divisão da amostra (*split*) foi de 1/80. As temperaturas do injetor e detector foram 235 °C. A temperatura da coluna foi de 65 °C por 2 minutos, sendo então elevada para 185 °C a uma taxa de 20 °C.min<sup>-1</sup>, permanecendo nesta temperatura por 10 minutos, sendo elevada para 235 °C a uma taxa de 12 °C.min<sup>-1</sup>, permanecendo nesta temperatura por 13,83 minutos. O tempo total de análise foi de 36 minutos. As áreas dos picos foram determinadas pelo software star 5.0 (Varian).

As injeções foram realizadas em triplicatas e os volumes das injeções foram de 2  $\mu\text{L}$ . A identificação dos ácidos graxos foi baseada na comparação dos tempos de retenção com os dos ésteres metílicos das misturas padrão contendo os isômeros geométricos dos ácidos linoléico (Sigma) e alfa-linolênico e nos valores de comprimento equivalente da cadeia (ECL), conforme o método descrito por Visentainer e Franco (2006).

#### 4.6- Quantificação dos ésteres metílicos de ácidos graxos

As quantificações foram efetuadas em relação ao padrão interno,tricosanato de metila (23:0). A solução do padrão interno foi preparada na

concentração de 1,0 mg/mL em iso-octano. A adição do padrão interno foi realizada após a pesagem da amostra no recipiente de esterificação. Após a adição da solução do padrão interno, o solvente foi evaporado sob fluxo de nitrogênio. Para a determinação da quantidade dos AG identificados na amostra em miligrama/grama de lipídios, utilizou-se a equação 1 (Visentainer e Franco, 2006):

$$M_X = \frac{A_X \cdot M_P \cdot F_{CT}}{A_P \cdot M_A \cdot F_{CEA}} \quad (\text{Equação 1})$$

onde:

$M_X$  = Massa do ácido graxo X em mg/g de lipídios.

$M_P$  = Massa do padrão interno em miligramas.

$M_A$  = Massa da amostra em gramas.

$A_X$  = Área do ácido graxo X.

$A_P$  = Área do padrão interno.

$F_{CT}$  = Fator de correção teórico.

$F_{CEA}$  = Fator de conversão de éster metílico para ácido graxo.

Foi utilizado material de referência certificado (leite em pó) para confirmação da exatidão do método utilizado. O material de referência (RM-8435) foi obtido do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia do Canadá (NIST). As análises foram realizadas triplicatas, com cinco repetições.

#### **4.7- Análise estatística**

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) a 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey, através do software *Statística*, versão 7.0 (Statsoft, 2004).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1- Análises Químicas

#### 5.1.1- Composição centesimal dos chocolates

Os dados das tabelas 1, 3 e 5 referem-se aos resultados da composição centesimal de diferentes marcas de chocolates e nas tabelas 2, 4 e 6 estão os dados contidos nos rótulos dos chocolates analisados.

**Tabela 1: Composição centesimal dos chocolates normais pretos de diferentes marcas (g/100g)**

	Marcas de chocolates normais pretos				
	A	B	C	D	E
Lipídios	27,15 <sup>ade</sup> ± 1,686	30,00 <sup>bd</sup> ± 2,031	23,45 <sup>ce</sup> ± 1,644	28,20 <sup>adb</sup> ± 1,141	25,34 <sup>aec</sup> ± 1,599
Proteína	5,67 <sup>ac</sup> ± 0,233	4,69 <sup>bd</sup> ± 0,225	5,51 <sup>ac</sup> ± 0,226	4,94 <sup>bd</sup> ± 0,124	6,63 <sup>e</sup> ± 0,368
Umidade	1,03 <sup>ade</sup> ± 0,055	0,74 <sup>b</sup> ± 0,060	1,15 <sup>cde</sup> ± 0,109	1,07 <sup>cd</sup> ± 0,099	1,11 <sup>acd</sup> ± 0,067
Cinzas	1,46 <sup>ae</sup> ± 0,053	1,07 <sup>b</sup> ± 0,055	1,75 <sup>cd</sup> ± 0,085	1,71 <sup>cd</sup> ± 0,080	1,48 <sup>ae</sup> ± 0,018
Carboidratos*	64,69	63,50	68,14	64,08	65,44
Calorias** (kcal)	525,79	542,76	505,65	529,88	516,34

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.) \*\*O valor calórico da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 (Cal/g) (Holands *et al.*, 1994).

**Tabela 2: Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates normais pretos (g/100g)**

Parâmetros	Marcas de chocolates normais pretos				
	A	B	C	D	E
Lipídios	30	33,33	28	30,4	28,4
Proteína	6,67	6,67	7,2	6	6
Umidade	-	-	-	-	-
Cinzas	-	-	-	-	-
Carboidratos*	43,33	53,33	60	60	64
Calorias** (kcal)	533,33	533,33	532	532	528

\*,\*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

**Tabela 3: Composição centesimal dos chocolates normais e *diets* pretos (g/100g).**

	Marcas de chocolates			
	A		B	
	diet	normal	diet	normal
Lipídios	31,89 <sup>a</sup> ± 2,146	27,15 <sup>c</sup> ± 1,686	34,12 <sup>b</sup> ± 2,442	30,00 <sup>d</sup> ± 2,031
Proteína	5,27 <sup>a</sup> ± 0,419	5,67 <sup>c</sup> ± 0,233	5,08 <sup>b</sup> ± 0,354	4,69 <sup>d</sup> ± 0,225
Umidade	1,22 <sup>a</sup> ± 0,072	1,03 <sup>c</sup> ± 0,055	1,45 <sup>b</sup> ± 0,125	0,74 <sup>d</sup> ± 0,060
Cinzas	1,09 <sup>a</sup> ± 0,057	1,46 <sup>c</sup> ± 0,053	1,41 <sup>b</sup> ± 0,111	1,07 <sup>d</sup> ± 0,055
Carboidratos*	60,53	64,69	57,94	63,5
Calorias**	550,21	525,79	559,16	542,76

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.). \*\*O valor calórico (kcal) da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 ( Cal/g) (Holands *et al.*, 1994).

**Tabela 4: Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates normais e *diets* pretos (g/100g).**

Parâmetros	Marcas de chocolates			
	A		B	
	diet	normal	diet	normal
Lipídios	33,33	30	36,67	33,33
Proteína	6,67	6,67	6,67	6,67
Umidade	-	-	-	-
Cinzas	-	-	-	-
Carboidratos*	53,33	43,33	50	53,33
Calorias** (kcal)	466,67	533,33	500	533,33

\*, \*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

**Tabela 5 - Composição centesimal de chocolates normais brancos das diferentes marcas (g/100g)**

	Marcas de chocolates normais brancos		
	C	D	E
Lipídios	29,74 <sup>a</sup> ± 1,463	29,17 <sup>a</sup> ± 1,8314	26,78 <sup>c</sup> ± 1,603
Proteína	8,79 <sup>a</sup> ± 0,339	7,46 <sup>b</sup> ± 0,225	6,04 <sup>c</sup> ± 0,350
Umidade	1,75 <sup>abc</sup> ± 0,126	1,89 <sup>ab</sup> ± 0,166	1,59 <sup>ac</sup> ± 0,118
Cinzas	1,66 <sup>a</sup> ± 0,116	1,96 <sup>b</sup> ± 0,100	1,37 <sup>c</sup> ± 0,080
Carboidratos*	58,06	59,52	64,22
Calorias**(Kcal)	535,06	530,45	522,06

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.) \*\*O valor calórico da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 ( Cal/g) (Holands *et al.*, 1994).

**Tabela 6 - Composição centesimal contida nos rótulos dos chocolates brancos (g/100g)**

	Marcas de chocolates normais Brancos		
	C	D	E
Lipídios	33,2	32,4	29,2
Proteína	7,2	8	5,6
Umidade	-	-	-
Cinzas	-	-	-
Carboidratos*	56	56	64
Calorias**	556	548	536

\*,\*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

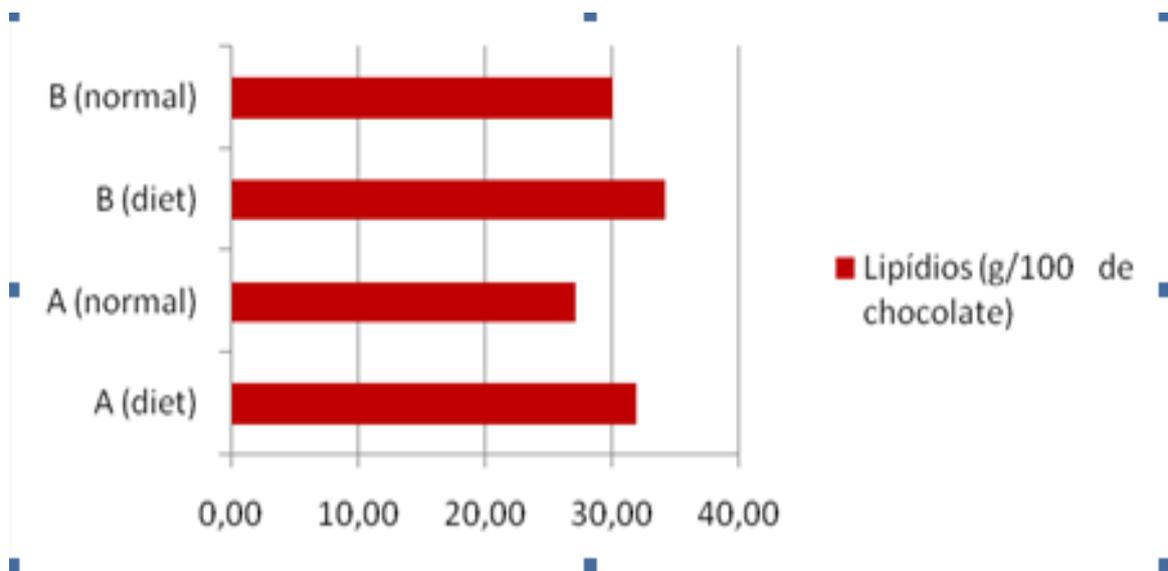
A quantidade de carboidratos foi obtida por diferença (tabelas, 1, 3 e 5), por esse motivo o valor calculado foi maior que o valor dos rótulos. Já os dados das tabelas, 2, 4 e 6 provavelmente foram obtidos por outro método, pois apresentaram valores diferentes. Em relação à quantidade calórica, os chocolates são alimentos com altas taxas calóricas, devido à grande quantidade de carboidratos e lipídios presentes (Vissotto *et al.*, 1999). Além dos carboidratos e da gordura presentes no chocolate, o componente do cacau é rico em inúmeros minerais essenciais, como o magnésio, cobre, potássio e manganês (Hammerstone *et al.*, 1999).

O teor de proteína bruta (6,63%) obtido para o chocolate normal preto da marca E (tabela 1), foi o único que se aproximou do valor contido no rótulo (6%) (tabela 2). Todas as outras marcas de chocolates continham teor protéico inferiores aos dos rótulos. Entre os chocolates das marca A e B normais e *diets* (tabela 3), o que apresentou o menor teor de proteína bruta foi o normal da marca B (4,69%). Já para os chocolates brancos das marcas (C, D, E), a marca que apresentou o menor teor de proteína bruta foi também da E (6,04%) (tabela 5), porém este valor foi o único que se aproximou do rótulo (5,6%) (tabela 6).

Os teores de umidade e cinzas de todos os chocolates analisados estão dentro dos limites estabelecidos pela legislação, sendo que para a umidade, o limite máximo é de 3% e para cinzas de 2,5% (Brasil, 1978). Entretanto, estes valores não estavam descritos nos rótulos de nenhuma das marcas de chocolates analisadas.

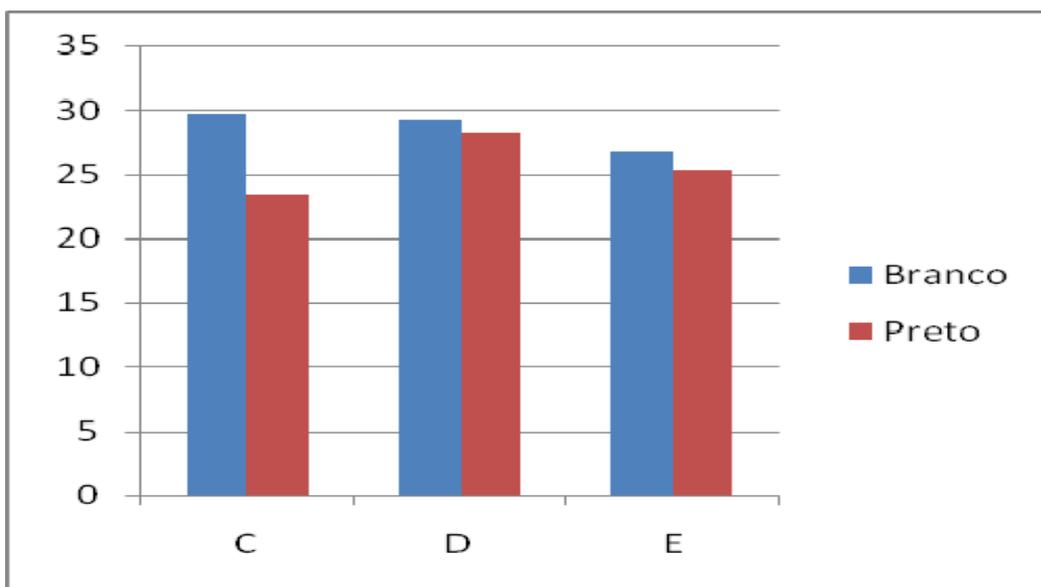
Os teores de lipídios totais encontrados para todas as marcas e tipos de chocolates analisados (tabelas 1, 3 e 5), foram inferiores aos constantes nos rótulos das embalagens (tabelas 2, 4 e 6). As diferenças entre os valores determinados e os expressos nos rótulos dos produtos, podem ser justificadas pela não uniformidade na composição da matéria prima utilizada e ou ainda durante as etapas da industrialização do chocolate. Todavia, todas as amostras apresentaram conteúdos lipídicos dentro dos limites que a legislação brasileira estabelece, onde o chocolate deve ter no mínimo 20% de lipídios (Brasil, 1978).

Foi constatado que entre chocolates das mesmas marcas, os dietéticos apresentaram maior teor de lipídios (Figura 5). Este fato pode estar relacionado à ausência de açúcar, sendo necessário aumentar a quantidade de gordura para manter a consistência do chocolate (Bochicchio *et al.*, 2005).



**Figura 10. Teor de lipídios dos chocolates das marcas normais A e B e diets pretos (g/100g de chocolate).**

Comparando-se os chocolates normais pretos e brancos das marcas C, D e E, verifica-se que o teor de lipídios dos chocolates brancos das marcas C e E foram superiores aos chocolates pretos (Figura 11).



**Figura 11. Teores de lipídios dos chocolates normais pretos e brancos das marcas C, D e E (g/100g de chocolate).**

Os tipos de chocolates obtidos variam segundo a forma, os ingredientes adicionados e a mistura de cacau. O chocolate, sem a adição de cacau produz o chocolate branco, o qual é constituído apenas de manteiga de cacau com açúcar e aromatizantes. A substituição da manteiga de cacau por gordura hidrogenada (ingrediente de menor custo) é considerada fraude quando comercializado como chocolate, mas pode ser vendido para uso como cobertura para bolos e sorvetes (Minifie, 1989). Os resultados obtidos para as diferentes marcas analisadas estavam dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, onde o chocolate deve ter no mínimo 20% de lipídios totais (Brasil, 1978).

### **5.1.2- Composição centesimal dos produtos contendo chocolate**

Na tabela 7, estão os resultados encontrados para as duas marcas de achocolatados nas versões normais e *lights* e na tabela 8, estão os dados contidos nos rótulos dos achocolatados em pó.

**Tabela 7. Composição centesimal dos achocolatados normais e *lights* em pó (g/100g amostra)**

	N		T	
	<i>light</i>	normal	<i>light</i>	normal
Lipídios	3,60 <sup>a</sup> ± 0,234	2,32 <sup>c</sup> ± 0,117	3,35 <sup>b</sup> ± 0,158	1,55 <sup>d</sup> ± 0,072
Proteína	5,70 ± 0,338	5,75 <sup>c</sup> ± 0,350	4,93 <sup>b</sup> ± 0,200	2,33 <sup>d</sup> ± 0,068
Umidade	1,66 <sup>a</sup> ± 0,131	2,02 <sup>c</sup> ± 0,111	0,71 <sup>b</sup> ± 0,027	0,178 <sup>d</sup> ± 0,014
Cinzas	5,01 <sup>a</sup> ± 0,311	2,91 <sup>c</sup> ± 0,057	14,02 <sup>b</sup> ± 1,336	1,156 <sup>d</sup> ± 0,045
Carboidratos*	84,03	87	76,99	94,79
Calorias**	391,32	391,88	357,83	402,41

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.) \*\*O valor calórico da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 (Cal/g) (Holands *et al.*, 1994).

**Tabela 8. Composição centesimal dos achocolatados normais e *lights* em pó (g/100 g amostra) presentes nos rótulos.**

	N		T	
	<i>light</i>	normal	<i>light</i>	normal
Lipídios	0	2,32	0	0
Proteína	6,21	3,5	6	2,5
Umidade	-	-	-	-
Cinzas	-	-	-	-
Carboidratos*	82,76	85	81	95
Calorias**	365,5	375	370	400

\*,\*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

Os teores de lipídios totais encontrados nos achocolatados em pó analisados da marca T (normal e *light*) e marca N (*light*) foram superiores aos contidos nos rótulos das embalagens. A maior parte da gordura dos achocolatados provém do cacau e derivados do leite (Mércia e Lannes, 2004).

O teor de lipídios variou significativamente ( $P < 0,05$ ) entre as diferentes marcas de achocolatados, apresentando maiores teores nos produtos *light*, sendo que provavelmente, estes teores sejam provenientes do cacau em pó. Nos achocolatados *lights* não há sacarose, ou, há uma pequena quantidade, sendo que a sacarose é que dá “corpo” ao alimento, logo, este achocolatado precisa ter uma quantidade maior de cacau para aumentar o “corpo”, aumentando, portanto o teor lipídico (Cândido e Campos, 1996).

Nos rótulos para os achocolatados *lights* das marcas N e T e normal para a marca T, constava teor de lipídios totais zero. Sendo que pela composição dos achocolatados, é impossível tal afirmativa, pois o cacau em pó possui um teor de lipídios em torno de 6 a 12%, o leite, mesmo que desnatado possui certa quantidade de lipídios (Mércia e Lannes, 2004).

Os achocolatados da marca N *light* e T normal apresentaram os mesmos teores de proteínas em relação aos rótulos, 5,70 e 2,33%, respectivamente. Assim como os chocolates *diets*, os achocolatados *lights* apresentam maiores teores de lipídios.

Teores maiores ou menores de umidade dos achocolatados dependem diretamente da umidade dos ingredientes e/ou do processamento do achocolatado. De acordo com especificações técnicas das indústrias, o cacau em pó possui teores de umidade variando de 2,5 a 4,5%, e, o teor de aspartame pode chegar a 4,5%. A umidade dos achocolatados, na sua maior parte, provém do cacau em pó e seus derivados e do aspartame, já que outros ingredientes contribuem muito pouco com esta característica, devido às suas propriedades de baixa higroscopicidade. O processamento de achocolatados por aglomeração, pode deixar no produto uma umidade maior. O produto pode sair do equipamento com umidade final de 2 a 4%. Os achocolatados da marca N provavelmente são produzidos por este método, o que explica teor de umidade maior nesses achocolatados (Mércia e Lannes, 2004). O teor de umidade encontrado para esta marca de achocolatado (N) normal e *light* foi de 2,02 e 1,66%, respectivamente.

O conteúdo de cinzas da torta de cacau, a partir do qual se obtém o

cacau em pó, é de aproximadamente 4% (Medeiros e Lannes, 1999). Na indústria, a torta de cacau pode chegar a 7% de cinzas. O achocolatado, por se tratar de mistura de pós de diferentes teores de cinzas, pode apresentar teor maior ou menor de cinzas em relação à torta de cacau, sendo geralmente menor devido a grandes quantidades de açúcar (Mércia e Lannes, 2004). Os achocolatados de marca N (normal e light) e de marca T (normal) apresentaram um teor de cinzas abaixo de 7% (tabela 7), entretanto, o achocolatado de marca T *light* apresentou um teor de cinzas elevado.

A quantidade de carboidratos foi obtida por diferença (tabela 7), e estes valores foram próximos aos contidos nos rótulos dos achocolatados (tabela 8). Em relação ao valor energético encontrado nos achocolatados das marcas N e T, percebe-se que estas amostras não obedecem à legislação dos produtos *light*, pois o termo *light* deve ser utilizado, quando for cumprido o atributo de redução mínima de 25%, no valor energético total ou do conteúdo de um dos nutrientes dos alimentos comparados (Richter e Lannes, 2007; Brasil, 2008). Sendo que o achocolatado *light* de marca N apresentou uma redução calórica de 0,14%, e, para a marca T uma redução de 12,47%.

Em relação aos rótulos nutricionais referentes a estas amostras (achocolatados em pó de marca N e T) foi possível verificar que os rótulos nutricionais não estavam de acordo com a legislação em vigor, sendo que para a marca N, a redução do valor energético era de apenas 2,53% e para a marca T 7,5%.

Os achocolatados têm sido muito consumidos, muitas indústrias têm produzido achocolatados fazendo com que haja grandes variedades e preços competitivos ao consumidor. Entretanto, o processamento, os ingredientes e as concentrações utilizadas não são os mesmos, fazendo com que haja grande variação nas suas propriedades nutricionais, tais como o teor de lipídios, proteínas, carboidratos, teobromina e outros alcalóides, entre outros (Mércia e Lannes, 2004).

