

ANÁLISE DE CHOCOLATE ATRAVÉS DE ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO E PCA

ANALYSIS OF CHOCOLATE BY FTIR SPECTROSCOPY AND PCA

Data de entrega dos originais à redação em: 13/07/2015
e recebido para diagramação em: 17/09/2016

Cleidivane Muniz Pereira ¹
Fernando Schimidt ²

Neste trabalho foram feitas análises de quatorze amostras de chocolates comerciais do tipo ao leite, branco, meio amargo e amargo. As amostras em duplicata foram analisadas através da espectroscopia de infravermelho médio FTIR com acessório UATR. Os espectros coletados foram estudados utilizando o método de Análise de Componentes Principais (PCA). A utilização de métodos espectroscópicos tem grande potencial de aplicação em indústrias de alimentos na área de controle de qualidade, em função da robustez, rapidez e praticidade das análises. Neste trabalho foi possível classificar as amostras por fabricante como também a quantidade relativa de sacarose.

Palavras-chave: Alimentos. Chocolate. FTIR. PCA

In this paper it was made analysis of fourteen samples of commercial chocolates type milk, white, bitter and bittersweet. The samples were analyzed in duplicate by FTIR mid infrared spectroscopy with accessory UATR. The collected spectra were analyzed using the method Principal Component Analysis (PCA). The use of spectroscopic methods has great potential for application in the food industry for quality control analysis on the basis of robustness, speed and convenience of analysis. In this work it was possible to classify the samples by manufacturer but also the relative amount of sucrose.

Keywords: Food. Chocolate. FTIR. PCA.

1 INTRODUÇÃO

O chocolate é produzido a partir dos grãos provenientes da árvore conhecida como cacauieiro, localizada em regiões úmidas, como nas florestas tropicais. Para o processamento do chocolate, os grãos maduros são para fermentado e depois secos e moídos até serem transformados em um licor. A partir do licor dois tipos de chocolate podem ser produzidos: o chocolate amargo e o chocolate ao leite (MARTIN, 2006). Os chocolates são elaborados a partir de alguns ingredientes diferentes, seguindo o mesmo processo: os grãos de cacau maduros são colhidos e postos para fermentar para que o sabor amargo diminua e a cor dos grãos escureça, a seguir, os grãos são torrados e moídos ou triturados até serem transformados em um líquido espesso, chamado de licor de chocolate. Parte deste licor passa por um processo de pressão pelo qual é extraída a manteiga de cacau utilizada em diversos produtos, desde o ramo alimentício ao cosmético. O chocolate meio amargo é feito pela mistura do licor de chocolate, manteiga de cacau, açúcar e muitas vezes aroma de baunilha. Já o chocolate ao leite é elaborado a partir dos mesmos ingredientes mais o acréscimo do leite, diferenciando ainda uma maior quantidade de açúcar, diminuindo assim a quantidade de licor de chocolate em comparação ao chocolate meio amargo. O chocolate branco possui uma composição bem diferenciada do restante dos chocolates. O branco não possui o licor de cacau, somente a manteiga de cacau, leite e açúcar (MARTIN, 2001; MARTIN 2006; WOLKE, 2003). Especialistas pesquisaram e chegaram à conclusão de que

chocolate faz bem à saúde, chocolate amargo melhora a saúde do coração e ajuda a combater o estresse. O consumo moderado pode ajudar na redução da formação de placas de gordura, no controle da pressão arterial e melhorar o fluxo sanguíneo com restrição da utilização do chocolate com mais de 70% de cacau na composição da mistura (LUCIRIO, 2012). A maior parte dos benefícios trazidos pelo chocolate vem dos flavonoides (chamados catequinas e proantocianidinas), que são antioxidantes naturais. Mas o alimento também é uma fonte importante de potássio e magnésio, minerais envolvidos principalmente na força muscular. Quanto mais processado for o chocolate, menor a quantidade de substâncias ativas que fazem bem ao organismo (MACIEL, 2013). O açúcar comum, que é o açúcar de cana, é na verdade a sacarose ($C_{12}H_{22}O_{11}$), que é um dissacarídeo resultante da união de dois monossacarídeos com a eliminação de uma molécula de água. Os dois monossacarídeos que dão origem à sacarose são a α -glicose e a frutose, que possuem a mesma fórmula molecular ($C_6H_{12}O_6$), sendo diferenciadas apenas pelo fato de que a glicose possui um grupo aldeído e a frutose um grupo cetona em sua estrutura, quando suas cadeias estão abertas. A sacarose é um polímero natural da classe dos glicídios, isto é, compostos com função mista do tipo poliálcool-aldeído ou poliálcool-cetona ou compostos que, por sofrerem hidrólise, dão poliálcool-aldeído e/ou poliálcool-cetona. Esse último é o caso da sacarose, pois quando ela sofre hidrólise, ou seja, reage com a água, formam-se duas moléculas de oses, que são exatamente a glicose e a frutose. Visto que

1 - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Inhumas.