O consumidor tem demonstrado cada vez mais preocupação em relação à sua alimentação. Pesquisas demonstram a importância da diminuição da

ingestão de lipídios e do aumento da ingestão de proteínas e carboidratos complexos (Cândido e Campos, 1996), bem como alertam quanto ao consumo indiscriminado de produtos contendo alcalóides, como por exemplo, a teobromina. Ela está presente, em sua maior parte, nos chocolates e derivados (achocolatados, bebidas achocolatadas, sorvetes de chocolate, entre outros) e sabe-se que esta, similarmente à cafeína e outros alcalóides, atua como estimulante do sistema nervoso central e do músculo cardíaco. O seu consumo moderado pode melhorar o desempenho no trabalho e nos estudos, mas a alta ingestão pode causar irritabilidade, insônia e distúrbios gastrointestinais (Mércia e Lannes, 2004). Por outro lado, existe uma especulação de que uma dieta rica em polifenóis (presentes no cacau) poderia proteger o sistema cardiovascular, devido à ação antioxidante direta ou devido à ação anti-trombótica (Rein *et al.*, 2000; Ying *et al.*, 2001).

A tabela 9 mostra os resultados da composição química das marcas K e L de bebidas achocolatadas (achocolatado líquido) normais e *lights* e na tabela 10 estão os dados referentes aos rótulos das bebidas analisadas.

**Tabela 9. Composição centesimal de bebidas achocolatadas normais e *lights* (g/100g amostra).**

Propriedades	K		L	
	<i>light</i>	normal	<i>light</i>	normal
Lipídios	0,62 <sup>a</sup> ± 0,015	3,07 <sup>c</sup> ± 0,300	0,26 <sup>b</sup> ± 0,022	2,48 <sup>d</sup> ± 0,232
Proteína	1,73 <sup>a</sup> ± 0,066	1,52 <sup>c</sup> ± 0,039	3,31 <sup>b</sup> ± 0,165	2,94 <sup>d</sup> ± 0,172
Umidade	85,69 <sup>a</sup> ± 0,253	81,73 <sup>c</sup> ± 0,110	89,52 <sup>b</sup> ± 0,510	80,73 <sup>d</sup> ± 0,409
Cinzas	0,55 <sup>a</sup> ± 0,033	0,35 <sup>c</sup> ± 0,034	0,73 <sup>b</sup> ± 0,054	0,61 <sup>d</sup> ± 0,048
Carboidratos*	11,22	13,16	5,81	12,92
Calorias**	58,15	87,02	40,31	87,03

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.). \*\*O valor calórico da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 (Cal/g) (Holandset *et al.*, 1994).

**Tabela 10. Composição centesimal de bebidas achocolatadas normais e *lights* (g/100g amostra) presente nos rótulos.**

	K		L	
	<i>light</i>	Normal	<i>light</i>	normal
Lipídios	0,00	2,35	0	2,5
Proteína	2,40	1,95	3,03	2,5
Umidade	-	-	-	-
Cinzas	-	-	-	-
Carboidratos*	13	16	5,5	13,5
Calorias**	63	92,5	35	86,5

\*,\*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

Os teores de lipídios totais encontrados para as bebidas de marca K e L (*light*) e K normal, foram superiores aos valores apresentados nos rótulos dos produtos. Os rótulos dos produtos *light* indicavam que os teores de lipídios totais presentes era zero, isso seria praticamente impossível acontecer, pois neste alimento existe a presença do leite e soro de leite. Entretanto, para a bebida de marca L (normal) o valor obtido experimentalmente (2,48%) foi o mesmo do valor descrito no rótulo nutricional (2,5%).

Os teores de proteína bruta obtidos para a bebida de marca K apresentou em média 1,71% e a marca L, 3,13%.

Os teores de umidade e cinzas obtidos para as bebidas foram de 84,42% e 0,60%, respectivamente. Os rótulos não prescreviam o teor de umidade e cinzas desses produtos.

Em relação ao valor energético encontrado para a bebida achocolatada normal de marca K (87,02 Cal) e *light* (58,15 Cal), as amostras obedecem à legislação sobre produtos *light*, pois o termo *light* pode ser utilizado quando for cumprido o atributo de redução mínima de 25% no valor energético total ou do

conteúdo de um dos nutrientes dos alimentos comparados (Richter e Lannes, 2007; Brasil, 2008). O mesmo se repete para a bebida achocolatada normal da marca L (87,03 Cal) e *light* (53,68 Cal). Em relação aos rótulos nutricionais das amostras analisadas, tanto a bebida de marca K, quanto a de marca L obedecem a legislação dos alimentos *lights*.

A tabela 11 mostra os resultados encontrados para a composição química de sorvetes de chocolate normal e *light* de marca S e na tabela 12 estão os dados contidos nos rótulos dos sorvetes analisados.

O rótulo do sorvete *light* de marca S, não apresentou coerência em seus dados, pois em 100g de amostra apresentava valor calórico de 66 Cal e em 190g descrevia o valor energético de 40 Cal, ou seja, numa quantidade maior de amostra constava um valor energético menor. Diante a isso, não foi possível a comparação dos valores obtidos experimentalmente com os descritos do rótulo deste produto.

**Tabela 11. Composição centesimal dos sorvetes de chocolate normal e *light* (g/100g amostra).**

	S	
	<i>Light</i>	normal
Lipídios	2,78 <sup>a</sup> ±0,174	7,46 <sup>b</sup> ±0,317
Proteína	5,92 <sup>a</sup> ±0,222	3,08 <sup>b</sup> ±0,132
Umidade	71,15 <sup>a</sup> ±0,294	63,96 <sup>b</sup> ±1,377
Cinzas	0,98 <sup>a</sup> ±0,026	0,70 <sup>b</sup> ±0,022
Carboidratos*	19,17	24,80
Calorias**	125,38	178,66

Resultados expressos como Média ±Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança. \*Os carboidratos totais foram calculados por diferença: 100-(% umidade +% cinzas + % proteína bruta + % L.T.). \*\*O valor calórico da amostra foi calculado pela soma das porcentagens de proteína bruta e carboidratos totais multiplicados pelo fator 4 (Cal/g) somado ao teor de lipídios totais multiplicados pelo fator 9 ( Cal/g) (Holands *et al.*, 1994).

**Tabela 12 Composição centesimal dos sorvetes de chocolate normal e *light* (g/100g amostra) presentes nos rótulos.**

	S	
	<i>Light</i>	(normal)
Lipídios	-	7,5
Proteína	-	2,83
Umidade	-	-
Cinzas	-	-
Carboidratos*	-	25,3
Calorias**	-	180

\*,\*\*Nos rótulos não há especificação dos métodos utilizados para as determinações.

O teor de lipídios totais do sorvete de chocolate normal (7,46%) apresentou um valor igual ao descrito no rótulo nutricional (7,5%). Para o sorvete de chocolate *light* o teor de lipídios totais (2,78%) foi inferior ao sorvete normal. Na formulação do sorvete normal há adição somente de leite, entretanto, no sorvete *light* além do leite há também a presença do soro do leite, diminuindo, portanto o teor de lipídios no sorvete *light* em relação ao sorvete normal e estando de pleno acordo com a legislação para alimento *light*.

A substituição de gordura por proteína ou carboidrato altera propriedades físicas e é de particular interesse em sobremesas lácteas congeladas. Em muitos sistemas de balanço entre gorduras e sólidos na fase aquosa, essa substituição ajuda a promover a estabilidade da emulsão durante o processamento da mistura e permite a desestabilização da gordura durante o congelamento de sorvetes. Substituindo a gordura esse balanço é alterado, o que afeta as propriedades de derretimento e batimento. Entretanto, a proteína do soro, em particular, desempenha um papel importante na estabilidade da emulsão e tem funcionalidade semelhante aos emulsificantes tradicionais, o que a torna uma alternativa de substituição da gordura (Schmidt, Lundy e Reynolds, 1993).

O teor de proteína diminui com o aumento da adição do soro de leite. Isso pode ser explicado pelo fato de o soro ter aproximadamente a metade do teor protéico do leite em pó (12% para 24,86%). Entretanto, o teor de proteína bruta obtido para o sorvete de chocolate normal (3,08%) apresentou um valor muito próximo ao valor descrito no rótulo do produto (2,83%). Para o sorvete *light* o teor de proteína bruta encontrada (5,92%) foi superior ao sorvete normal. O valor de proteína encontrado para o sorvete *light* pode ser explicado devido na sua formulação apresentar não somente o soro do leite, mas também a presença do leite em pó, e, no sorvete normal somente a presença do leite em pó.

Os teores de umidade e cinzas encontradas para o sorvete normal foram de 63,96 e 0,98%, respectivamente e para o sorvete *light* 71,15% de umidade e 0,70% de cinzas. Os rótulos não mostravam o teor de umidade e cinzas desses produtos.

A quantidade de carboidratos foi obtida por diferença (tabela 11), e para o sorvete de chocolate normal de marca S, os valores encontrados foram próximos aos descritos no rótulo nutricional do produto analisado (tabela 12).

Em relação ao valor energético encontrado no sorvete de chocolate normal (178,66 Cal) e o sorvete *light* (125,38 Cal), a amostra obedece à legislação imposta sobre produtos *light*, pois o termo *light* pode ser utilizado quando for cumprido o atributo de redução mínima de 25% no valor energético total ou do conteúdo de um dos nutrientes dos alimentos comparados (Richter e Lannes, 2007; Brasil, 2008).

## **5.2- Composição lipídica**

### **5.2.1- Identificação e quantificação dos ácidos graxos dos chocolates**

Os dados apresentados na tabela 13 mostram a concentração dos ácidos graxos nas amostras de chocolate normais das marcas A, B, C, D e E. Dentre os ácidos graxos saturados destacaram-se os ácidos palmítico (16:0) e

esteárico (18:0), que variam de 4,86 (C) a 6,93 (A)g e 5,63 (C) a 7,77 (D) g/100g de chocolate, respectivamente.

Entre os ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com concentrações que variaram de 5,81(C) a 8,42(B) g/100g de chocolate. A quantidade de ácidos graxos polinsaturados variaram de 0,45g (C) a 0,82g (B), com destaque para o ácido linoléico (18:2n-6).

O ácido graxo *trans* identificado e quantificado foi o ácido elaídico (18:1-9t), e suas quantidades nas amostras variaram de 60 mg para a marca D a 110 mg para a marca C por 100g de chocolate.

Os chocolates normais das marcas A e B foram os que apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos com 15,48 g e 15,41 g de ácidos graxos saturados, 8,06 g e 8,42 g de ácidos graxos monoinsaturados e 0,70 g e 0,82 g de ácidos graxos polinsaturados por 100 g de chocolate. A marca C foi a que apresentou menores quantidades de ácidos graxos totais, sendo recomendado como o melhor chocolate dentre os normais pretos, seguido pelas marcas E e D.

**Tabela 13. Perfil de ácidos graxos em chocolates normais pretos (g/100g de chocolate).**

Ácidos graxos	Marcas de chocolates normais pretos (g/100g de chocolate)				
	A	B	C	D	E
<b>C4:0</b>	0,18 <sup>a</sup> ±0,022	0,11 <sup>b</sup> ±0,010	0,04 <sup>c</sup> ±0,003	0,12 <sup>b</sup> ±0,013	0,11 <sup>be</sup> ±0,006
<b>C6:0</b>	0,06 <sup>a</sup> ±0,006	0,10 <sup>b</sup> ±0,009	0,09 <sup>c</sup> ±0,007	0,03 <sup>d</sup> ±0,003	0,09 <sup>c</sup> ±0,006
<b>C8:0</b>	0,04 <sup>a</sup> ±0,004	nd	0,06 <sup>c</sup> ±0,005	0,04 <sup>d</sup> ±0,003	0,02 <sup>e</sup> ±0,001
<b>C10:0</b>	0,09 <sup>a</sup> ±0,008	0,03 <sup>bce</sup> ±0,003	0,04 <sup>bce</sup> ±0,003	0,08 <sup>d</sup> ±0,006	0,03 <sup>bce</sup> ±0,003
<b>C12:0</b>	0,10 <sup>ade</sup> ±0,009	0,06 <sup>bc</sup> ±0,005	0,05 <sup>bc</sup> ±0,004	0,09 <sup>ade</sup> ±0,008	0,10 <sup>ade</sup> ±0,007
<b>C14:0</b>	0,34 <sup>a</sup> ±0,023	0,23 <sup>bce</sup> ±0,017	0,24 <sup>bce</sup> ±0,014	0,39 <sup>d</sup> ±0,029	0,24 <sup>bce</sup> ±0,017
<b>C14:1n-7</b>	0,05 <sup>ad</sup> ±0,004	0,02 <sup>be</sup> ±0,002	0,04 <sup>c</sup> ±0,003	0,05 <sup>ad</sup> ±0,003	0,03 <sup>be</sup> ±0,002
<b>C15:0</b>	0,04 <sup>ad</sup> ±0,002	0,04 <sup>be</sup> ±0,003	0,05 <sup>cd</sup> ±0,004	0,05 <sup>acd</sup> ±0,004	0,04 <sup>be</sup> ±0,002
<b>C16:0</b>	6,93 <sup>ab</sup> ±0,553	6,46 <sup>ab</sup> ±0,286	4,86 <sup>c</sup> ±0,397	5,69 <sup>de</sup> ±0,434	5,48 <sup>de</sup> ±0,245
<b>C16:1n-7</b>	0,09 <sup>a</sup> ±0,007	0,06 <sup>be</sup> ±0,005	0,08 <sup>cd</sup> ±0,007	0,08 <sup>cd</sup> ±0,006	0,07 <sup>be</sup> ±0,004
<b>C17:0</b>	0,06 <sup>ae</sup> ±0,004	0,07 <sup>bcd</sup> ±0,005	0,07 <sup>bcd</sup> ±0,005	0,07 <sup>bcd</sup> ±0,005	0,07 <sup>abe</sup> ±0,005
<b>C18:0</b>	7,56 <sup>abde</sup> ±0,348	8,05 <sup>abd</sup> ±0,255	5,63 <sup>c</sup> ±0,386	7,77 <sup>abd</sup> ±0,587	7,07 <sup>ae</sup> ±0,464
<b>C18:1-9t</b>	0,07 <sup>abde</sup> ±0,005	0,08 <sup>ab</sup> ±0,004	0,11 <sup>c</sup> ±0,010	0,06 <sup>ade</sup> ±0,004	0,07 <sup>ade</sup> ±0,006
<b>C18:1n-9</b>	8,06 <sup>ab</sup> ±0,602	8,42 <sup>ab</sup> ±0,349	5,81 <sup>c</sup> ±0,470	7,41 <sup>d</sup> ±0,364	6,82 <sup>e</sup> ±0,549
<b>C18:2n-6</b>	0,67 <sup>a</sup> ±0,057	0,76 <sup>b</sup> ±0,034	0,42 <sup>c</sup> ±0,016	0,57 <sup>de</sup> ±0,051	0,60 <sup>de</sup> ±0,046
<b>C20:0</b>	0,23 <sup>ade</sup> ±0,019	0,27 <sup>b</sup> ±0,016	0,17 <sup>c</sup> ±0,010	0,23 <sup>ade</sup> ±0,020	0,22 <sup>ade</sup> ±0,015
<b>C18:3n-3</b>	0,06 <sup>ad</sup> ±0,004	0,04 <sup>be</sup> ±0,003	0,03 <sup>c</sup> ±0,003	0,05 <sup>ad</sup> ±0,004	0,04 <sup>be</sup> ±0,003
<b>C20:1n-9</b>	0,06 <sup>a</sup> ±0,001	0,02 <sup>b</sup> ±0,001	0,02 <sup>ce</sup> ±0,003	nd	0,02 <sup>ce</sup> ±0,001
<b>C22:0</b>	0,05 <sup>ace</sup> ±0,004	0,05 <sup>bd</sup> ±0,003	0,05 <sup>ace</sup> ±0,004	0,05 <sup>bd</sup> ±0,005	0,05 <sup>ace</sup> ±0,003
<b>C24:0</b>	0,02 <sup>ae</sup> ±0,001	0,03 <sup>b</sup> ±0,001	0,02 <sup>c</sup> ±0,002	0,03 <sup>d</sup> ±0,002	0,03 <sup>ae</sup> ±0,002
<b>Saturados</b>	15,48 <sup>abd</sup> ±0,910	15,41 <sup>abd</sup> ±0,698	11,04 <sup>c</sup> ±0,740	14,76 <sup>abd</sup> ±0,653	13,28 <sup>e</sup> ±0,920
<b>Monoinsaturados</b>	8,25 <sup>abd</sup> ±0,625	8,59 <sup>ab</sup> ±0,542	5,79 <sup>c</sup> ±0,453	7,64 <sup>ad</sup> ±0,555	6,85 <sup>e</sup> ±0,502
<b>Poliinsaturados</b>	0,70 <sup>ae</sup> ±0,061	0,82 <sup>b</sup> ±0,054	0,45 <sup>c</sup> ±0,022	0,58 <sup>d</sup> ±0,050	0,66 <sup>ae</sup> ±0,049
<b>Trans</b>	0,07 <sup>ade</sup> ±0,005	0,08 <sup>b</sup> ±0,007	0,10 <sup>c</sup> ±0,010	0,06 <sup>ade</sup> ±0,004	0,07 <sup>ade</sup> ±0,006
<b>n-6</b>	0,68 <sup>a</sup> ±0,054	0,75 <sup>b</sup> ±0,036	0,42 <sup>c</sup> ±0,016	0,58 <sup>de</sup> ±0,048	0,60 <sup>de</sup> ±0,046
<b>n-3</b>	0,06 <sup>ad</sup> ±0,006	0,04 <sup>be</sup> ±0,002	0,03 <sup>c</sup> ±0,003	0,06 <sup>ad</sup> ±0,005	0,04 <sup>be</sup> ±0,004

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

Na tabela 14 estão os resultados encontrados para as concentrações dos ácidos graxos das amostras de chocolates normais pretos e *diets* das marcas A e B. Dentre os ácidos graxos saturados destacaram-se os ácidos

palmítico (16:0), esteárico (18:0), variando de 6,12 (A *diet*) a 7,27g(B *diet*) e 7,56 (A normal) a 9,71(B *diet*) g/100g de chocolate, respectivamente.

Entre os ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com quantidades que variaram de 7,32(A *diet*) a 9,49 (B *diet*) g/100g de chocolate. As quantidades de ácidos graxos poliinsaturados variaram de 0,63g (A *diet*) a 0,87g (B *diet*), com destaque para o ácido linoléico (18:2n-6).

O ácido graxo *trans* identificado e quantificado foi o ácido elaídico (18:1n-9t), e suas quantidades nas amostras variaram de 60mg para a marca B (*diet*) a 80mg para a marca B (normal) por 100g de chocolate. Não houve diferença significativa entre as duas marcas para o chocolate *diet*.

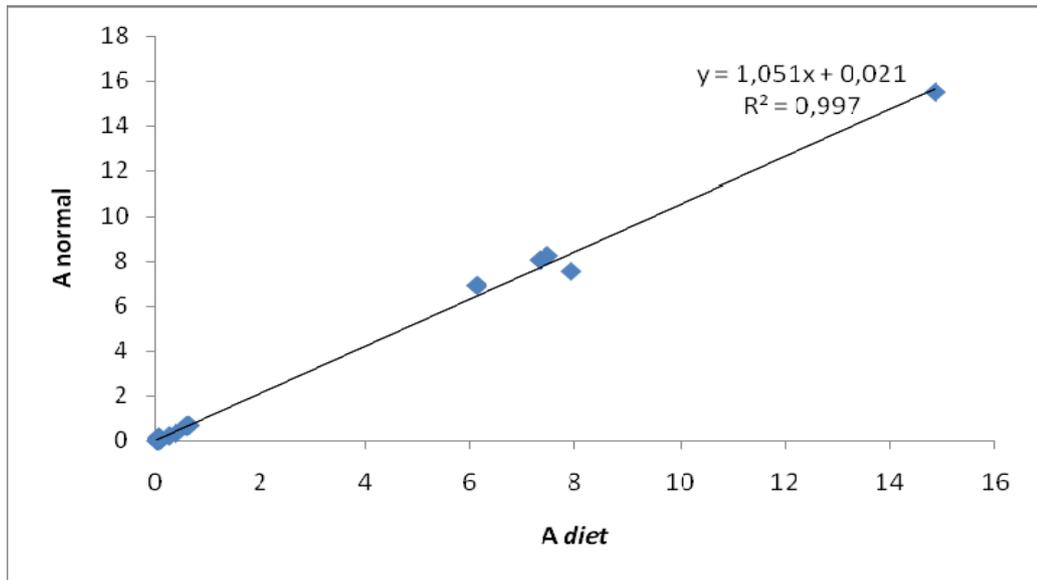
Os chocolates da marca B *diet* apresentaram as maiores quantidades de ácidos graxos, sendo 18,15 g de ácidos graxos saturados, 9,49 g de ácidos graxos monoinsaturados e 0,87g de ácidos graxos poliinsaturados por 100g de chocolate. Os chocolates da marca A *diet* foram os que apresentaram menores quantidades de ácidos graxos totais, sendo recomendado como o melhor chocolate dentre os normais pretos e *diets*, seguido pelas marcas A normal, B normal e B *diet*. Portanto, o chocolate da marca B *diet*, é o menos recomendado em termos de gorduras saturadas e lipídios totais, mesmo comparados as marcas de chocolates normais C, D e E.

A figura 12 mostra o comportamento dos ácidos graxos entre os chocolates normais e *diets* de marcas A e B.

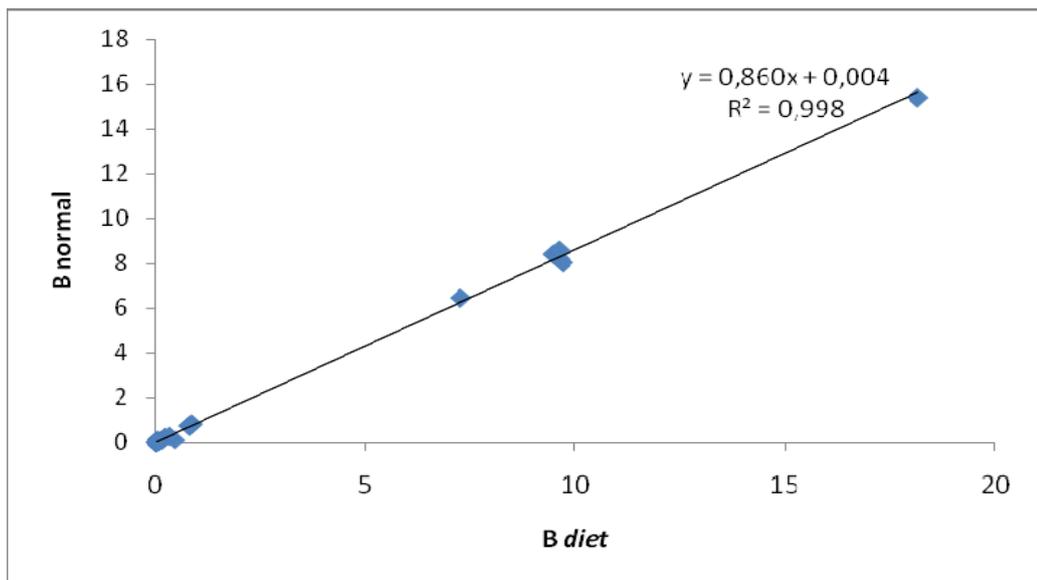
**Tabela 14. Perfil de ácidos graxos em chocolates normais pretos e *diets*. (g/100g de chocolate).**

Ácidos graxos	Marcas de chocolate (g/100g de chocolate)			
	A		B	
	diet	normal	diet	normal
<b>C4:0</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,005	0,18 <sup>c</sup> ± 0,022	0,47 <sup>b</sup> ± 0,039	0,11 <sup>d</sup> ± 0,010
<b>C6:0</b>	0,08 <sup>a</sup> ± 0,004	0,06 <sup>c</sup> ± 0,006	0,16 <sup>b</sup> ± 0,015	0,10 <sup>d</sup> ± 0,009
<b>C8:0</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,004	0,04 <sup>c</sup> ± 0,004	0,02 <sup>b</sup> ± 0,002	nd
<b>C10:0</b>	0,05 <sup>a</sup> ± 0,004	0,09 <sup>c</sup> ± 0,008	0,04 <sup>b</sup> ± 0,003	0,03 <sup>d</sup> ± 0,003
<b>C12:0</b>	0,08 <sup>a</sup> ± 0,005	0,10 <sup>c</sup> ± 0,009	0,05 <sup>b</sup> ± 0,005	0,06 <sup>d</sup> ± 0,005
<b>C14:0</b>	0,38 <sup>a</sup> ± 0,030	0,34 <sup>c</sup> ± 0,023	0,23 <sup>b</sup> ± 0,018	0,23 <sup>d</sup> ± 0,017
<b>C14:1n-7</b>	0,05 <sup>a</sup> ± 0,004	0,05 <sup>c</sup> ± 0,004	0,03 <sup>b</sup> ± 0,002	0,02 <sup>d</sup> ± 0,002
<b>C15:0</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,003	0,04 <sup>c</sup> ± 0,002	0,04 <sup>b</sup> ± 0,003	0,04 <sup>d</sup> ± 0,003
<b>C16:0</b>	6,12 <sup>a</sup> ± 0,312	6,93 <sup>c</sup> ± 0,553	7,27 <sup>b</sup> ± 0,353	6,46 <sup>d</sup> ± 0,286
<b>C16:1n-7</b>	0,08 <sup>a</sup> ± 0,006	0,09 <sup>c</sup> ± 0,007	0,10 <sup>b</sup> ± 0,008	0,06 <sup>d</sup> ± 0,005
<b>C17:0</b>	0,09 <sup>a</sup> ± 0,008	0,06 <sup>c</sup> ± 0,004	0,08 <sup>b</sup> ± 0,006	0,07 <sup>d</sup> ± 0,005
<b>C18:0</b>	7,91 <sup>a</sup> ± 0,386	7,56 <sup>c</sup> ± 0,348	9,71 <sup>b</sup> ± 0,665	8,05 <sup>d</sup> ± 0,255
<b>C18:1-9t</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,004	0,07 <sup>c</sup> ± 0,005	0,06 <sup>a</sup> ± 0,004	0,08 <sup>d</sup> ± 0,004
<b>C18:1n-9</b>	7,32 <sup>a</sup> ± 0,523	8,06 <sup>c</sup> ± 0,602	9,49 <sup>b</sup> ± 0,492	8,42 <sup>c</sup> ± 0,349
<b>C18:2n-6</b>	0,59 <sup>a</sup> ± 0,047	0,67 <sup>c</sup> ± 0,057	0,82 <sup>b</sup> ± 0,052	0,76 <sup>d</sup> ± 0,034
<b>C20:0</b>	0,25 <sup>a</sup> ± 0,016	0,23 <sup>c</sup> ± 0,019	0,33 <sup>b</sup> ± 0,028	0,27 <sup>d</sup> ± 0,016
<b>C18:3n-3</b>	0,05 <sup>a</sup> ± 0,003	0,06 <sup>c</sup> ± 0,004	0,06 <sup>b</sup> ± 0,004	0,04 <sup>d</sup> ± 0,003
<b>C20:1n-9</b>	0,04 <sup>a</sup> ± 0,001	0,06 <sup>c</sup> ± 0,001	0,03 <sup>b</sup> ± 0,002	0,02 <sup>d</sup> ± 0,001
<b>C22:0</b>	0,05 <sup>a</sup> ± 0,004	0,05 <sup>c</sup> ± 0,004	0,06 <sup>a</sup> ± 0,005	0,05 <sup>d</sup> ± 0,003
<b>C24:0</b>	0,03 <sup>a</sup> ± 0,002	0,02 <sup>c</sup> ± 0,001	0,03 <sup>b</sup> ± 0,002	0,03 <sup>d</sup> ± 0,001
<b>Saturados</b>	14,85 <sup>a</sup> ± 0,517	15,48 <sup>c</sup> ± 0,910	18,15 <sup>b</sup> ± 0,875	15,41 <sup>c</sup> ± 0,698
<b>Monoinsaturados</b>	7,46 <sup>a</sup> ± 0,554	8,25 <sup>c</sup> ± 0,625	9,62 <sup>b</sup> ± 0,477	8,59 <sup>c</sup> ± 0,542
<b>Polinsaturados</b>	0,63 <sup>a</sup> ± 0,057	0,70 <sup>c</sup> ± 0,061	0,87 <sup>b</sup> ± 0,058	0,82 <sup>d</sup> ± 0,054
<b>Trans</b>	0,06 <sup>a</sup> ± 0,004	0,07 <sup>c</sup> ± 0,005	0,06 <sup>a</sup> ± 0,004	0,08 <sup>d</sup> ± 0,007
<b>n-6</b>	0,59 <sup>a</sup> ± 0,044	0,68 <sup>c</sup> ± 0,054	0,82 <sup>b</sup> ± 0,052	0,75 <sup>d</sup> ± 0,036
<b>n-3</b>	0,05 <sup>a</sup> ± 0,004	0,06 <sup>c</sup> ± 0,006	0,06 <sup>b</sup> ± 0,004	0,04 <sup>d</sup> ± 0,002

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.



(a) *A diet* X *A normal*



(b) *B diet* X *B normal*

**Figura 12. Gráfico do comportamento de ácidos graxos entre chocolate *diet* X chocolate normal. (a) *A diet* X *A normal*. (b) *B diet* X *B normal*.**

Na tabela 15 são apresentadas as concentrações dos ácidos graxos nas amostras de chocolates brancos das marcas C, D e E. Dentre os ácidos graxos saturados destacaram-se os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), variando de 5,15 (E) a 6,95g(C) e 6,90 (E) a 8,82(C) g/100g de chocolate, respectivamente.

Entre os ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com quantidades que variaram de 7,04(E) a 8,90 (C) g/100g de chocolate. As quantidades de ácidos graxos polinsaturados variaram de 0,63 g (E) a 0,85 g (C), com destaque para o ácido linoléico (18:2n-6).

O ácido graxo *trans* identificado e quantificado foi o ácido elaídico (18:1-9t), e suas quantidades nas amostras variaram de 70 mg (E) a 190 mg (C) por 100g de chocolate. Valores maiores que o dos encontrados nos chocolates pretos.

O chocolate branco que apresentou maiores quantidades de ácidos graxos foi o chocolate de marca C com 17,16 g de ácidos graxos saturados, 8,90g de ácidos graxos monoinsaturados e 0,85 g de ácidos graxos polinsaturados por 100 g de chocolate. A marca E apresentou as menores quantidades de ácidos graxos totais, sendo recomendado como o melhor chocolate, dentre chocolates brancos.

Dentre os 10 chocolates analisados, os 5 pretos normais (A, B, C, D e E), 2 pretos diets (A e B) e os 3 brancos (C, D e E), o chocolate preto normal da marca C é o mais saudável em relação ao teor de lipídios e ao teor de ácidos graxos saturados.

**Tabela 15. Perfil de ácidos graxos em chocolates brancos (g/100g de chocolate).**

<b>Marcas de chocolates normais brancos (g/100g de chocolate)</b>			
<b>Ácidos graxos</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>
<b>C4:0</b>	0,15 <sup>c</sup> ±0,010	0,18 <sup>d</sup> ±0,014	0,24 <sup>e</sup> ±0,024
<b>C6:0</b>	0,06 <sup>cd</sup> ±0,004	0,05 <sup>cd</sup> ±0,004	0,23 <sup>e</sup> ±0,016
<b>C8:0</b>	0,06 <sup>cd</sup> ±0,005	0,06 <sup>cd</sup> ±0,004	nd
<b>C10:0</b>	0,11 <sup>cd</sup> ±0,008	0,11 <sup>cd</sup> ±0,009	0,03 <sup>e</sup> ±0,002
<b>C12:0</b>	0,13 <sup>cd</sup> ±0,009	0,13 <sup>cd</sup> ±0,009	0,05 <sup>e</sup> ±0,004
<b>C14:0</b>	0,51 <sup>c</sup> ±0,034	0,43 <sup>d</sup> ±0,036	0,21 <sup>e</sup> ±0,016
<b>C14:1n-7</b>	0,07 <sup>c</sup> ±0,004	0,06 <sup>d</sup> ±0,005	0,02 <sup>e</sup> ±0,002
<b>C15:0</b>	0,07 <sup>c</sup> ±0,003	0,05 <sup>d</sup> ±0,004	0,03 <sup>e</sup> ±0,002
<b>C16:0</b>	6,95 <sup>c</sup> ±0,414	6,45 <sup>d</sup> ±0,396	5,15 <sup>e</sup> ±0,447
<b>C16:1n-7</b>	0,10 <sup>c</sup> ±0,006	0,09 <sup>d</sup> ±0,005	0,07 <sup>e</sup> ±0,006
<b>C17:0</b>	0,12 <sup>c</sup> ±0,010	0,08 <sup>d</sup> ±0,006	0,06 <sup>e</sup> ±0,004
<b>C18:0</b>	8,82 <sup>c</sup> ±0,447	7,66 <sup>d</sup> ±0,380	6,90 <sup>e</sup> ±0,440
<b>C18:1-9t</b>	0,19 <sup>c</sup> ±0,004	0,12 <sup>d</sup> ±0,007	0,07 <sup>e</sup> ±0,005
<b>C18:1n-9</b>	8,90 <sup>c</sup> ±0,400	7,98 <sup>d</sup> ±0,541	7,04 <sup>e</sup> ±0,545
<b>C18:2n-6</b>	0,77 <sup>c</sup> ±0,061	0,66 <sup>d</sup> ±0,035	0,59 <sup>e</sup> ±0,041
<b>C20:0</b>	0,27 <sup>cde</sup> ±0,013	0,26 <sup>cde</sup> ±0,022	0,25 <sup>cde</sup> ±0,020
<b>C18:3n-3</b>	0,08 <sup>c</sup> ±0,005	0,06 <sup>d</sup> ±0,006	0,04 <sup>e</sup> ±0,003
<b>C20:1n-9</b>	nd	nd	0,02 <sup>e</sup> ±0,001
<b>C22:0</b>	0,06 <sup>c</sup> ±0,006	0,05 <sup>de</sup> ±0,004	0,05 <sup>de</sup> ±0,003
<b>C24:0</b>	0,05 <sup>c</sup> ±0,004	0,02 <sup>de</sup> ±0,002	0,02 <sup>de</sup> ±0,002
<b>Saturados</b>	17,16 <sup>c</sup> ±0,979	15,25 <sup>d</sup> ±0,927	12,74 <sup>e</sup> ±0,812
<b>Monoinsaturados</b>	9,14 <sup>c</sup> ±0,661	7,88 <sup>de</sup> ±0,635	7,31 <sup>de</sup> ±0,592
<b>Polinsaturados</b>	0,85 <sup>c</sup> ±0,065	0,71 <sup>d</sup> ±0,036	0,63 <sup>e</sup> ±0,045
<b>Trans</b>	0,20 <sup>c</sup> ±0,017	0,12 <sup>d</sup> ±0,007	0,07 <sup>e</sup> ±0,005
<b>n-6</b>	0,78 <sup>c</sup> ±0,062	0,66 <sup>d</sup> ±0,035	0,59 <sup>e</sup> ±0,041
<b>n-3</b>	0,08 <sup>c</sup> ±0,006	0,06 <sup>d</sup> ±0,005	0,04 <sup>e</sup> ±0,003

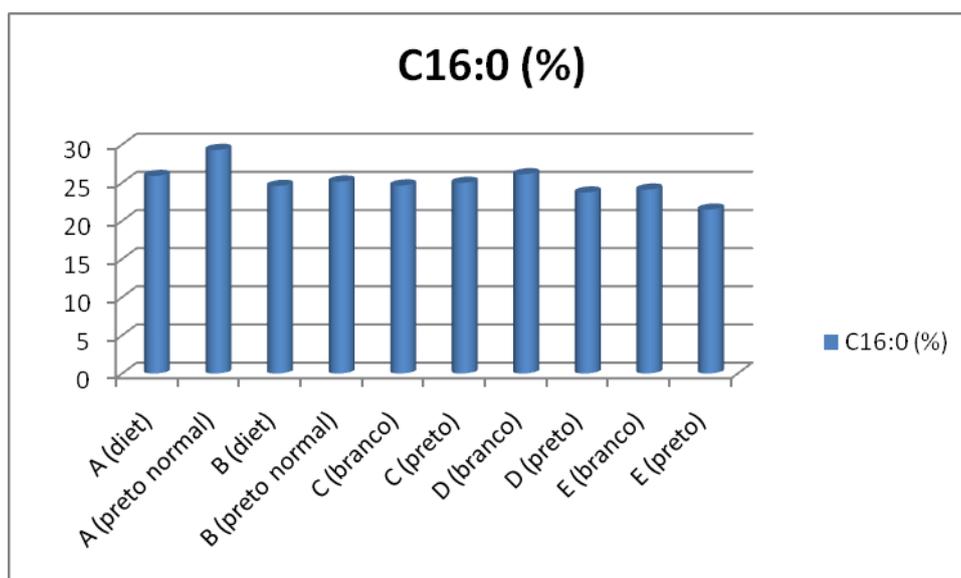
Resultados expressos como Média ± Desvio padrão das análises em triplicata de cinco diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

Estudos realizados por Minim e Cecchi (1998), demonstraram que certos ácidos graxos saturados (AGS) não estão presentes na manteiga de cacau e sim são característicos da gordura do leite. Nas amostras chocolate normais e *diets* analisadas, obteve-se AGS com concentrações próximas dos valores encontrados por Minim e Cecchi (1998). A tabela 16 demonstra os ácidos graxos que mais se aproximaram com as características do leite em pó.

**Tabela 16. Ácidos graxos saturados (AGS) encontrados por Minim e Cecchi (1998), chocolates pretos das marcas A e E (mg/g de lipídios).**

<b>AG</b>	<b>Minim e Cecchi (1998) (mg/g)</b>	<b>A (normal - preto) (mg/g)</b>	<b>E (normal- preto) (mg/g)</b>
C6:0	3,40	-	3,51
C8:0	1,80	1,63	-
C10:0	3,80	3,23	3,85
C12:0	4,10	3,63	-
C15:0	1,40	1,61	1,34

Segundo Grimald, Gonçalves e Esteves (2000), para amostras de chocolate com teores acima de 20% de ácido palmítico existe um forte indício da presença de óleo de palma e/ou algodão. Nas amostras de marca A e B tanto normal preto e o *diet* (tabela 14), e para as amostras de marca C, D e E, (tabelas 13 e 15), os valores encontrados para o ácido palmítico (16:0) foram iguais ou superiores a 20% (figura 13).

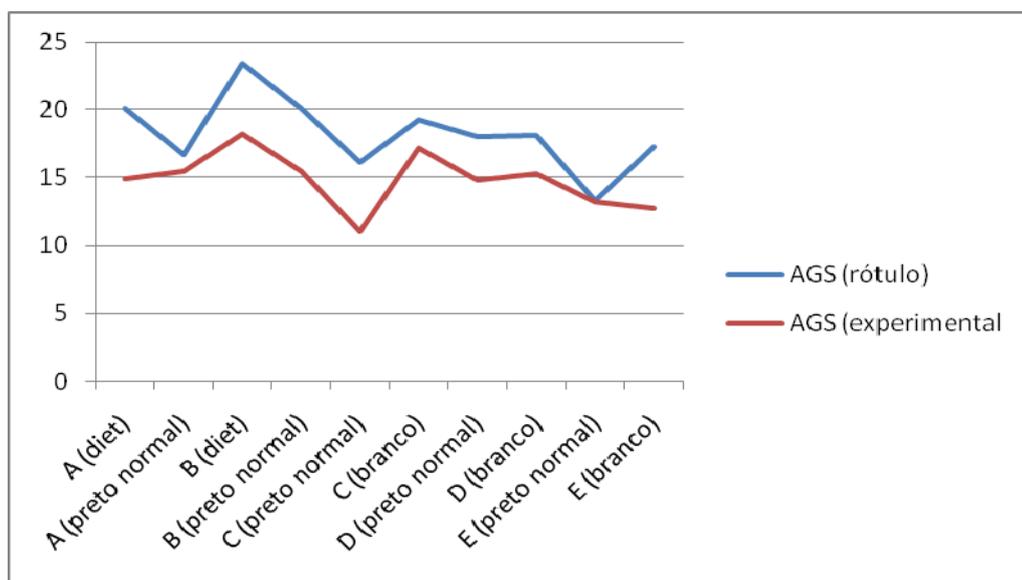


**Figura 13. Valores de 16:0 para os chocolates normal, *diet* e branco das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).**

A legislação brasileira, como a da maioria dos países, proíbe a adição de gorduras (coco, algodão, palma e soja). Em alguns países como a Inglaterra, Irlanda, Dinamarca e Japão, a substituição da manteiga de cacau é permitida por até 5% da massa total de chocolate ou 15% da massa total de gordura do chocolate pela gordura equivalente a manteiga de cacau (Minim, Cecchi e Minin, 1999).

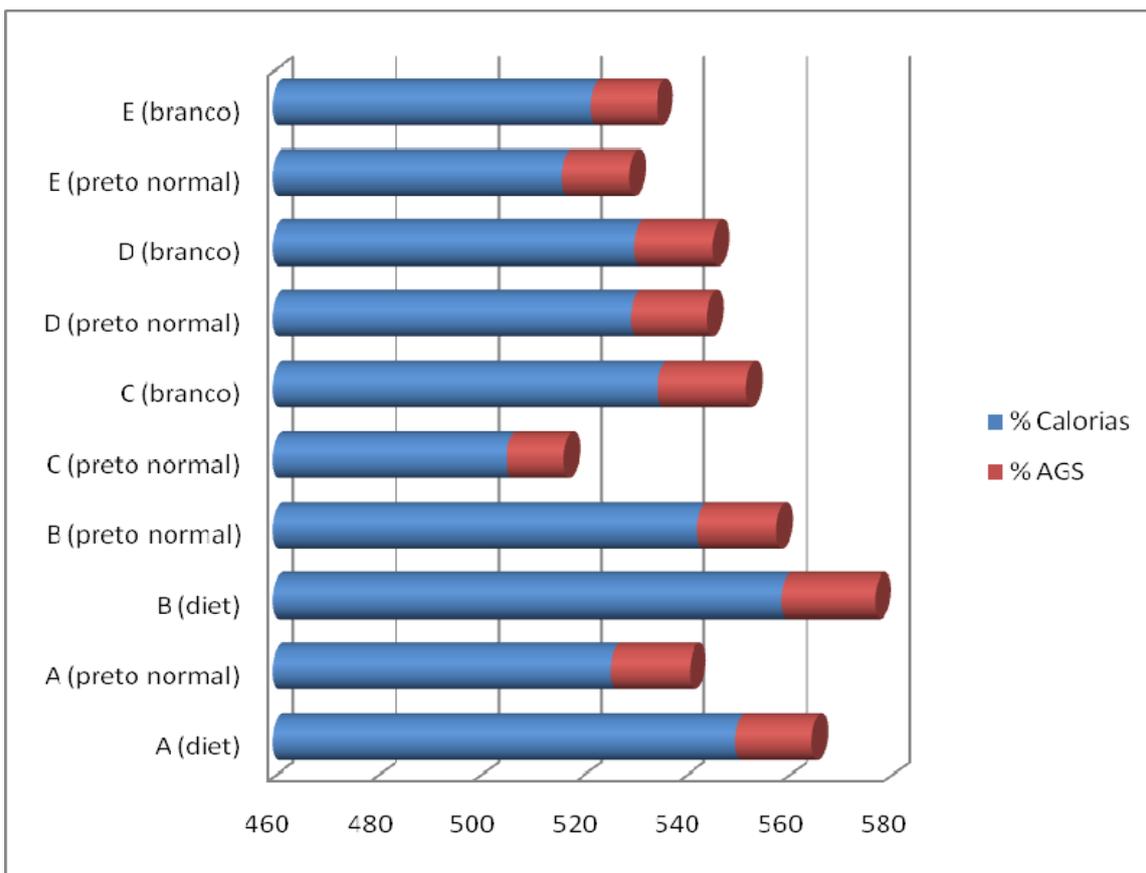
Esta substituição pode acontecer devido aos altos preços alcançados pelo cacau e seus derivados. Há muito tempo tem sido feito nos produtos de chocolate a substituição, total ou parcial, da manteiga de cacau por substitutos similares. O uso de sucedâneos depende das similaridades com as propriedades físico-químicas e funcionais da manteiga de cacau pura, e que quando misturados com ela, não formem misturas eutéticas, que baixem o ponto de fusão do produto. Todas estas gorduras compõem-se de triacilgliceróis, isto é, estruturalmente falando, o álcool glicerol triesterificado com ácidos graxos (Minim e Cecchi, 1998).