2 - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Inhumas. < schimidt99@gmail.com >.

essa é a reação inversa de sua formação, o resultado da mistura de glicose e frutose é denominado açúcar invertido. O açúcar invertido tem várias aplicações pela indústria, pois a frutose do açúcar invertido faz com que ele seja mais doce que a sacarose, com isso, pode-se utilizar uma menor quantidade do produto em doces, bombons e outros alimentos, diminuindo os gastos. O açúcar invertido também é mais solúvel em água do que a sacarose, sendo então utilizado em geleias, bombons ou frutas em calda, com a finalidade de não cristalizar, mas permanecer, no estado líquido. (FOGAÇA, 2012).

A espectroscopia de infravermelho próximo e médio, aliada a uma utilização de uma análise multivariada dos dados, é realizada em um equipamento que tem sido bastante útil na indústria alimentar, expondo vantagens em estudo de qualidade, bem como de adulterações dos produtos analisados. (STUART, 2004). As técnicas espectroscópicas, tais como espectrofotometria no ultravioleta (UV) e infravermelho (IR) são amplamente utilizadas em controle de qualidade de alimentos. A espectroscopia no infravermelho é uma ferramenta analítica utilizada em várias áreas tais como: controle de qualidade de diversos produtos, estudo de polímeros, identificação de compostos inorgânicos e orgânicos, análise de misturas complexas como gasolina e poluentes atmosféricos, estudo de semicondutores, transporte de moléculas bioativas em tecidos vivos, mecanismo de catálise, etc. As principais razões para sua utilização são a velocidade com que as amostras são caracterizadas e flexibilidade do aparelho (BLANCO, 2002; ALMEIDA, 2007). A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com átomos e moléculas (SKOOG et al., 2010). No caso de moléculas a ligação de dois átomos envolve diferentes tipos de energia, tais como energia translacional, vibracional e eletrônica (ALCÁCER, 2007). Normalmente as transições eletrônicas estão situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do infravermelho e as rotacionais na região de microondas (em casos particulares também no infravermelho distante. Usa-se o termo espectroscopia vibracional para descrever as técnicas da espectroscopia de infravermelho e da espectroscopia de Raman (VOGEL, 2011). Esta espectroscopia detecta a radiação que é absorvida pelas ligações vibracionais moleculares. Os espectrômetros com transformada de Fourier utilizam um dispositivo denominado interferômetro de Michelson, para efetuar medidas precisas de comprimento de onda da radiação eletromagnética. Atualmente, os espectrômetros FTIR substituem os instrumentos dispersivos nos laboratórios por serem rápidos e de excelente precisão e exatidão em relação ao comprimento de onda, além de serem muito confiáveis (SKOOG et al., 2012).

A espectroscopia no infravermelho próximo foi utilizada para determinar o teor de açúcar total em amostras de café cru, e aplicação do método da regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) aos espectros. Este método mostrou um tempo de análise reduzido e também pouca manipulação das amostras, além da diminuição da geração de resíduos químicos e redução do custo total de análise (MORGANO et al., 2007). SAUERLEAL e colaboradores (2008) realizaram um estudo para o controle de qualidade de queijo prato, utilizando

espectroscopia no infravermelho médio com acessório de refletância difusa e tratamento dos espectros por regressão de mínimos quadrados parciais; os resultados demonstraram a composição físico-química das amostras e parâmetros de interesses (gordura, proteína, umidade, extrato seco e cinzas) com exatidão e precisão. FERRARINI (2004) utilizou o infravermelho médio para determinar valores nutricionais do milho, justificando sua utilização em análises de rotina no controle de qualidade e na formulação de rações na área de nutrição animal. MORGANO e colaboradores (2008) determinaram o teor de umidade em amostras de café cru através da espectroscopia na região do infravermelho próximo, com tratamento de dados por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). O erros de validação encontrados foram baixos.