A Figura 14 representa a informação nutricional do rótulo do conteúdo de AGS para 100g de chocolate das marcas A, B, C, D e E. Todos os valores obtidos para os AGS foram inferiores aos descritos nos rótulos nutricionais. As quantidades de AGS presente nas amostras estavam dentro do limite permitido pela legislação brasileira. A condição do produto para consumo de gorduras saturadas é de que a energia fornecida por gorduras saturadas seja no máximo de 10% do valor de energia total (Brasil, 1998).



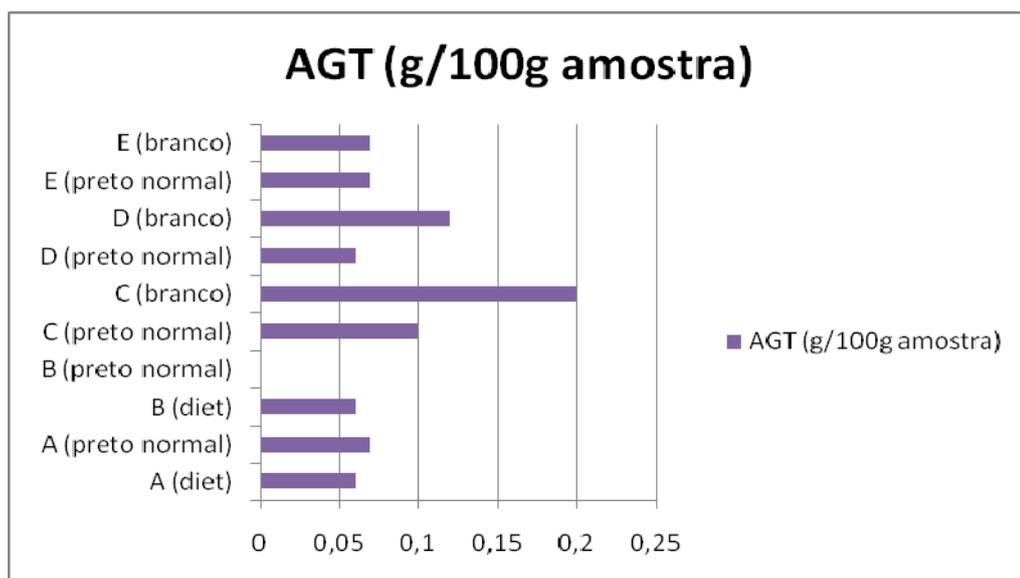
**Figura 14. Valores de AGS obtidos experimentalmente e os descritos nos rótulos nutricionais para os chocolates normais, *diets* e brancos das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).**

A figura 15 mostra um gráfico relacionado à percentagem de calorias como gorduras saturadas em relação às marcas.



**Figura 15. Percentagens de calorias com AGS obtidos experimentalmente para os chocolates normais, *diets* e brancos das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).**

A Figura 16 mostra o perfil de AGT (18:1-9t) encontrados nos chocolates das marcas A, B, C, D e E, sendo que o chocolate que apresentou maior concentração deste AGT foi o chocolate branco da marca C (0,20 g/100g de chocolate).



**Figura 16. Valores de AGT (18:1-9t) para os chocolates normal, *diet* e branco das diferentes marcas, A, B, C, D e E (g/100g de chocolate).**

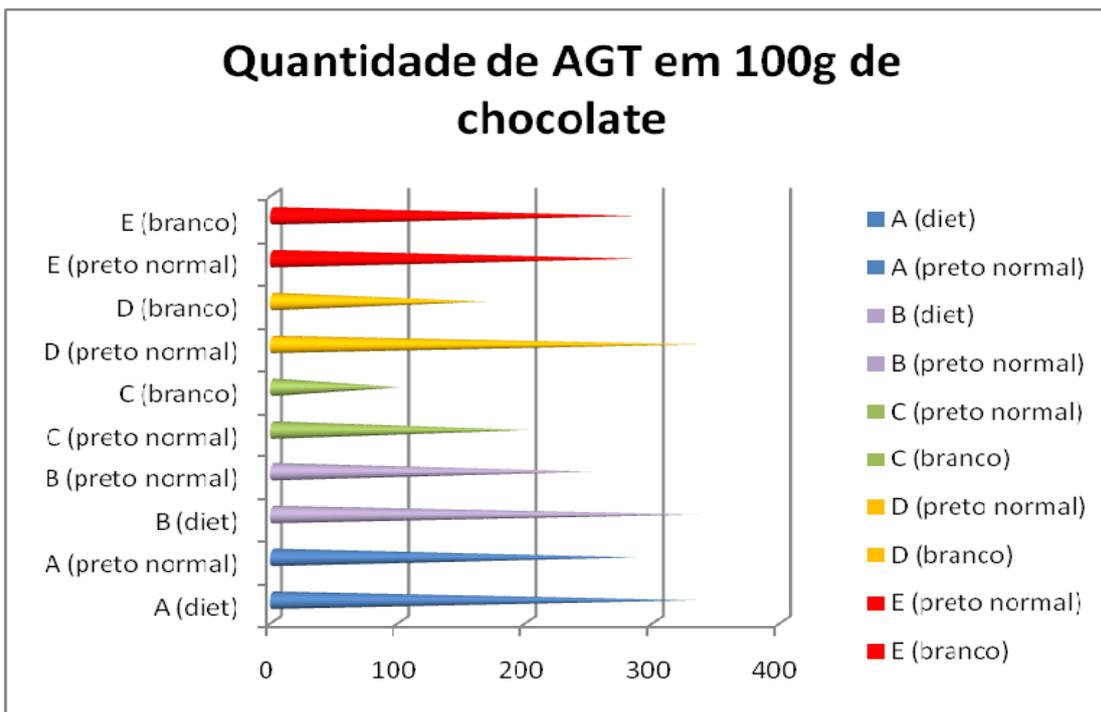
Os rótulos nutricionais dos produtos analisados de marcas A, B, C e D, não apresentavam os teores de ácidos graxos *trans*, entretanto, as amostras de marca E informavam que o produto continha 0g de gorduras *trans*. O limite de ingestão diário de gorduras *trans* recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) é de 1% das calorias diárias ingeridas o que equivale ao consumo de aproximadamente 2,00 g de gordura, numa dieta de 2.000 Cal (WHO, 2003), ou seja, são considerados como zero *trans* os alimentos que apresentarem teor de gorduras *trans* menor ou igual a 0,2 g/porção (Ribeiro *et al.*, 2007).

Desde 1995, a Organização Mundial da Saúde tem recomendado a ingestão moderada deste tipo de gordura, para a prevenção e tratamento de doenças coronarianas. A partir de julho/2006 há a obrigatoriedade da presença das concentrações de AGT nos rótulos dos alimentos industrializados. No Brasil, uma portaria do Ministério da Saúde, datada de 17/10/1997, estabelece que a quantidade desses ácidos nos produtos devem ser computadas como AGS, permanecendo desconhecidos os teores específicos de AGT. Em 1999, a

Food and Drug Administration (FDA) sugeriu que a quantidade de AGT, fosse incluída em rótulos de produtos, recomendando, quando computada em gorduras saturadas, a demarcação por símbolo informativo da quantidade específica de ácidos graxos trans (Chiara, Sichieri e Carvalho, 2003; Ribeiro *et al.*, 2007). Entretanto, a Resolução RDC n° 360, de 23/12/2003, harmonizada no Mercosul, obriga a declaração dos AGT na rotulagem nutricional dos alimentos. As empresas tiveram prazo até 21/07/2006 para adequação, devendo o teor de gordura *trans* ser declarado em relação à porção harmonizada para um determinado alimento, em conjunto com as declarações para gorduras totais e saturadas. As amostras analisadas não cumpriram as exigências prescritas por lei em relação a prescrever a quantidade de ácidos graxos trans existentes.

Além disso, vale ressaltar a necessidade de disponibilizar frações oleosas diversificadas e com isenção de AGT para a adição ao chocolate, uma vez que a Resolução RDC n° 227 (28/08/2003) define como chocolate o produto contendo no mínimo 25% de sólidos totais de cacau, permitindo assim a adição de gorduras especiais a este produto, sem sua descaracterização (Ribeiro *et al.*, 2007).

A quantidade de ácidos graxos *trans* encontrados nas amostras analisadas estiveram abaixo e/ou igual ao limite permitido como mostrado nas tabelas 13, 14 e 15. Considerando os valores desses ácidos seria necessário ingerir 333,33 g de chocolate *diet* ou 285,71 g de chocolate normal preto (marca A); 333,33 g de chocolate *diet* ou 250,00 g de chocolate normal preto (marca B); 200,00 g de chocolate normal preto ou 100,00 g de chocolate branco (marca C); 333,33 g de chocolate normal preto ou 166,67 g de chocolate branco (marca D); 285,71 g de chocolate normal preto ou 285,71 g de chocolate branco (marca E). A Figura 17 ilustra esses valores. Devido aos valores encontrados estarem no limite permitido os produtos podem informar em seus rótulos que a quantidade de ácidos graxos *trans* existentes nos chocolates é zero.



**Figura 17. Quantidade permitida nas amostras (gramas) de chocolates normais preto, branco e *diet*, seguindo as normas recomendada, teor de gorduras *trans* menor ou igual a 0,2 g/porção.**

### 5.2.2- Identificação e quantificação dos ácidos graxos dos produtos contendo chocolate

A tabela 17 mostra as concentrações dos ácidos graxos em mg/100g nas amostras de achocolatados em pó na forma normal e *light* das marcas N e T. Dos ácidos graxos saturados, destacaram-se os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), variando de 250,00 (T normal) a 580,00 mg (N *light*) e 280,00 (T normal) a 740,00 (N *light*) mg/100g de achocolatado em pó, respectivamente. Mostrando claramente que os achocolatados comercializados nas formas *lights*, apresentam quase o dobro da concentração dos ácidos graxos saturados em relação às formas normais. Estes resultados

indicam que os achocolatados normais são mais recomendados em relação de gordura saturada do que os achocolatados *lights*.

Entre os ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com quantidades que variaram de 320,00 (T normal) a 750,00 (N *light*) mg/100g de chocolate. A quantidade de ácidos graxos polinsaturados variou de 230,00 mg (T normal) a 360,00 mg (T *light*), com destaque para o ácido linoléico (18:2n-6).

Não foram identificados ácidos graxos *trans* nas amostras de achocolatados em pó de marcas N e T nas formas normais e *lights*. Estando, portanto coerente com o descrito nos rótulos dos achocolatados analisados. No rótulo do achocolatado de marca N descrevia que não continha ácidos graxos *trans*, e, para o achocolatado de marca T o rótulo nutricional apresentava o valor de zero *trans*.

Os achocolatados em pó que apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos foram os achocolatados de marcas N e T da forma *light*, 1410,00 (N *light*) e 1110,00 mg (T *light*) de ácidos graxos saturados, 440,00 (N *light*) e 320,00 mg (T *light*) de ácidos graxos monoinsaturados e 330,00 (N *light*) e 360,00 mg (T *light*) de ácidos graxos polinsaturados por 100g de achocolatado em pó. A marca que apresentou menores quantidades de ácidos graxos totais, sendo recomendado como o melhor achocolatado dentre as marcas N e T normais e *lights*, foi o achocolatado de marca T normal, seguido pela marca N normal.

**Tabela 17. Perfil de ácidos graxos em achocolatados em pó normais e lights (mg/100g de amostra).**

Ácidos graxos	Marcas de achocolatados (mg/100g de amostra)			
	N		T	
	light	normal	light	normal
<b>C4:0</b>	20,00 <sup>a</sup> ±1,000	3,75 <sup>c</sup> ±0,203	10,00 <sup>b</sup> ±1,000	10,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C6:0</b>	20,00 <sup>a</sup> ±1,000	2,46 <sup>c</sup> ±0,219	10,00 <sup>b</sup> ±1,000	10,00 <sup>d</sup> ±0,395
<b>C8:0</b>	nd	nd	nd	nd
<b>C10:0</b>	nd	nd	nd	nd
<b>C12:0</b>	nd	0,223 <sup>nd</sup> ±0,017	nd	nd
<b>C14:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,271	1,17 <sup>c</sup> ±0,090	2,51 <sup>b</sup> ±0,185	1,34 <sup>d</sup> ±0,109
<b>C14:1n-7</b>	nd	nd	nd	nd
<b>C15:0</b>	nd	0,415±0,030	nd	nd
<b>C16:0</b>	580,00 <sup>a</sup> ±38,00	330,00 <sup>c</sup> ±21,000	480,00 <sup>b</sup> ±30,000	250,00 <sup>d</sup> ±16,000
<b>C16:1n-7</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,469	2,52 <sup>c</sup> ±0,193	10,00 <sup>b</sup> ±0,445	2,35 <sup>c</sup> ±0,194
<b>C17:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,300	2,73 <sup>c</sup> ±0,200	4,50 <sup>b</sup> ±0,327	2,35 <sup>d</sup> ±0,180
<b>C18:0</b>	740,00 <sup>a</sup> ±35,00	390,00 <sup>c</sup> ±31,000	570,00 <sup>b</sup> ±38,000	280,00 <sup>d</sup> ±15,000
<b>C18:1-9t</b>	nd	nd	nd	nd
<b>C18:1n-9</b>	750,00 <sup>a</sup> ±35,00	440,00 <sup>c</sup> ±28,00	620,00 <sup>b</sup> ±34,000	320,00 <sup>d</sup> ±19,000
<b>C18:2n-6</b>	310,00 <sup>a</sup> ±15,00	240,00 <sup>c</sup> ±18,000	340,00 <sup>b</sup> ±27,000	220,00 <sup>d</sup> ±15,000
<b>C20:0</b>	20,00 <sup>a</sup> ±1,000	10,00 <sup>c</sup> ±1,000	20,00 <sup>b</sup> ±1,000	10,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C18:3n-3</b>	30,00 <sup>a</sup> ±2,000	20,00 <sup>c</sup> ±1,000	30,00 <sup>b</sup> ±3,000	20,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C20:1n-9</b>	nd	1,38±0,105	2,04 <sup>nd</sup> ±0,152	nd
<b>C22:0</b>	1,00 <sup>a</sup> ±1,000	4,52 <sup>c</sup> ±0,290	10,00 <sup>b</sup> ±1,000	3,78 <sup>d</sup> ±0,270
<b>C24:0</b>	nd	2,34±0,149	3,60±0,255	nd
<b>AGS</b>	1410 <sup>a</sup> ±87,00	750,00 <sup>c</sup> ±51,000	1110,00 <sup>b</sup> ±63,000	570,00 <sup>d</sup> ±44,000
<b>AGMI</b>	760,00 <sup>a</sup> ±50,00	430,00 <sup>c</sup> ±30,00	630,00 <sup>b</sup> ±32,000	320,00 <sup>d</sup> ±19,000
<b>AGPI</b>	330,00 <sup>a</sup> ±24,00	270,00 <sup>c</sup> ±19,00	360,00 <sup>b</sup> ±30,000	230,00 <sup>d</sup> ±18,000
<b>Trans</b>	nd	nd	nd	nd
<b>n-6</b>	310,00 <sup>a</sup> ±24,00	240,00 <sup>c</sup> ±17,000	340,00 <sup>b</sup> ±25,000	220,00 <sup>d</sup> ±15,000
<b>n-3</b>	30,00 <sup>a</sup> ±2,000	20,00 <sup>c</sup> ±1,000	30,00 <sup>b</sup> ±3,000	20,00 <sup>d</sup> ±1,000

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

Em relação aos produtos contendo chocolate, a tabela 18 mostra as concentrações dos ácidos graxos nas amostras de sorvetes de chocolate na forma normal e *light* de marca S. Dentre os ácidos graxos saturados, destacaram-se os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), com concentrações maiores para a forma normal, 2190,00 mg e 810,00 (S normal e *light*) mg/100g de sorvete, respectivamente.

Dos ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com quantidades que variaram de 500,00 (S *light*) a 2120,00 (S normal) mg/100g de sorvete. As quantidades de ácidos graxos polinsaturados variaram de 40,00 mg (S *light*) a 450,00 mg (S normal), tendo como destaque para o ácido linoléico (18:2n-6).

O ácido graxo *trans* identificado e quantificado foi o ácido elaídico (18:1-9t), e suas quantidades nas amostras variaram de 1,55mg(S *light*) a 10mg (S normal) por 100g de sorvete.

A presença de reduzidos teores de ácidos graxos de cadeia curta indica ausência de gordura láctea nas amostras de sorvetes, enquanto os teores de ácido oléico e o ácido elaídico apontam para o uso reduzido de gordura hidrogenada (Chiara, Sichieri e Carvalho, 2003). Os sorvetes da marca S normal e *light* apresentavam no rótulo nutricional a presença de gordura láctea, entretanto, somente para o sorvete de chocolate normal constava a gordura hidrogenada.

Entre os ácidos graxos *trans* resultantes do processo de hidrogenação prevalece o ácido elaídico. Considera-se o ácido elaídico o principal competidor do linoléico no metabolismo humano, principalmente quando a ingestão deste é reduzida. Além disso, a ação competitiva dos ácidos graxos *trans* com os polinsaturados podem referir-se sobre a redução do número de receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c), contribuindo para a elevação de seus níveis plasmáticos (Bolton et al., 1995).

Dos sorvetes analisados, o que apresentou maiores quantidades de ácidos graxos foi o sorvete na forma normal, sendo 3140,00 mg de ácidos graxos saturados, 2160,00 mg de ácidos graxos monoinsaturados e 450,00 mg de

ácidos graxos polinsaturados por 100g de sorvete. Logo, o sorvete recomendado da marca S é o sorvete *light* por apresentar menores quantidades de ácidos graxos, principalmente saturados e um teor de lipídios muito inferior ao sorvete normal.

**Tabela 18. Perfil de ácidos graxos em sorvete normal e *light* (mg/100g de amostra).**

Ácidos graxos	Marca de sorvete (mg/100g de amostra)	
	S	
	<i>light</i>	normal
<b>C4:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,800	20,00 <sup>b</sup> ±2,000
<b>C6:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,065	20,00 <sup>b</sup> ±2,000
<b>C8:0</b>	0,797 ±0,064	nd
<b>C10:0</b>	1,61 <sup>a</sup> ±0,125	1,93 <sup>b</sup> ±0,155
<b>C12:0</b>	2,68 <sup>a</sup> ±0,132	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>C14:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±1,000	50,00 <sup>b</sup> ±4,000
<b>C14:1n-7</b>	1,23 <sup>nd</sup> ±0,069	nd
<b>C15:0</b>	1,99 <sup>a</sup> ±0,147	3,47 <sup>b</sup> ±0,296
<b>C16:0</b>	450,00 <sup>a</sup> ±25,000	2190,00 <sup>b</sup> ±165,00
<b>C16:1n-7</b>	4,90 <sup>a</sup> ±0,116	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>C17:0</b>	4,86 <sup>a</sup> ±0,361	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>C18:0</b>	810,00 <sup>a</sup> ±45,000	810,00 <sup>a</sup> ±48,000
<b>C18:1-9t</b>	1,55 <sup>a</sup> ±0,136	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>C18:1n-9</b>	500,00 <sup>a</sup> ±44,000	2120,00 <sup>b</sup> ±148,000
<b>C18:2n-6</b>	10,00 <sup>a</sup> ±3,000	440,00 <sup>b</sup> ±36,000
<b>C20:0</b>	20,00 <sup>a</sup> ±1,000	30,00 <sup>b</sup> ±3,000
<b>C18:3n-3</b>	2,31 <sup>a</sup> ±3,150	10,00 <sup>b</sup> ±0,391
<b>C20:1n-9</b>	1,30 <sup>a</sup> ±0,129	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>C22:0</b>	4,78 <sup>a</sup> ±0,268	10,00 <sup>b</sup> ±0,472
<b>C24:0</b>	2,42 <sup>a</sup> ±0,187	4,98 <sup>b</sup> ±0,349
<b>AGS</b>	1280,00 <sup>a</sup> ±100,000	3140,00 <sup>b</sup> ±229,000
<b>AGMI</b>	500,00 <sup>a</sup> ±44,000	2160,00 <sup>b</sup> ±158,00
<b>AGPI</b>	40,00 <sup>a</sup> ±3,000	450,00 <sup>b</sup> ±36,000
<b>Trans</b>	1,55 <sup>a</sup> ±0,163	10,00 <sup>b</sup> ±1,000
<b>n-6</b>	40,00 <sup>a</sup> ±3,000	440,00 <sup>b</sup> ±34,000
<b>n-3</b>	2,31 <sup>a</sup> ±0,150	10,00 <sup>b</sup> ±0,348

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

Na tabela 19 são encontrados os resultados obtidos para as concentrações dos ácidos graxos nas amostras de bebidas contendo chocolate (achocolatado líquido) nas formas normais e *lights* das marcas K e L. Dentre os ácidos graxos saturados, destacaram-se os ácidos palmítico (16:0), esteárico (18:0), variando de 50,00 (L *light*) a 670,00 mg (L normal) e 30,00 (L *light*) a 260,00 mg (K normal) mg/100g de bebida, respectivamente.