2 PARTE EXPERIMENTAL

A parte prática foi realizada com a utilização do espectrofotômetro FTIR Perkin Elmer modelo Frontier, com acessório Pike GladiATR no laboratório de Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás - Campus Inhumas. As amostras de chocolate foram adquiridas em supermercados da região visando a maior variedade possível dentro dos tipos branco, ao leite e amargo. As amostras foram aguardadas em ambiente seco a temperatura ambiente. Foram removidos dois pedaços pequenos, nas extremidades, de cada tablete de chocolate em lados opostos do mesmo para verificar a homogeneidade da amostra. Os pedaços cortados foram colocadas na superfície do acessório GladiATR e pressionadas contra o cristal de contato através de um pino de pressão com regulagem pré definida pelo fabricante do acessório, neste caso a pressão utilizada foi sempre a mesma. A obtenção dos espectros de chocolate foram feitas entre 4000 e 450 cm^{-1} , com 32 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} , no modo Absorbância. Os espectros obtidos foram exportados no formato ASCII, e processados através do *software Matlab*. Os chocolates analisados foram do tipo liso, livres de coberturas e sem recheios, sendo aromatizados natural ou artificialmente apenas com baunilha. Foram analisados 14 amostras de chocolates ao leite, branco, amargo e meio amargo de quatro marcas comerciais, sendo também analisada uma amostra de sacarose P.A. em pó.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os espectros coletados em formato ASCII (forma de texto puro) e organizados em formato de matriz com 28 linhas (14 amostras em duplicata) e 3550 colunas (absorbâncias). Em seguida foi feita a Análise de Componentes Principais (PCA) no *Matlab*. Neste processo, previamente todas as colunas são centradas na média (para que tenham a mesma importância estatística na análise) e em seguida são geradas as matrizes de "scores" e "loadings" (pesos) da matriz original de espectros, sendo estipulado o número de componentes principais baseado na variância acumulada para cada componente (tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição das variâncias em relação a cada componente principal

Componente Principal	Variância (%)	Variância total (%)
1	62,38	62,38
2	25,24	87,61
3	4,92	92,53
4	3,61	96,14
5	2,86	99,00
6	0,36	99,36

Os espectros obtidos (Figura 1) mostraram uma diferenciação entre as marcas comerciais e também a sacarose. Esta análise foi feita pela simples comparação entre os espectros das amostras e o padrão analítico (P.A) da sacarose na região entre 1800 e 450 cm^{-1} . Esta região mostrada na Figura 1 (que esta dentro da região de "fingerprint") ocorre a maior variação de absorção das bandas espectrais devido às absorções características de determinados grupos funcionais (SKOOG et al., 2007) de diversas substâncias (carboidratos e lipídeos) presentes nos chocolates em diferentes concentrações. Na Figura 1, a linha verde mais baixa é o espectro do padrão de sacarose analisado, este espectro nos mostra uma grande variação de absorbâncias em relação às amostras de chocolates, por ser um composto puro comparado com misturas de complexos orgânicos.

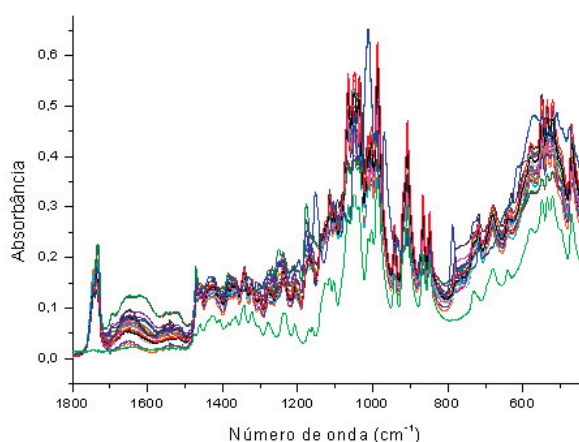


Figura 1- Sobreposição dos espectros FTIR de todas as amostras de chocolate em duplicata, na região entre 1800 e 450 cm^{-1} onde ocorre maior variação nas bandas espectrais

Na Figura 2 é possível observar os "scores" das amostras em duplicatas, da 2ª componente principal contra a 5ª componente principal, mostrando agrupamentos de algumas marcas (em função de características específicas) através das elipses coloridas. A marca 1 é representada pela elipse azul (a única com teores de cacau do produto descritos pelo fabricante), a marca 2 pela elipse vermelha e a marca 3 pela elipse verde. A marca 4 (amostras 15 - 16 e 17 - 18) apresentou-se dispersa em relação a esta distribuição de componentes principais. Os pesos ("loadings") destas componentes mostram apenas variações de

intensidades de absorbância relativas dentro da região entre 1800 e 450 cm^{-1} . Para se confirmar qual componente principal esta relacionada a qual composto, propriedade ou concentração seria necessário um estudo mais completo com padrões analíticos de todos os diferentes componentes presentes nas formulações comerciais dos chocolates estudados, o que não foi possível para este trabalho.