Dos ácidos graxos monoinsaturados, destaca-se o ácido oléico (18:1n-9), com quantidades que variaram de 40,00 (L *light*) a 580,00 (L e K normal) mg/100g de bebida. As quantidades de ácidos graxos polinsaturados variaram de 10,00 mg (L e K *light*) a 300,00 mg (K normal), tendo como destaque o ácido linoléico (18:2n-6).

Os ácidos graxos *trans* identificados e quantificados foram o ácido elaídico (18:1-9t) e o CLA, (C18:2c9t11), variando de 4,13 (L *light*) a 80 mg (K normal) e 1,07 (L *light*) a 10,00 mg (K normal) por 100g de bebida, respectivamente.

As bebidas achocolatadas normais apresentaram maiores quantidades de ácidos graxos saturados e maiores teores de lipídios totais, contudo, foi obedecida para estas bebidas uma melhor relação AGPI/AGS (0,30) do que para as bebidas nas formas *lights* (0,04 e 0,10), sendo que o Department of Health and Social Security (1984), da Inglaterra, descreve que a razão de AGPI/AGS inferior a 0,45 constitui uma dieta pouco saudável, especialmente em relação às doenças cardiovasculares.

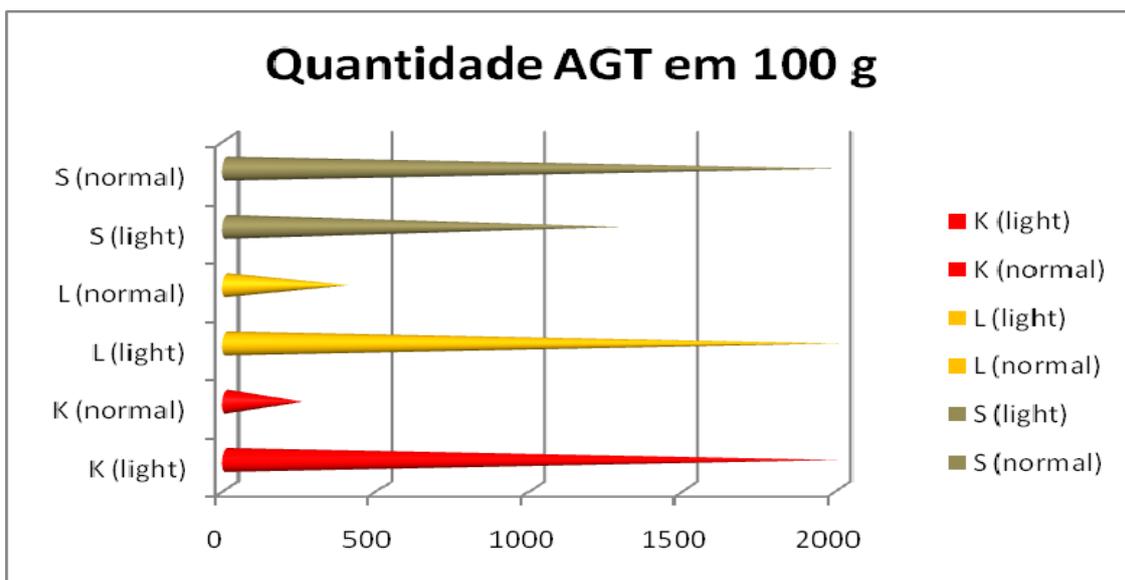
**Tabela 19. Perfil de ácidos graxos em bebidas achocolatadas normais e *lights* (mg/100g de amostra).**

Ácidos graxos	Marcas de bebidas achocolatadas (mg/100g de amostra)			
	K		L	
	<i>light</i>	normal	<i>light</i>	normal
<b>C4:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,097	30,00 <sup>c</sup> ±1,000	10,00 <sup>b</sup> ±1,215	40,00 <sup>d</sup> ±3,000
<b>C6:0</b>	3,18 <sup>a</sup> ±0,253	10,00 <sup>c</sup> ±0,508	0,53 <sup>b</sup> ±0,045	3,43 <sup>d</sup> ±0,198
<b>C8:0</b>	2,10 <sup>a</sup> ±0,1395	nd	0,63 <sup>b</sup> ±0,038	3,03±0,236
<b>C10:0</b>	4,70 <sup>a</sup> ±0,361	10,00 <sup>c</sup> ±1,208	1,87 <sup>b</sup> ±0,109	10,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C12:0</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,497	20,00 <sup>c</sup> ±1,513	2,48 <sup>b</sup> ±0,2188	10,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C14:0</b>	30,00 <sup>a</sup> ±1,835	90,00 <sup>c</sup> ±10,00	10,00 <sup>b</sup> ±0,615	50,00 <sup>d</sup> ±5,000
<b>C14:1n-7</b>	4,30 <sup>a</sup> ±0,351	10,00 <sup>c</sup> ±0,747	0,84 <sup>b</sup> ±0,057	4,85 <sup>d</sup> ±0,303
<b>C15:0</b>	3,43 <sup>a</sup> ±0,241	10,00 <sup>c</sup> ±0,817	1,05 <sup>b</sup> ±0,079	10,00 <sup>d</sup> ±0,399
<b>C16:0</b>	110,00 <sup>a</sup> ±10,000	440,00 <sup>c</sup> ±30,00	50,00 <sup>b</sup> ±4,047	670,00 <sup>d</sup> ±49,300
<b>C16:1n-7</b>	4,24 <sup>a</sup> ±0,273	20,00 <sup>c</sup> ±1,232	1,71 <sup>b</sup> ±0,096	10,00 <sup>d</sup> ±1,000
<b>C17:0</b>	3,16 <sup>a</sup> ±0,229	10,00 <sup>c</sup> ±0,903	1,15 <sup>b</sup> ±0,105	10,00 <sup>d</sup> ±0,394
<b>C18:0</b>	70,00 <sup>a</sup> ±3,982	260,00 <sup>c</sup> ±20,000	30,00 <sup>b</sup> ±3,256	170,00 <sup>d</sup> ±14,000
<b>C18:1-9t</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,599	80,00 <sup>c</sup> ±4,380	4,13 <sup>b</sup> ±0,313	50,00 <sup>d</sup> ±2,000
<b>C18:1n-9</b>	80,00 <sup>a</sup> ±4,256	580,00 <sup>c</sup> ±30,000	40,00 <sup>b</sup> ±2,228	540,00 <sup>c</sup> ±32,000
<b>C18:2n-6</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,481	270,00 <sup>c</sup> ±20,000	3,99 <sup>b</sup> ±0,298	260,00 <sup>c</sup> ±19,00
<b>C20:0</b>	1,52 <sup>a</sup> ±0,130	10,00 <sup>c</sup> ±0,583	1,08 <sup>b</sup> ±0,094	10,00 <sup>c</sup> ±0,497
<b>C18:3n-3</b>	1,51 <sup>a</sup> ±0,009	20,00 <sup>c</sup> ±0,833	0,411 <sup>b</sup> ±0,036	4,21 <sup>d</sup> ±0,305
<b>C20:1n-9</b>	nd	10,00±0,390	nd	nd
<b>C22:0</b>	nd	10,00±0,464	nd	nd
<b>C18:2c9t11</b>	3,17 <sup>a</sup> ±0,223	10,00 <sup>c</sup> ±0,497	1,07 <sup>b</sup> ±0,097	4,05±194
<b>C24:0</b>	nd	nd	nd	nd
<b>saturados</b>	240,00 <sup>a</sup> ±20,000	880,00 <sup>c</sup> ±60,000	100,00 <sup>b</sup> ±10,00	970,00 <sup>d</sup> ±69,00
<b>monoinsaturados</b>	90,00 <sup>a</sup> ±10,000	590,00 <sup>c</sup> ±30,00	50,00 <sup>b</sup> ±3,464	570,00 <sup>c</sup> ±35,00
<b>poliinsaturados</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,606	300,00 <sup>c</sup> ±10,000	10,00 <sup>b</sup> ±0,381	260,00 <sup>d</sup> ±21,000
<b>trans</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,896	80,00 <sup>c</sup> ±4,762	10,00 <sup>b</sup> ±0,379	50,00 <sup>d</sup> ±3,000
<b>n-6</b>	10,00 <sup>a</sup> ±0,470	270,00 <sup>c</sup> ±20,00	4,41 <sup>b</sup> ±0,376	260,00 <sup>c</sup> ±18,000
<b>n-3</b>	1,51 <sup>a</sup> ±0,095	20,00 <sup>c</sup> ±1,394	0,411 <sup>b</sup> ±0,036	4,21 <sup>d</sup> ±0,305

Resultados expressos como Média ± Desvio padrão de análises em triplicata de 5 diferentes lotes (n=15). Letras diferentes em uma mesma linha indicam diferença significativa pelo teste Tukey em nível de 5% de confiança.

Como já foi mencionado o limite de ingestão diário de gorduras *trans* recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e levando em consideração este fato, a quantidade de ácidos graxos *trans* encontrados nas amostras analisadas estiveram abaixo ao limite permitido como mostrado nas tabelas 17, 18 e 19. Os achocolatados (Tabela 17) de marcas N e T normal e *light* não apresentaram AGT em sua composição.

Considerando as recomendações da OMS, seria necessário ingerir 2,00 Kg de sorvete da marca S normal e 1,29 Kg de sorvete da marca S *light* para atingir o limite permitido (0,2g/porção). Para as bebidas achocolatadas *light* e normal da marca K seria necessário ingerir 2,00 Kg e 250 g, respectivamente, Enquanto que, para a bebida achocolatada de marca L *light* e normal seria permitido ingerir no máximo 20,0 Kg e 400 g, respectivamente. Estes dados são mostrados na Figura 18.



**Figura 18. Perfil dos AGT nas amostras (gramas) de produtos contendo chocolate de marcas diferentes na forma normal e *light* (g/100g de amostra).**

Em razão dos valores encontrados estarem no limite permitido para os produtos contendo chocolate, os rótulos podem informar que a quantidade de ácidos graxos *trans* existentes nos produtos é zero.

Entretanto, mesmo estando dentro dos limites permitidos, a quantidade destes alimentos consumidos pela população pode superar estes valores, sendo necessário considerar outras fontes de AGT na alimentação, pois dietas ricas em AGT aumentam a concentração plasmática da LDL, de maneira similar aos ácidos graxos saturados, diminuem a concentração sanguínea de HDL e encontram-se mais associados às doenças cardiovasculares, quando comparadas a dietas à base de ácidos graxos saturados (Silva *et al.*, 2005; Martin, Matshushita e Souza, 2004; Aued-Pimentel *et al.*, 2003; Sanibal e Mancini-Filho, 2004; Wagner, Auer e Elmادfa, 2000). Os efeitos metabólicos dos ácidos graxos *trans* ainda são poucos conhecidos, sabe-se que estes ácidos graxos são absorvidos e incorporados aos tecidos, ligando-se às membranas nas posições frequentemente ocupadas por AGS (Silva *et al.*, 2005).

Evidências científicas relacionadas ao impacto negativo dos AGT na saúde tem fornecido subsídios para que o consumo de gordura parcialmente hidrogenada seja minimizado. O processo de interesterificação tem sido usado para aumentar o ponto de fusão das gorduras sem afetar o grau de saturação em níveis significativos. Possíveis alternativas seriam a otimização dos parâmetros de hidrogenação ou a elaboração de misturas de gorduras sólidas e líquidas para atingir as características funcionais desejadas (Aued-Pimentel *et al.*, 2003).

### **5.3. Análise da amostra certificada**

Foi utilizado material de referência certificado (leite em pó) para confirmação da exatidão do método de quantificação utilizado. Os lipídios da amostra certificada foram extraídos através do mesmo método utilizado para as

amostras reais, sendo então esterificada de forma semelhante àquela realizada para as amostras.

Como pode ser verificado na tabela 20, a recuperação pode ser considerada quantitativa (>80%) para os ácidos graxos analisados. Assim, o método utilizado neste trabalho pode ser aplicado em amostras comerciais para quantificação de ácidos graxos.

**Tabela 20. Análise da amostra certificada.**

Ácido Graxo	Valores experimentais (%)	Valores teóricos* (%)	%recuperação
4:0	4,97±0,44	4,84	102,85
10:0	3,58±0,19	3,29	108,86
12:0	3,89±0,07	3,80	102,23
14:0	12,48±0,06	12,77	97,71
14:1n-9	1,11±0,01	1,03	107,23
15:0	1,30±0,01	1,42	91,34
16:0	31,67±0,50	33,38	94,88
16:1n-9	1,16±0,06	1,41	82,54
17:0	0,85±0,01	0,90	94,79
18:0	11,35±0,35	11,78	96,27
18:1n-9	14,46±0,24	16,62	87,00
20:0	0,24±0,08	0,24	100,24

\* Valores obtidos da rotulagem da amostra certificada.

## 6. Conclusões

Os teores de lipídios totais encontrados para todas as marcas e tipos de chocolates foram inferiores aos descritos nos rótulos, entretanto, para achocolatados em pó, bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolate analisados foram superiores ou iguais aos constantes nos rótulos das embalagens e bebidas achocolatadas das mesmas marcas, os dietéticos e os *lights* apresentaram maiores teores de lipídios.

A redução mínima de 25% do valor calórico total para as bebidas achocolatadas de marca K e L e sorvete de marca S foi obedecida. Entretanto, para os achocolatados em pó essa redução (mínima de 25%) não atendeu a legislação vigente para a alegação de um produto *light*.

Os principais ácidos graxos encontrados em todos os chocolates e nos produtos contendo chocolate foram o palmítico, esteárico, oléico e linoléico.

O chocolate preto da marca B *diet*, é o menos recomendado em termos de gorduras saturadas e lipídios totais, mesmo comparados com as marcas de chocolates normais C, D e E.

Dentre os 10 chocolates analisados, os 5 pretos normais (A, B, C, D e E), 2 pretos diets (A e B) e os 3 brancos (C, D e E), o chocolate preto normal da marca C é o mais saudável em relação ao teor de lipídios e ao teor de ácidos graxos saturados.

O ácido graxo *trans* identificado e quantificado em todos os produtos analisados, com exceção do achocolatado em pó foi o ácido elaídico (18:1n-9t), e para as bebidas achocolatadas, também, o ácido linoléico conjugado (CLA), todavia, as concentrações encontradas sempre foram abaixo do limite permitido pela legislação brasileira.

## 7. Referências

Alberttyn, D. E.; Bannon, C. D.; Craske, J. D.; Hai, N. T.; O'Rourke, K. L.; Szonyi, C. "Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability I: Optimization of flame ionization detectors with respect to linearity". **Journal of Chromatography**, 247, 47-61, 1982.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução CNNPA nº 12, de 1978. Brasília. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12\\_78\\_chocolate.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_chocolate.htm). Acesso em: 23 agosto 2008.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria n.379, de 26 de abril de 1999. Disponível em: [www.anvisa.gov.br](http://www.anvisa.gov.br). Acesso em: 23 agosto 2008.

Arts, I. C. W; Hollman, P. C. H.; Kromhout, D. "Chocolate as a source of tea flavonoids". **The Lancet**, 354, 439-524, 1999.

Aued-Pimentel, S.; Caruso, M. F.; Cruz, J. M. M.; Kumagai, E. E.; Corrêa, D. U. O. "Ácidos Graxos Saturados Versus Ácidos Graxos Trans em Biscoitos". **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, 62, 131-137, 2003.

Aro, A.; Amaral, E.; Kesteloot, H.; Rimestad, A.; Thamm; van Poppel, G. "Trans fatty acids in french fries, soups, and snacks from 14 european countries: The TRANSFAIR study". **Journal of Food Composition and Analysis**, 11, 137-149, 1998.

- Azevedo, C. H; Gonçalves, L. A. G. “*Ir-cards x método AOACS 19-45 na quantificação de isômeros trans em gorduras hidrogenadas brasileiras*”. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2, 175-179, 1999.
- Backer, D. M.; Tomilins, K. I.; Gay, C. “*Survey of Ghanaian cocoa farmer fermentation practices and their influence on cocoa flavour*”. **Food Chemistry**, 51, 341-416, 1994.
- Bandioli, P. “*The preparation of fatty acid esters by means of catalytic reactions*”. **Topics in Catalysis**, 27, 77-88, 2004.
- Bochicchio, D.; Faet, V.; Marchetto, G.; Poletti, E.; Maranesi, M.; Mordenti, A. L.; Casa, G. D. “*Effect of Feeding Partially Hydrogenated Lard on Trans-fatty Acid Content of Muscle and Backfat of Heavy Pigs*”. **Meat Science**, 71, 651-656, 2005.
- Bannon, C. D.; Breen, G. J.; Craske, J. D.; Hai, N. T.; Harper, N. L.; O'Rourke, K. L. “*Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. III. Literature review of and investigations into the development of rapid procedures for the methoxide-catalysed methanol of fats and oils*”. **Journal of Chromatography**, 247, 71-89, 1982b.
- Basso, R.; Almeida-Gonçalves, I.; Mancini-Filho, J. “*Avaliação qualitativa dos ácidos graxos trans em gorduras vegetais hidrogenadas*”. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 33, 57-63, 1999.
- Beckett, S. T. “*Industrial chocolate manufacture and use*” 3<sup>a</sup> Ed., **Blacwell, Oxford, UK**, 1999.
- Beckett, S. T. “*The science of chocolate*”. **The Royal society of chemistry, Cambridge**, 2000.

Bolliger, S.; Goff, H. D.; Tharp, B. W. “*Correlation between colloidal properties of ice cream mix and ice cream*”. **International Dairy Journal**, 10, 303-309, 2000.

Bolton, S. C., Woodward, M., Fenton, S., McClusey, M. K., Brown, C. A. “*Trans Fatty acids in the Scottish diet – na assessment using a semi-quantitative food-frequency questionnaire*”. **British Journal of Nutrition**, 74, 661-670, 1995.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Resolução número 12/78 da Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Diário Oficial, Brasília, 24 de julho de 1978. Seção I, parte 1, p. 11499-11527. Aprova Normas Técnicas Especiais do Estado de São Paulo, Relativas a Alimentos (e Bebidas). Corrigidas pelo Comunicado número 37/80 da Divisão Nacional de Normas e Vigilância Sanitária de Alimentos.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Agricultura e do Abastecimento, Regulamento Técnico da identidade e qualidade de bebidas lácteas. DAS/SIPOA. Diário Oficial da União, Brasília n. 234, p.46-49, 08 de dezembro de 1999. Seção I.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Portaria número 27 da Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Diário Oficial, Brasília, 13 de janeiro de 1998. Aprova Regulamento Técnico Referente a Informação Nutricional Complementar – declarações Relacionadas ao Conteúdo de Nutrientes.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Área de Atuação. Alimentos. Legislação Específica da Área por Assunto. Regulamento Técnico por Assunto. Alimentos para fins Especiais. Portaria SVS/MS n.28, de janeiro de 1998. Disponível em <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=17213&Word=> Acesso em 28/08/2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 360 de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 26 de dez, p.33-34. Seção I.

Brondz, I. "*Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques*". **Analytica Chimica Acta**, 465, 1-37, 2002.

Cândido, L. M. B.; Campos, A. M. "*Alimentos para fins especiais: dietéticos*". Livraria Varela, p.423, 1996.

Capriles, V. D.; Arêas, J. A. G. "*Desenvolvimento de salgadinhos com teores reduzidos de gordura saturada e de ácidos graxos trans*". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 25, 363-369, 2005.

Cetinkaya, M.; Karaosmanoglu, F. "*Optimization of base-catalysed transesterification reaction of used cooking oil*". **Energy & Fuels**, 18, 1888-1895, 2004.

Chiara, V. L.; Sichieri, R.; Carvalho, T. S. F. "*Teores de Ácidos Graxos Trans de Alguns Alimentos Consumidos no Rio de Janeiro*". **Revista de Nutrição**, 16, 227-233, 2003.

Costa, A. G. V.; Bressan, J.; Sabarense, C. M. "*Ácidos graxos trans: Alimentos e efeito na saúde*". **Archivos Latinoamericanos de nutrición**, 56, 12-21, 2006.

Craske, J. D.; Bannon, C. D. "*Gas liquid chromatography analysis of the fatty acid composition of fats and oils: A total system for high accuracy*". **Journal of the American Oil Chemists Society**, 64, 1413-1417, 1987.

Cunniff, P. A. “*Official Methods of Analysis of AOAC International*”. 6<sup>th</sup> ed. Arlington: **Association of Official Analytical Chemist**, v.2, 1998.

Demrow, H. S.; Slane, P. R.; Folts, J. D. “*Administration of Wine and Grape Juice Inhibits In Vivo Platelet Activity and Thrombosis in Stenosed Canine Coronary Arteries*”. **Circulation**, 91, 1182-1188, 1995.

Department of Health and Social Security, *Report on Health and Social Subjects nº 28. Diet and Cardiovascular Disease*. HMSO, London, 1984. Apud: **Meat Sci.**, 42, 443-456, 1996.

De Zaan. “*The Cocoa Manual. A Guide to De Zaan’s Cocoa Product*”, Holland 1993. Disponível em <http://www.admworld.com/naen/emailupdate/documentte/exclusive/Deza-anCocoaManual.pdf>.>. Acessado em: 27/11/2008.

Dillinger, T. L.; Barriga, P.; Escárcega, S.; Jimenez, M.; Lower, D. S.; Grivetti, L. E. *Food of the Gods: Cure for Humanity? A cultural History of the Medicinal and Ritual Use of Chocolate*. **American Society for Nutritional Sciences**, 130, 2057-2072, 2000.

Ding, E. L.; Hutfless, S. M.; Ding, X., Girotra, S. “*Chocolate and Prevention of Cardiovascular Disease: a Systematic Review*”. **Nutrition Metabolism**, 3, 1743-7075, 2006.

Dobson, G.; Christie, W. W.; Nikolova-Damyanova, B. “*Silver ion chromatography of lipids and fatty acids*”. **Journal Chromatography B**, 671, 197-222, 1995.

Dolinsk, M. “*Manual dietetic para profissionais*”. 2º edição. Editora Roca, 2008.

Drozd, J. "Chemical derivatization in gas chromatography". **Journal of Chromatography**, 13, 303-356, 1975.

Efrain, P.; Tucci, M.L.; Pezoa-Garcia, N.H. "Teores de compostos fenólicos de sementes de cacueiro de diferentes genótipo", **Brasilian Journal of Technology**, 9, 229-236, 2006.

Eder, K. "Gas chromatographic analysis of faty acid methyl esters". **Journal of Chomatografy B**, 671, 113-131, 1995.

Engler, M. B., Engler, M. M, Chen, C. Y., Malloy, M. J.; Browne, A.; Chiu, E. Y.; Kwak, H.; Milbury, P.; Paul, S. M.; Blumberg, J.; Mietus-Snyder, M. L. "Flavonoid-Rick Dark Chocolate Improves Endothelial Functional and Increases Plasma Epicatechin Concentrations in Health Adults". **Jounal of American College of Nutrition**, 23, 197-204, 2004.

Fandini, A. N.; Jardim, D. C. P.; Queiroz, M. B., Bertani, A. P.; Efrain, P." *Características sensoriais e de textura de chilces drageados die produzidos com diferentes tipos de polióis*". **Brazilian Journal of Food Techonoly**, 8, 113-119, 2005.

FAO, Roma. *Recommended International Standard for Chocolate*. **Roma**, p.37, 1976.

FDA - Food And Dry Administration. Proposes news rules for *trans* fatty acids in nutrition labeling, nutrient content, and health clains. Avaliabe from, 1999.

FDA - Food And Dry Administration. Disponível em <<http://.FAD.gov/>> Acesso em 26/08/2008.

- Feuge, R. O.; W. Landmann, W.; Mitcham, D.; Lovegren N. V. "*Tempering triglycerides by mechanical working*". **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 39, 310-313, 1962.
- Filip, V.; Zajic, J.; Smidrhal, J. "*Methanolysis of rapessed oil triacerides*". **Revue Francaise de Corps Gras**, 39, 91-94, 1992.
- Folch, J.; Less M.; Stanley, G. H. S. "*A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues*". **The Journal of Biological Chemistry**, 226, 497-509, 1957.
- Fontes, B.; Ladeiras, F.; Ramalho, M.; Sant'Anna, T. "*Análise do mercado consumidor brasileiro de achocolatados baseada em pesquisa de campo e estratégias de marketing*". **Rio's Internacional Journal**, 2, 110-139, 2008.
- Goff, H. D. "*Low-temperature stability and the glassy state in frozen foods*". **Food Research International**, 25, 317-325, 1992.
- Golay, P. A.; Dionisi, F.; Hug, B.; Giuffrida, F.; Destailats, F. "*Direct quantification of fatty acids in dairy powders with special emphasis on trans fatty acid content*". **Food Chemistry**, 101, 1115-1120, 2007.
- Grimald, R.; Golçalves, G. A. L.; Esteves, W. "*Características de Gorduras Comerciais Brasileiras*". **Brazilian Journal of Food Techonology**, 3, 159-164, 2000.
- Gutnikov, G. "*Fatty acid profiles of lipid samples*". **Journal of Cromatography B**, 671, 71-89, 1995.

Hammerstone, J. F.; Lazarus, S. A; Schmitz, H. H. "*Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods*". **Journal of Nutrition**, 130, 2086S-2092S, 2000.

Hammerstone, J. F.; Lazarus, S. A; Michell, A. E.; Rucker, R. B.; Schmitz, H. H. "*Identification of Procyanidins in Cocoa (Theobroma Cacao) ad chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry*". **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47, 490-496, 1999.

Hartman, L.; Lago, R. C. A. "*Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids*". **Laboratory Practice**, 22, 475-477, 1973.

Holands, B., Welch, A. A., Unwin, I. D., Buss, D. H., Paul, A. A., "*Southgate. MacCance and Winddowson's. The Composition of Foods*", 5<sup>o</sup> ed., The Royal Society of Chemistry and Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Cambridge, U.K., 462p., 1994.

Holmer, G. "*Biochemistry of trans-monoenoic fatty acids*". In Sébédio, J. L; Christie, W. W. (editores). **Trans fatty acids in human nutrition**. Dundee: The Oil Press, p.163-189, 1998.

Hu, F. B.; Stampfer, M.J.; Manson, J. E.; Rimm, E.; Colditz, G. A.; Rosner, B. A. "*Dietary fat and Coronary Heart Disease: a Comparision of Approaches for Adjusting for Total Energy Intake and Modeling Repeated Dietary Measurementts*". **American Journal of Epidemiology**, 149, 531-540, 1999.

IBOBE, Disponível em: <<http://www.ibope.gov.br>>. Acessado em 05/11/2008.

ICCO, London. Report on Matters Referred to in Articles 51 nand 52 of International Cocoa Agreement 1972, p.20 1976.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. “*Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. IV- Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*”, 5ª ed. Secretária de Estado da Saúde. Coordenadoria dos Serviços Especializados, São Paulo, 2005.

Ledoux, M., Laloux, L.; Wolff, R. L. “*Analytical methods for determination of trans-C18 fatty isomers milk fat. A review*”. **Analusis**, 28, 402-412, 2000.

Loisel, C.; Keller, G.; Lecq, G.; Launay, B.; Ollivon, M. “*Tempering of Chocolate in a Scraped Surface Heat Exchanger*”. **Journal of Food Science**, 62, 773-780, 2006.

Maia, M. C. A.; Galvão, A. P. G. L. K.; Modesta, R. C. D.; Júnior, N. P. “*Avaliação sensorial de sorvetes à base de xilitol*”. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 28, 146-151, 2008.

Malandrin, R.; Paisano, M.; Costa, O. “*Sorvetes: um mercado sempre pronto para crescer com inovações*”. **Food Ingrediesnts**, 15, 42-48, 2001.

Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. “*Polyphenols: food sources and bioavailability*”. **American Journal of Clinical Nutrition**, 79, 727-747, 2004.

Martin, A. V. “*Chocolate confectionery*”. In: MAN, C. M. D.; JONES, A. A., (Eds.). **Shelflife evaluation of foods**. London, New York: Blackie Academic, p.216-234, 1994.

Martin, C. A.; Matshushita, M.; de Souza, N. E. *Ácidos Graxos Trans: Implicações Nutricionais e Fontes na Dieta*, **Revista de Nutrição**, 17, 361-368, 2004.

- Martin, C. A. ; Carapelli, R. ; Visentainer, J. V. ; Matsushita, M. ; de Souza, N. E. Trans fatty acid content of Brazilian biscuits. **Food Chemistry**, 93, 445-448, 2005.
- Martin, C. A. ; Oliveira, C. C. ; Visentainer, J. V. Matsushita, M. ; de Souza, N. E. Trans polyunsaturated fatty acid contents in Brazilian refined soybean oil. **Analytical Sciences**, 22, 631-633, 2006.
- Martin, Clayton A. ; Milinsk, Maria C. ; Visentainer, Jesuí V. ; Matsushita, Makoto ; de-Souza, Nilson E. . Trans fatty acid-forming processes in foods: a review. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 79, 343-350, 2007.
- Martin, C. A. ; Oliveira, C. C. ; Matsushita, M. ; Visentainer, J. V. ; de Souza, N. E. Optimization of the selectivity of a cyanopropyl stationary phase for the gas chromatographic analysis of trans fatty acids. **Journal of Chromatography A**, 1191, 111-117, 2008.
- Mathias, D. E., Wildmoser, H., Windhab, J. E., “ *Air cell microstructuring in a high viscous ice cream matrix*”. **Colloids and surfaces A: physicochemistry engineering aspects**, 263, 390-399, 2005.
- McFadden, C.; France, C. “*Chocolate bible: From genesis to Nemesis*”. **Lorenz Books, London**, 2003.
- Medeiros, M. L; Lannes, S. C. S. “*Torta de cupuaçu: composição e utilização*”. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 35, 1118-1125, 1999.
- Mendes, R. C. A.; Biscontini, B. M. T.; Miranda, S. M. “*Ácidos graxos trans. Isômeros em alimentos: Conteúdo, Consumo e Implicações nas doenças cardiovasculares.*” **Boletim do CEPPA**, 20, 121-132, 2002.

- Mércia, E. F.; Lannes, S. C. S. "Achocolatados: análise química." **Brazilian Journal of Farmaceutical Sciences**, 40, 405-412, 2004.
- Metcalf, L. D.; Wang, C. N. "Rapid preparation of fatty acid methyl esters using organic base-catalysed transesterification". **Journal of Chromatography Science**, 19, 530-535, 1981.
- Milinsk, M. C. ; Matsushita, M. ; Visentainer, J. V. ; Oliveira, C. C. ; de Souza, N. E. Comparative Analysis of Eight Esterification Methods in the Quantitative Determination of Vegetable Oil Fatty Acid Methyl Esters (FAME). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19, 1475-1483, 2008.
- Minifie, B. W. "Chocolate, Cocoa and Confectionery: Science and Technology", 3<sup>rd</sup> ed. Van Nostrand Reinhold, New York, NY, 1989.
- Minin, V. P. R.; Cecchi, H. M. "Avaliação da Composição em Ácidos Graxos de Barra de Chocolate ao Leite". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.1, p.111-113, 1998.
- Minin, V. P. R.; Cecchi, H. M.; Minin, L. A. "Determinação de Substitutos da Manteiga de Cacau em Coberturas de Chocolate Através da Análise de Triacilgliceróis". **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 19, 277-281, 1999.
- Miake, Y.; Yokomizo, K. "Determination of Cis- and Trans- 18:1 fatty acid isomers in hydrogenated vegetable oils high-resolution carbon nuclear magnetic resonance". **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75, 801-805, 1998.
- Morrison, R.; Boyd, R. "Química Orgânica". Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, (13<sup>a</sup> Ed), 1996.

Neff, W. E.; Adolf, R. O.; El-Agaimy, M. “Silverp íon high-performance liquid-chromatography of the triacylglycerols of crepis-alpina seep oil”. **Journal of American Oil Chemistry Society**, 71, 853-855, 1994.

Ornellas, A. “Alimentação das crianças.” **Nutrição Aplicada**: lipídios. São Paulo. Ed. Atheneu, 1983.

Peene, J.; Zeeuw, J.; Biermans, F.; Joziasse, L. *CP-Select CB for FAME*. **2003**. Disponível em: [www.varianinc.com/image/vimage/docs/products/consum/gccolumns/select/shared/Pitt2003\\_300\\_8P\\_FAME.pdf](http://www.varianinc.com/image/vimage/docs/products/consum/gccolumns/select/shared/Pitt2003_300_8P_FAME.pdf). Acesso em: 15/01/2009.

Porter, L. J.; Ma, Z.; Chan, B. G. “Cacao procyanidins: major flavonoids and identification of some minor metabolites”. **Phytochemistry**, 30, 1657-1663, 1991.

Precht, D.; Molkentini, J. “Overestimates of oleic and linoleic acid contents in materials containing trans fatty acids and analyzed with shot packed gás chromatographic columns”. **Lipids**, 36, 213-215, 2001.

Ratnayake, W. M. N.; Hollywood, R.; O’Grady, E.; Beare-Rogers, J. L. “Determination of cis and trans-octadecenoic acids in margarines by gás liquid cromatography-infrared spectrophotometry”. **Journal of The American Oil Chemists’ Society**, 67, 804-810, 1990.

Ratnayake, W. M. N; Chen, Z. Y.; Pelletier, G.; Weber, D. “Occurrence of 5c, 8c, 11c, 15t – Eicosatetraenoic acid and other unusual polynsaturated fatty acids in rats fed partially hidrogenated canola oil”. **Lipids**, 29, 707-714, 1994.

- Ratnayake, W. M. N. “ *Analysis of trans fatty acids*”. In: Sebédio, J. L.;Christie, W. W. (editors). **Trans fatty acids in human nutrition**. Dundee: The oil press, cap.4, 115-162, 1998.
- Rein, D.; Paglironi, T. G.; Pearson, D. A., Wun, T.; Schmitz, H. H.; Gosselin, R.; Keen, C. L. “*Cocoa and wine polyphenols modulate platet activation and function*”. **Journal of Nutrition**, 130, 2120S-2126S, 2000.
- Ribeiro, A. P. B.; Moura, J. M. L. N.; Grimaldi, R.; Gonçalves, L. A. G. “*Interesterificação Química: Alternativa para Obtenção de Gorduras Zero Trans*”. **Química Nova**, 30, 1295-1300, 2007.
- Richter, M.; Lannes, S. C. S.”*Bombom para Dietas Especiais: Avaliação Química e Sensorial*”. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, 27, 193-200, 2007.
- Romero, A.; Cuesta, C.; Sánchez-Muniz, F. J. “*Trans fatty acid production in deep fat frying of frozen foods with different oils and frying modalities*”. **Nutrition Research**, 20, 599-608, 2000.
- Roach, J. A. G.; Mossoba, M. M.; Yurawecz, M. P.; Bramer, J. K. G. “*Chromotographic separation and identification of conjugated linoleic acid isomers*”. **Analytica Chimica Acta**, 465, 207-226, 2002.
- Rosa, J. C. P., Ferreira-Dias, S., Moldão-Martins, M., Almeida, M. H. G. “*Desenvolvimento de novas formulações de recheio para bombons de chocolate*”, **Livro de Actas do 5º Encontro de Química de Alimentos**, Porto, pp. 639-641. (ISBN: 972-98476-2-2), 2001.
- Sanibal, E .A. A; Mancini-Filho, J. “*Perfil de ácidos graxos trans de óleos e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura.*” **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 24, 27-31, 2004.

- Schaefer, E. J. "*Lipoproteins, nutrition and heart disease*". **American Journal of Clinical Nutrition**, 75, 191-212, 2002.
- Schmitz, H. H. "*Chocolate, flavonoids and heart health*". **Manufacturing Confection, Glen Rock**, 81, 95-99, 2001.
- Schmidt, K.; Lundy, A., Reynolds, J.; Yee, L. N. "*Carbohydrate or protein based fat mimicker effects on ice milk properties*". **Journal of Food Science**, 58, 761-763, 1993.
- Schreiner, M; Hulan, H. W. "*Determination of the carbon deficiency in the flame ionization detector response of long-chain fatty acid methyl esters and dicarboxylic acid dimethyl esters*". **Journal of Chromatography A**, 1045, 197-202, 2004.
- Silva, A. P.; Nascimento, L.; Osso, F.; Mizurini, D.; Campos, D.; Martinez, A. M. B.; Carmo, M. G. T. "*Ácidos Graxos Plasmáticos, Metabolismo Lipídico e Lipoproteína de Ratos Alimentados com Óleo de Palma e Óleo de Soja Parcialmente Hidrogenado*", **Revista de Nutrição**, 18, 229-237, 2005.
- Sebédio, J. L, Grandgirard, A.; Prevost, J. "*Linoleic acid isomers in heat-treated sunflower oils*". **Journal of The American Oil Chemists' Society**, 65, 362-366, 1988.
- Sebédio, J. L.; Gnaedig, S.; Chardigny, J. "*Recent advances in conjugated linoleic acid research*". **Current opinion in Clinical Nutrition and metabolic care**, 2, 499-506, 1999.
- Skibola, C. F.; Smith, M. *Potencial Health Impacts of Excessive Flavonoid Intake*. **Free Radical Biology and Medicine**, 29, 375-383, 2000.

Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. Tradução: Caracelli, I.; Isolani, P. C.; Santos, R. H. A.; Francisco, R. H. P. *“Princípios de análise instrumental”*. 5 ed., Porto Alegre, Bookman, p.617, 2002.

Statsoft, *Statística 7.0 software*. Tucksa, USA, 2004.

Talpur, F. N.; Bhangar, M. I.; Khuhawar, M. Y. *“Comparison of fatty acids and cholesterol content in the Milk of Pakistani cow breeds”*. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19, 698-703, 2006.

Ulberth, F.; Haider, H. J. *“Determination of low level trans unsaturation in fats by Fourier Transform Infrared Spectroscopy”*. **Journal of Food Science**, 57, 1444-1447, 1992.

Ulberth, F.; Haider, H. J. *“Accurate quantitation of short, medium, and long-chain fatty acid methyl esters by split-injection capillary gas-liquid chromatography”*. **Journal of Chromatography A**, 704, 455-463, 1995.

Varnam, A. H.; Sutherland, J. P. *Bebidas: tecnología, química y microbiología*. Zaragoza: Ed. Acribia, S. A, v. 2, p.289-294, 1997.

Vlsentainer, J. V.; Franco, M. R. B. *Ácidos graxos em óleos e gorduras: Identificação e quantificação*. São Paulo. Varela, 2006.

Vissotto, F. V.; Bragagnolo, N.; Grimaldi, R.; Figueredo, M. S. *“Caracterização Físico-Química e Relógica de Chocolates Comerciais Tipo Cobertura Elaborados com Gorduras Alternativas”*. **Brazilian Journal of Food Technology**, v2, 139-148, 1999.

Wagner, A.; Auer, E.; Elmadfa, I. *“Content of Trans Fatty Acids in Margarines, Plant Oils, Fried Products and Chocolate Spreads in Austria”*. **European Food Research and Technology**, 210, 237-241, 2000.

Wardlaw, M. G. *“Perspectives in nutrition.”* 5th ed., Mc Graw Hill. St. Louis, v.612, 2002.

WHO – World Health organization. Science-policy. WHA and FAO Joint consultation: fats and oils in human nutrition – New York. **Nutrition Reviews**, 53, 202-205, 2003.

Willett, W. C.; Stampfer, M. J., Manson, J. E.; Colditz, G. A., Spezier , F. E.; Rosner, B. A. *Intake of Trans Fatty Acids and Risk of Coronary Heart Disease Among Women.* **Lancet**, 341, 581 –585, 1993.

Willett, W. C. Surprising news about fat. In : Willett WC., editor. *Eat, drink and be healthy : the Havard Medical School guide to healthy eating.* New York, Simon & Schuster Adult Publishing Group,. p. 56-84, 2001

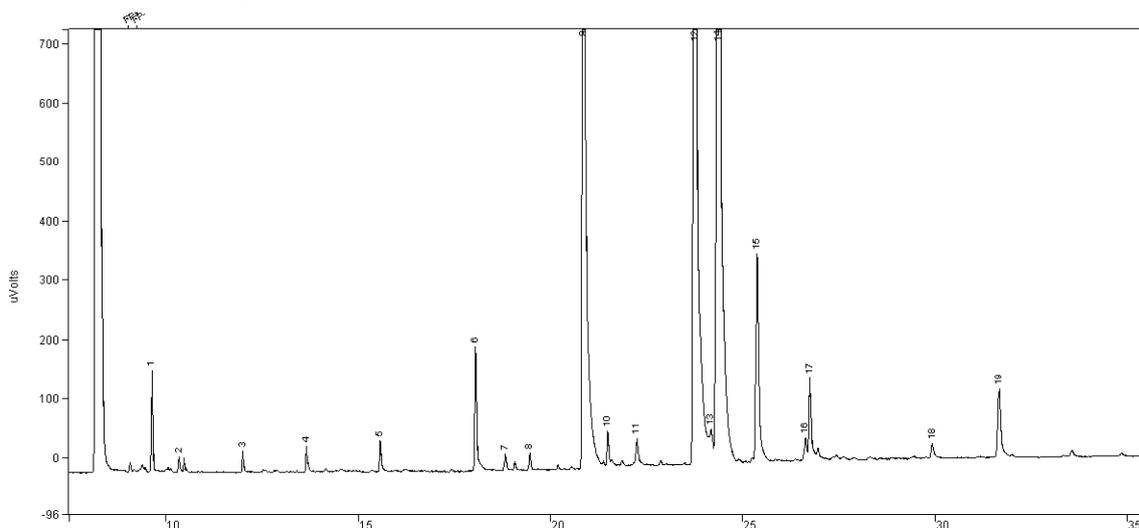
Wolff, R.; Precht, D.; Molkenitini, J. *“ Trans- 18:1 acid content and rprofile in human milk lipids:critical survey of data in connection with analytical methods.* **Journal of The American Oil Chemists´ Society**, 75, 661-671, 1998.

Wollgast, J.; Anklan, E. *“Polyphenols in chocolate: is there contribution to human health?”.* **Food Research International**, 33, 449-459, 2000.

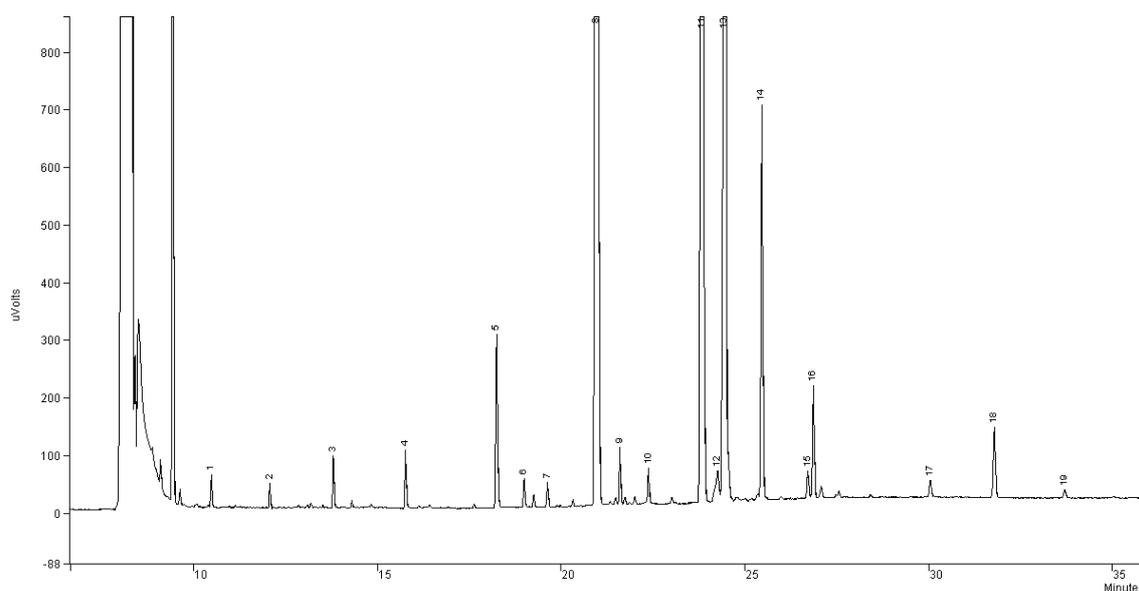
Ying, W.; Vison, J. A.; Etherton, T. D.; Proch, J.; Lazarus, S. A., Kris-etherton, P. M. *“Effects of cocoa powder and dark chocolate on LDL oxidative susceptibility and protaglandin concentration in humans”.* **American Journal of Clinical Nutrition**, 74, 596-602, 2001.

Zhu, Q. Y.; Holt, R. R.; Lazarus, S. A; Orozco, T. J.; Keen, C. L. *“Inhibitory Effects of Cocoa Flavonols and Procyanidin Oligomrs on Free Radical-induced Erythrocyte Hemolysis”.* **Society for Experimental Biology and Medicine**, 227, 321-329, 2002.

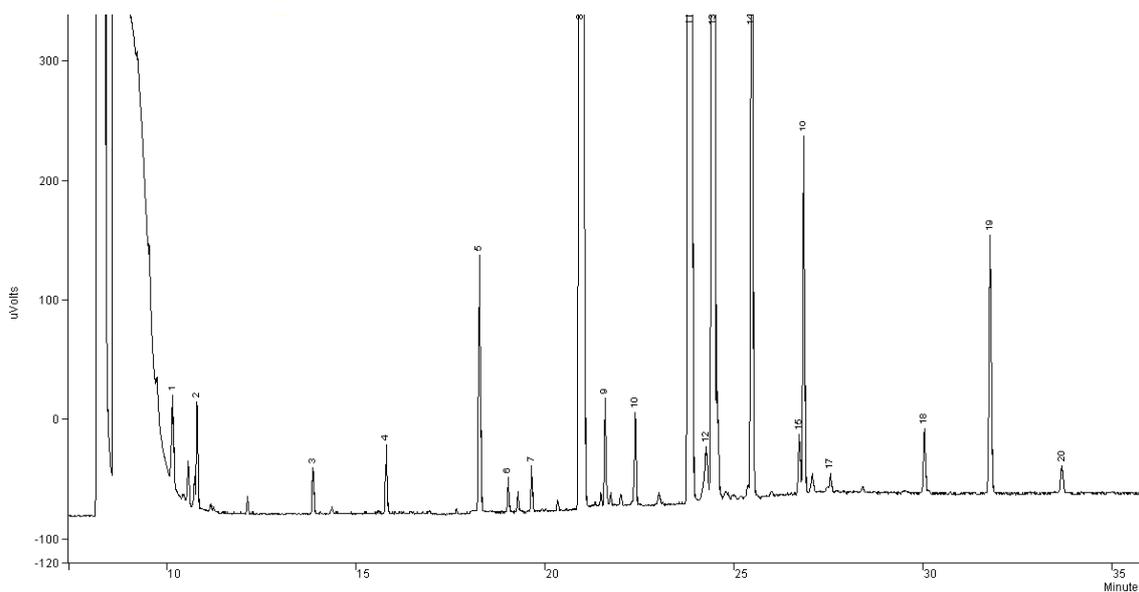
## Anexos Cromatogramas



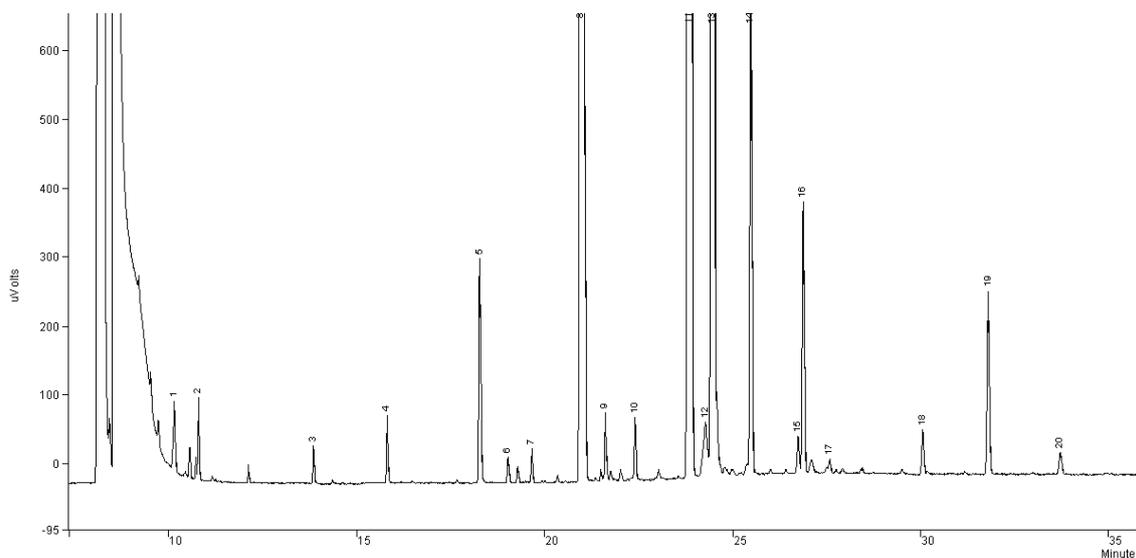
1. **Cromatograma representativo para chocolate de marca A diet:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 8:0; (4) 10:0; (5) 12:0; (6) 14:0; (7) 14:1n-9; (8) 15:0; (9) 16:0; (10) 16:1n-9; (11) 17:0; (12) 18:0 (13) 18:1t9 ; (14) 18:1n-9; (15) 18:2n-6; (16) 18:3n-3 (17) 20:0; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno)



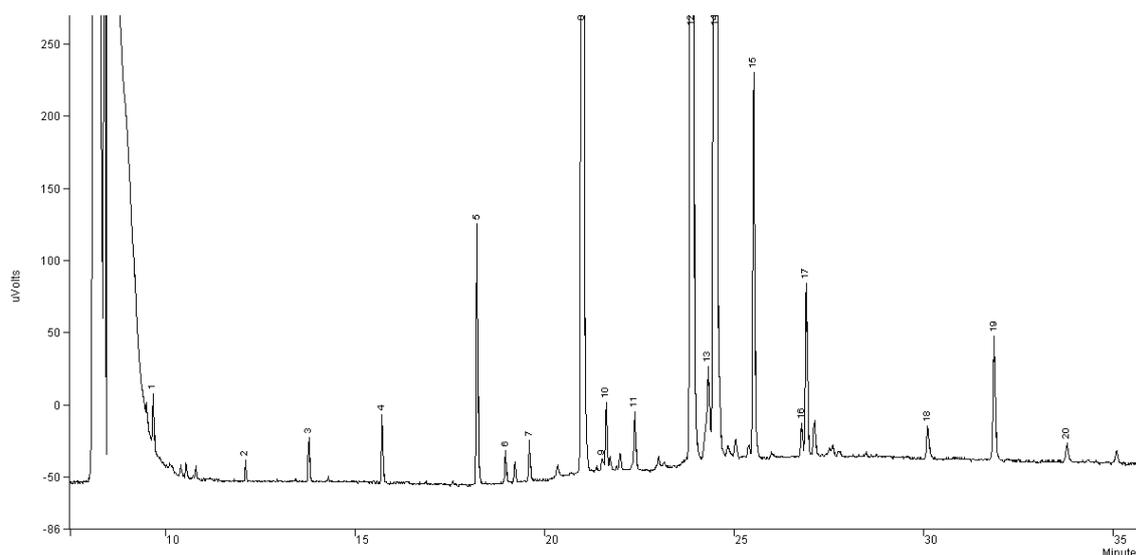
2. **Cromatograma representativo para chocolate de marca A preto normal:** (b4a). (1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9 ; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 22:0; (18) 23:0 (padrão interno); (19) 24:0



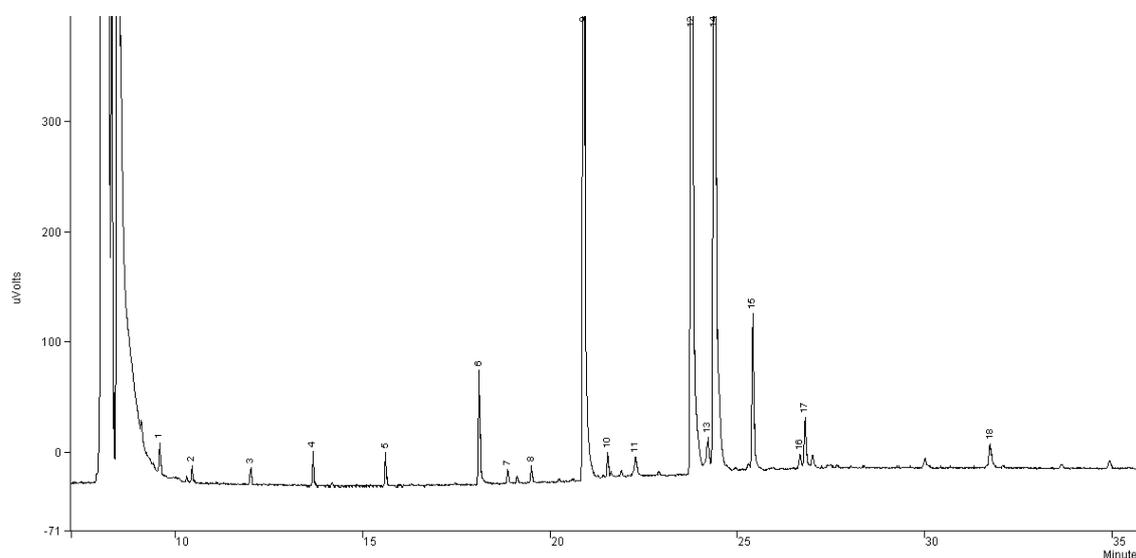
3. **Cromatograma representativo para chocolate de marca B diet:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 10:0; (3) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9 ; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 20:1n-9; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0



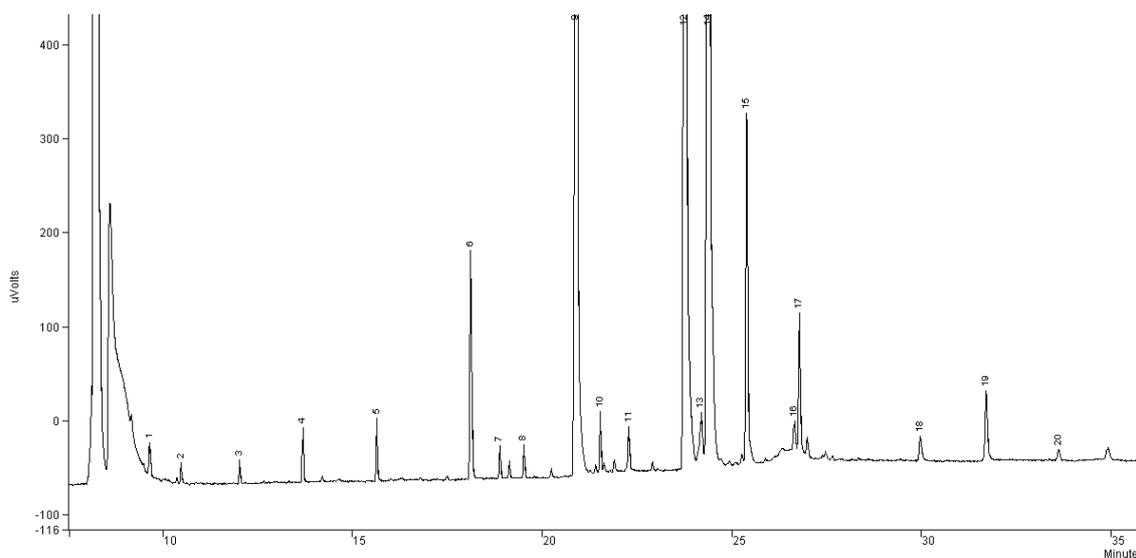
4. **Cromatograma representativo para chocolate de marca B preto normal:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 10:0; (3) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9 ; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 20:1n-9; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0



5. **Cromatograma representativo para chocolate de marca C preto normal:** (1) 4:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 16:1n-7; (11) 17:0; (12) 18:0 (13) 18:1t9 ; (14) 18:1n-9; (15) 18:2n-6; (16) 18:3n-3 (17) 20:0; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0

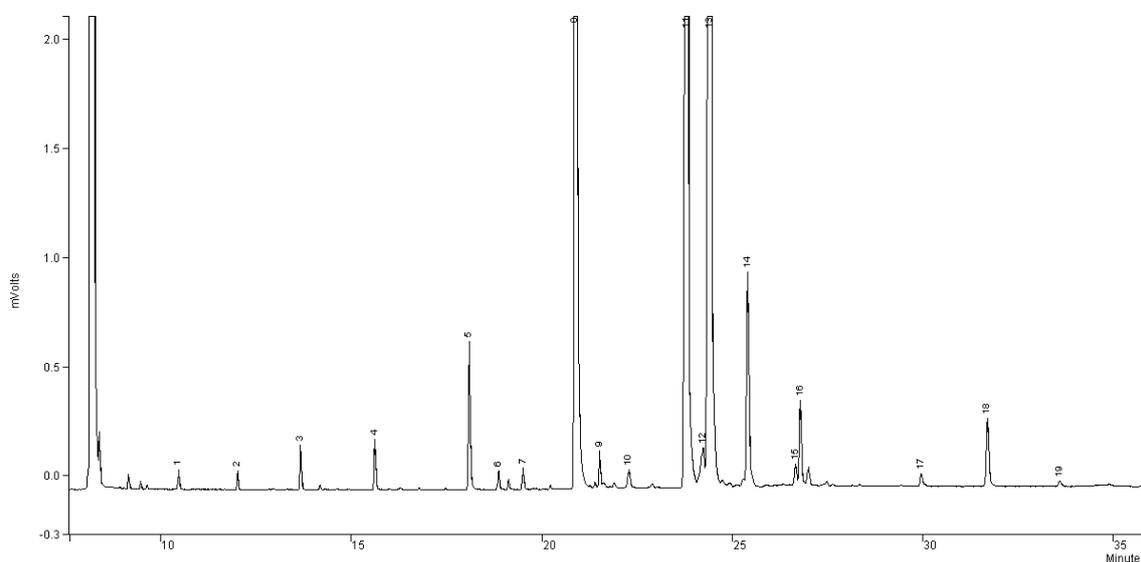


6. **Cromatograma representativo para chocolate de marca C branco:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 8:0; (4) 10:0; (5) 12:0; (6) 14:0; (7) 14:1n-9; (8) 15:0; (9) 16:0; (10) 16:1n-9; (11) 17:0; (12) 18:0 (13) 18:1t9; (14) 18:1n-9; (15) 18:2n-6; (16) 18:3n-3 (17) 20:0; (18) 23:0 (padrão interno)



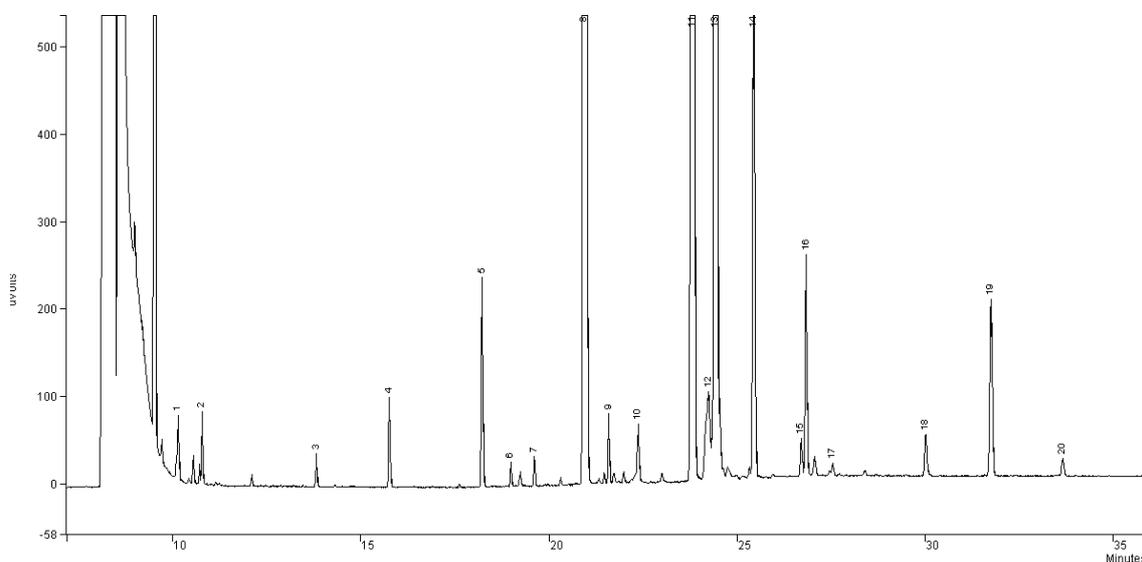
**7. Cromatograma representativo para chocolate de marca D preto normal:..**

(1) 4:0; (2) 6:0;(3) 8:0; (4) 10:0; (5) 12:0; (6) 14:0; (7) 14:1n-9; (8) 15:0; (9) 16:0; (10) 16:1n-9; (11) 17:0; (12) 18:0 (13) 18:1t9; (14) 18:1n-9; (15) 18:2n-6; (16) 18:3n-3 (17) 20:0; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0



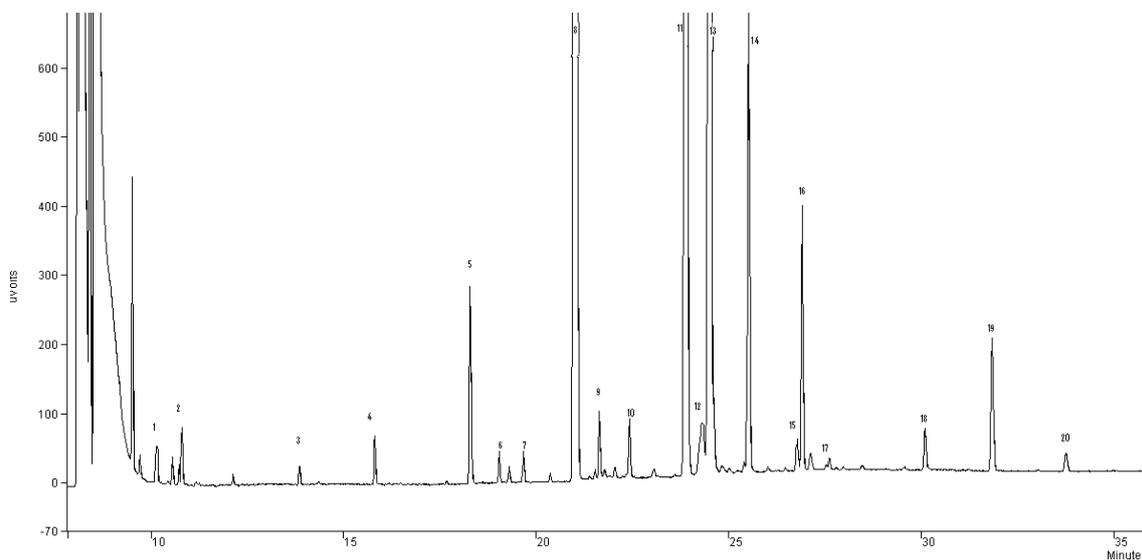
**8. Cromatograma representativo para chocolate de marca D branco:..**

(1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9 ; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 22:0; (18) 23:0 (padrão interno); (19) 24:0



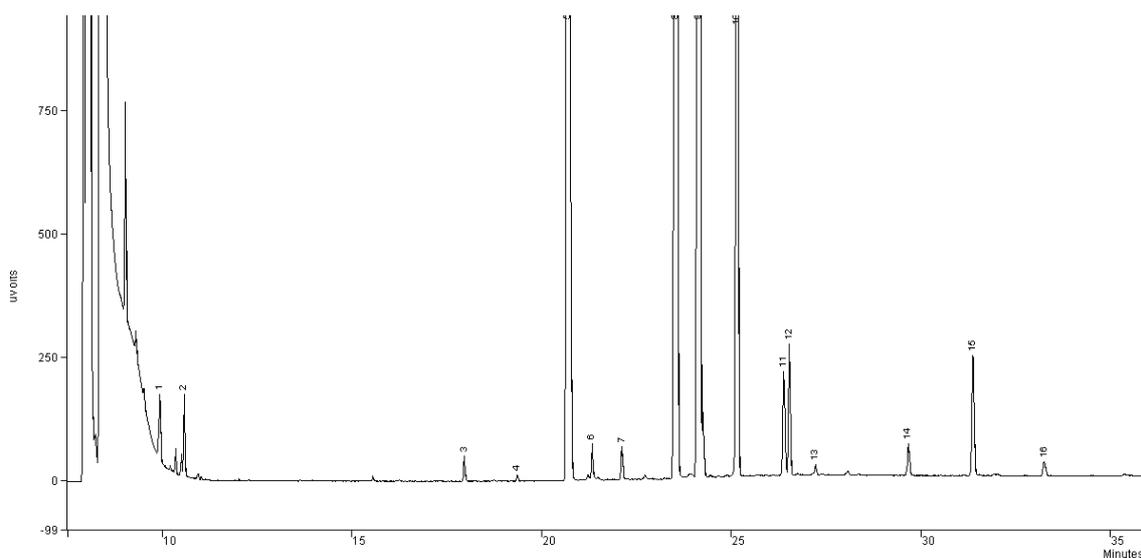
**9. Cromatograma representativo para chocolate de marca E preto normal:**

(1) 4:0; (2) 6:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 20:1n-9; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0



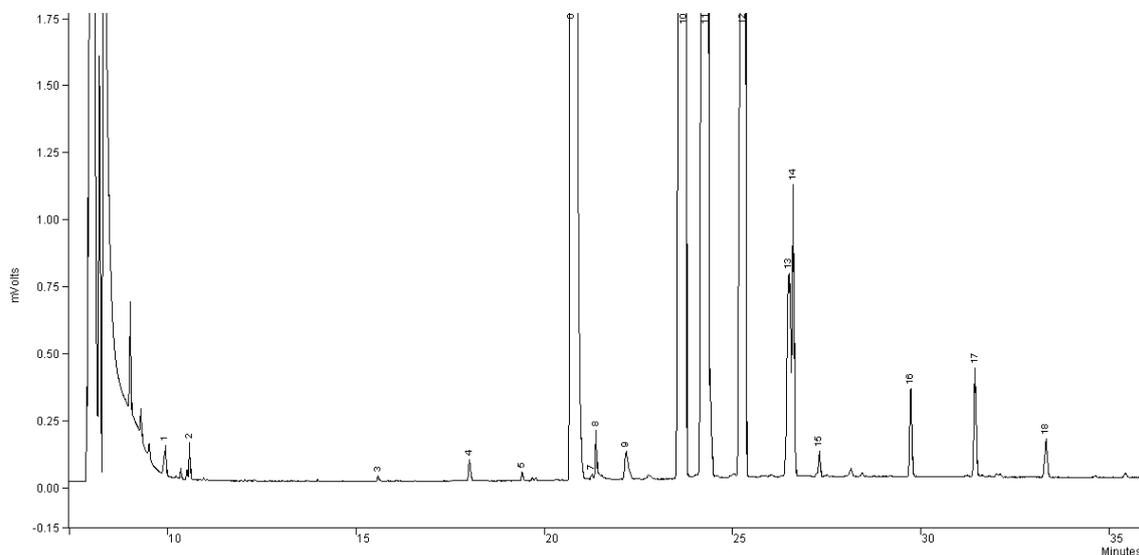
**10. Cromatograma representativo para chocolate de marca E branco: .**

(1) 4:0; (2) 6:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0 (12) 18:1t9; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3 (16) 20:0; (17) 20:1n-9; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0



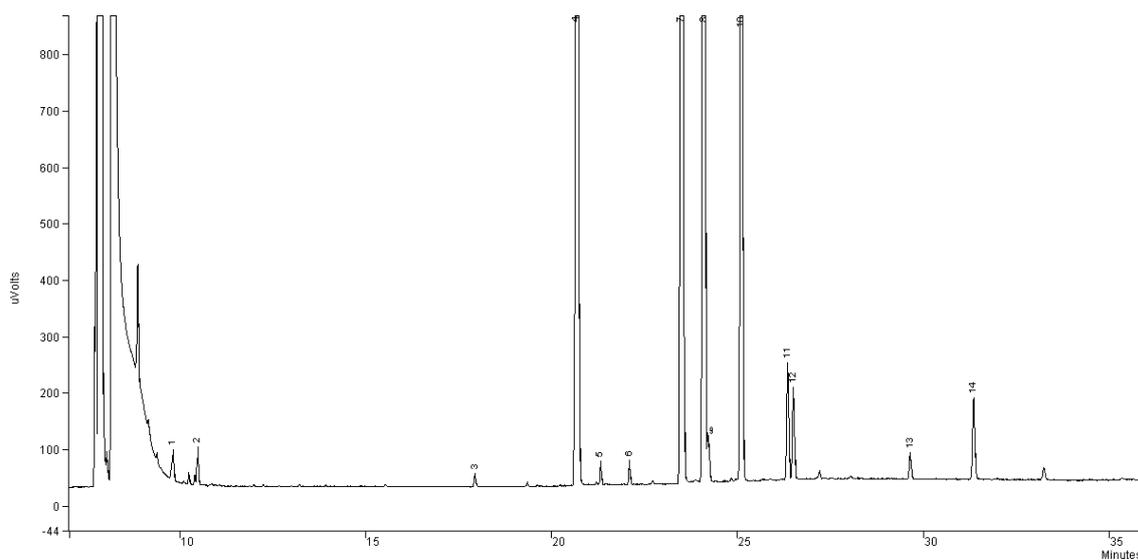
**11. Cromatograma representativo para achocolatado em pó de marca N light:**

(1) 4:0; (2) 6:0; (3) 14:0; (4) 15:0; (5) 16:0; (6) 16:1n-9; (7) 17:0; (8) 18:0; (9) 18:1n-9; (10) 18:2n-6; (11) 18:3n-3 (12) 20:0; (13) 20:1n-9; (14) 22:0; (15) 23:0 (padrão interno); (26) 24:0

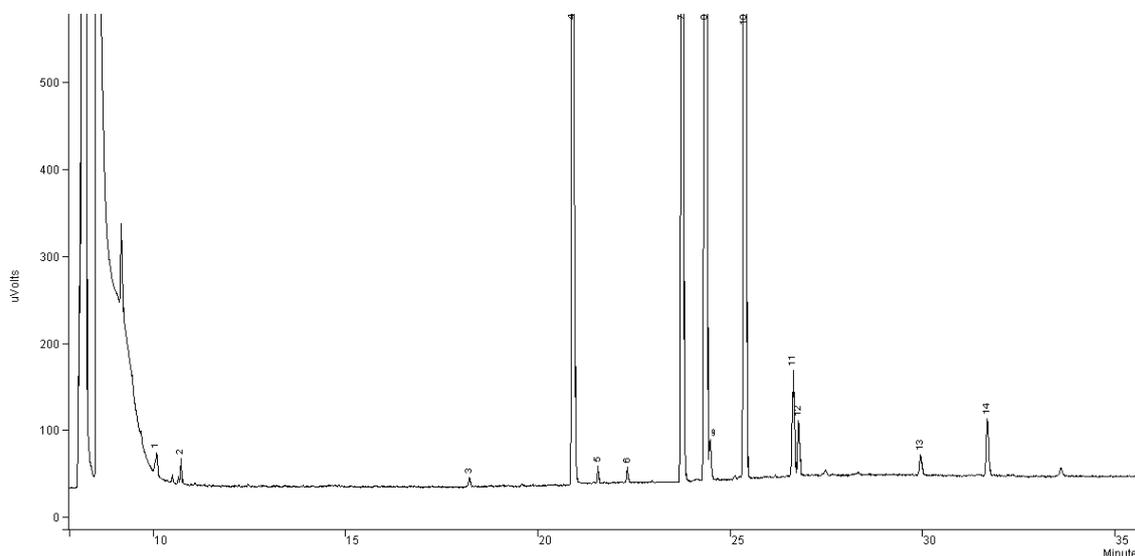


**12. Cromatograma representativo para achocolatado em pó de marca N**

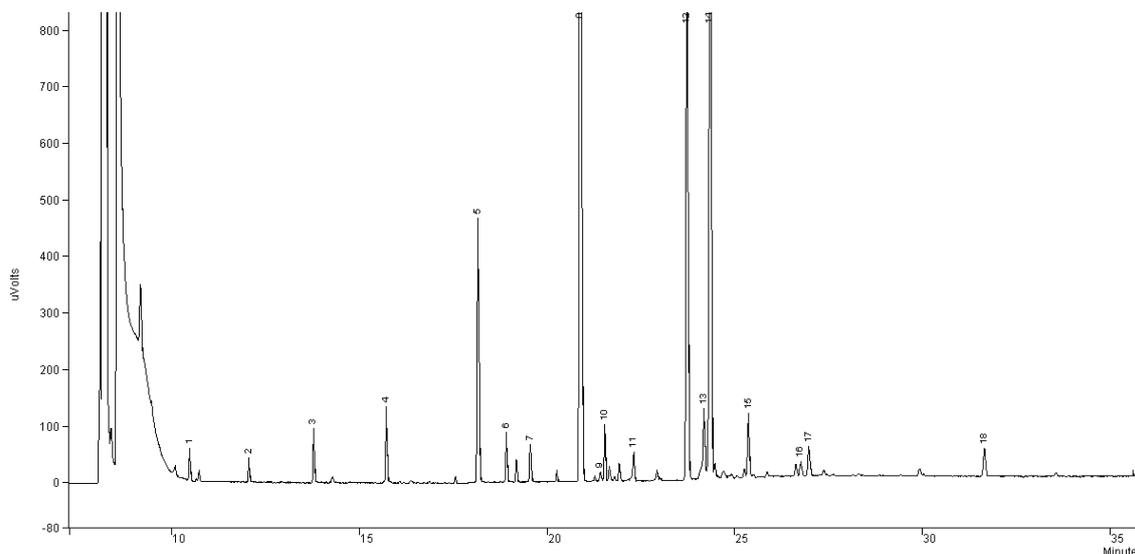
**normal:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 12:0; (4) 14:0; (5) 15:0; (6) 16:0; (7) 16:1n-9; (8) 16:1n-7; (9) 17:0; (10) 18:0; (11) 18:1n-9; (12) 18:2n-6; (13) 18:3n-3 (14) 20:0; (15) 20:1n-9; (16) 22:0; (17) 23:0 (padrão interno); (18) 24:0



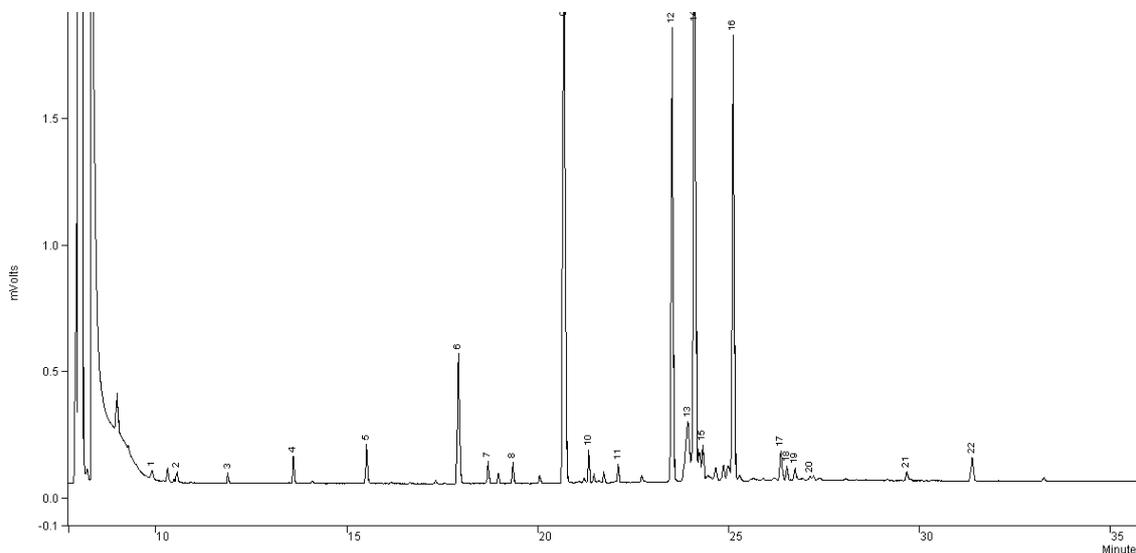
**13. Cromatograma representativo para achocolatado em pó de marca T light:**  
 (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 14:0; (4) 16:0; (5) 16:1n-9; (6) 17:0; (7) 18:0; (8) 18:1n-9;  
 (9) 18:1n-7; (10) 18:2n-6; (11) 18:3n-3 (12) 20:0; (13) 22:0; (14) 23:0 (padrão interno)



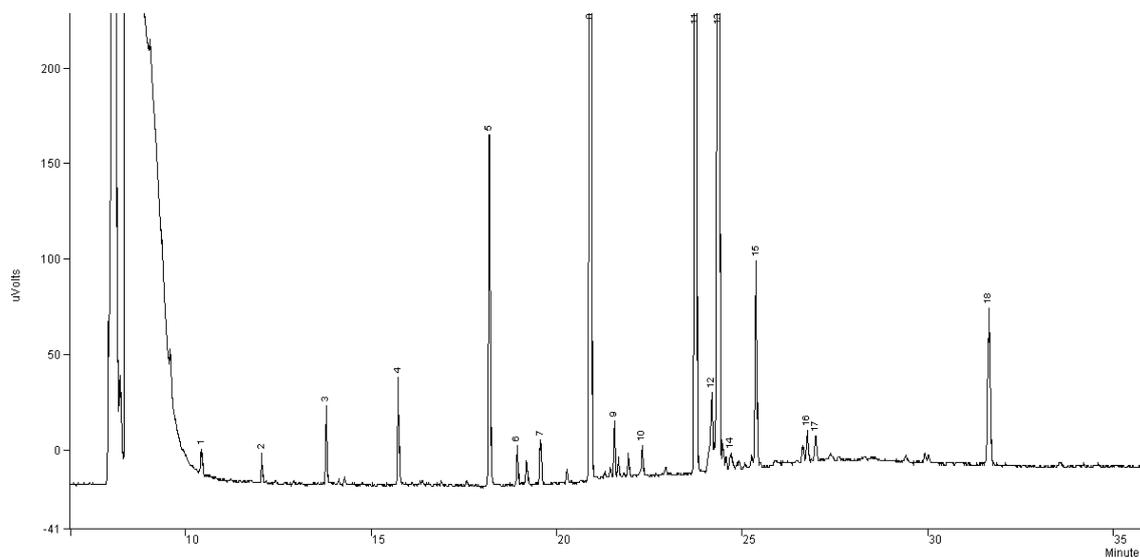
**14. Cromatograma representativo para achocolatado em pó de marca T normal:**  
 (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 14:0; (4) 16:0; (5) 16:1n-9; (6) 17:0; (7) 18:0; (8) 18:1n-9;  
 (9) 18:1n-7; (10) 18:2n-6; (11) 18:3n-3 (12) 20:0; (13) 22:0; (14) 23:0 (padrão interno)



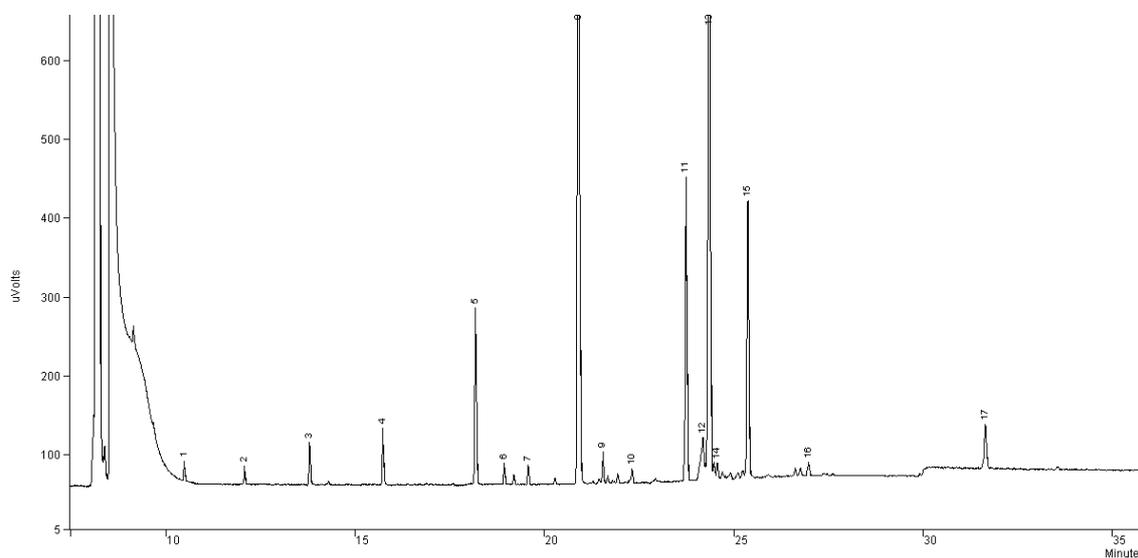
15. **Cromatograma representativo para bebida achocolatada de marca K light:**.. (1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-7 (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 16:1n-7; (11) 17:0; (12) 18:0; (13) 18:1t9; (14) 18:1n-9; (15) 18:2n-6;(16) 20:0; (17) CLA; (18) 23:0 (padrão interno)



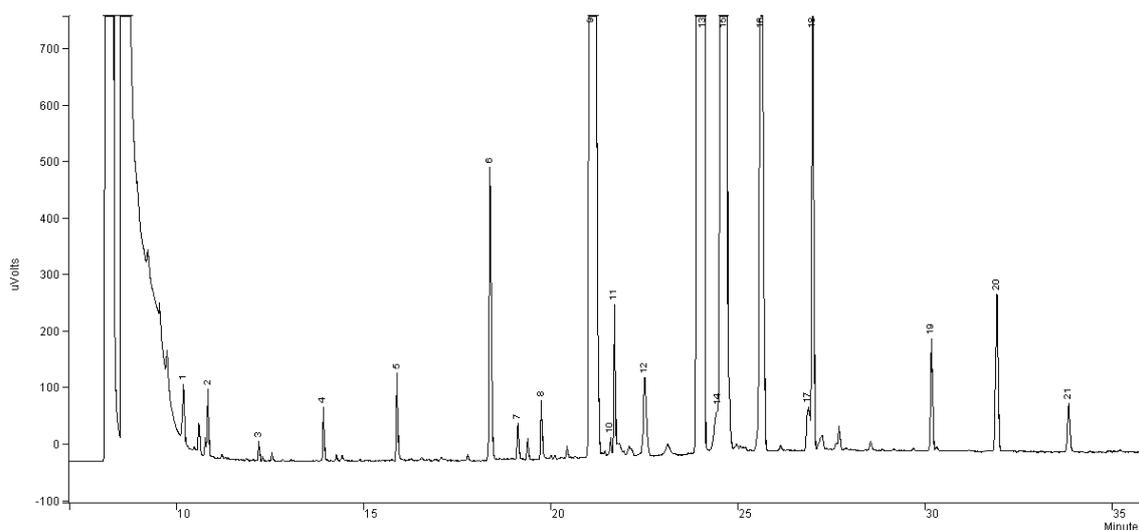
16. **Cromatograma representativo para bebida achocolatada de marca K normal:**.. (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 8:0; (4) 10:0; (5) 12:0; (6) 14:0; (7) 14:1n-7 (8) 15:0; (9) 16:0; (10) 16:1n-9; (11) 17:0; (12) 18:0; (13) 18:1t9; (14) 18:1n-9; (15) 18:1n-7; (16) 18:2n-6; (17)18:3n-3; (18) 20:0; (19) CLA; (20) 20:1n-9; (21) 22:0; (22) 23:0 (padrão interno)



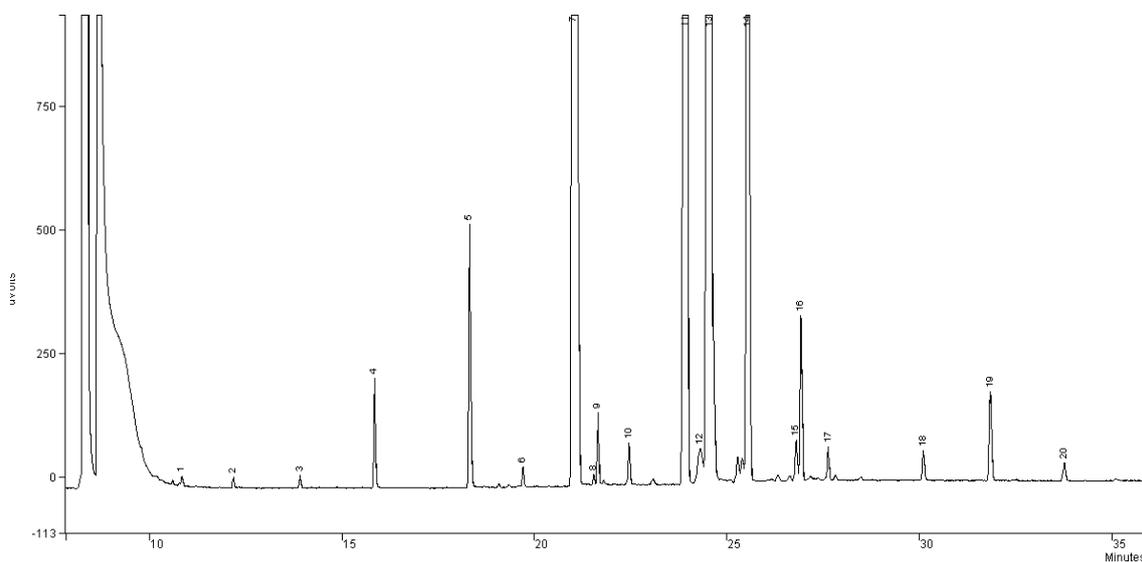
**17. Cromatograma representativo para bebida achocolatada de marca T light:**  
 (1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0; (12) 18:1t9; (13) 18:1n-9; (14) 18:1n-7; (15) 18:2n-6; (16) 20:0; (17) CLA (18) 23:0 (padrão interno)



**18. Cromatograma representativo para bebida achocolatada de marca T normal:**  
 (1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 14:1n-9; (7) 15:0; (8) 16:0; (9) 16:1n-9; (10) 17:0; (11) 18:0; (12) 18:1t9; (13) 18:1n-9; (14) 18:1n-7; (15) 18:2n-6; (16) CLA (17) 23:0 (padrão interno)



19. **Cromatograma representativo para sorvete de marca S light:** (1) 4:0; (2) 6:0; (3) 8:0; (4) 10:0; (5) 12:0; (6) 14:0; (7) 14:1n-9; (8) 15:0; (9) 16:0; (10) 16:1n-7; (11) 16:1n-9; (12) 17:0; (13) 18:0; (14) 18:1t9; (15) 18:1n-9; (16) 18:2n-6; (17) 18:3n-3; (18) 20:0; (19) 22:0; (20) 23:0 (padrão interno); (21) 24:0



20. **Cromatograma representativo para sorvete de marca S normal:** (1) 6:0; (2) 8:0; (3) 10:0; (4) 12:0; (5) 14:0; (6) 15:0; (7) 16:0; (8) 16:1n-9; (9) 16:1n-7; (10) 17:0; (11) 18:0; (12) 18:1t9; (13) 18:1n-9; (14) 18:2n-6; (15) 18:3n-3; (16) 20:0; (17) 20:1n-9; (18) 22:0; (19) 23:0 (padrão interno); (20) 24:0

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)