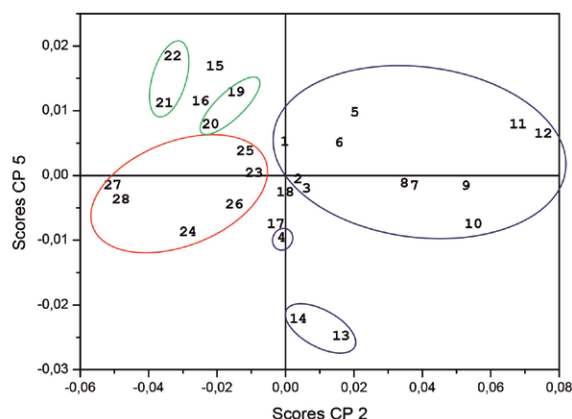


Figura 2- Scores da 2ª componente principal contra a 5ª componente principal

Na Figura 3 é mostrada a distribuição das amostras de chocolate de acordo com a quantidade de sacarose presente nas mesmas. A reta vermelha indica a ordem crescente do aumento da concentração de sacarose nas amostras. A seta aponta para a maior concentração, onde estaria o padrão PA de sacarose, que não esta mostrado nesta figura para não atrapalhar a visualização das demais amostras. Os pesos ("loadings") da 2ª componente principal têm as linhas espectrais mais intensas da sacarose (entre 1500 e 450 cm^{-1}) como característica principal de diferenciação entre as amostras para as concentrações de sacarose. Nesta Figura 3, as amostras 11 e 12 (chocolate amargo com 85% de cacau) têm a menor concentração de

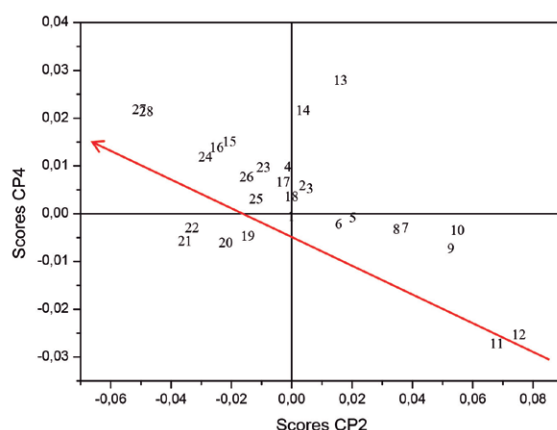


Figura 3- Scores da 2ª componente principal contra a 4ª componente principal

sacarose, seguidas pelas amostras de chocolate amargo 9 - 10 (70% de cacau), 7 - 8 (55% de cacau), e 5 - 6 (41% de cacau), enquanto que no outro extremo da seta vermelha, as amostras 27 e 28 (chocolate ao leite) têm as maiores concentrações de sacarose, cercadas pelas amostras de chocolate branco 15 - 16 e 25 - 26, além do chocolate ao leite 23 - 24.

4 CONCLUSÃO

Este trabalho permite fazer uma análise qualitativa preliminar da quantidade de sacarose presente em amostras comerciais de chocolate. Esta informação nem sempre é encontrada nas embalagens dos alimentos. Os açúcares e gorduras desempenham funções vitais à vida humana, mas seu consumo excessivo pode ocasionar sérios problemas de saúde, portanto faz-se necessário saber quais e quanto de determinados produtos contêm nas embalagens dos alimentos. Estas informações, quando contidas corretamente, são ferramentas importantes para subsidiar escolhas adequadas de alimentos, para que se tenha uma vida saudável. Isso se torna ainda mais relevante para portadores de algum tipo de doença que impõe restrições alimentares, como por exemplo hipertensos e diabéticos.

O procedimento mostrado neste trabalho poderia ser utilizado na indústria de alimentos como uma avaliação alternativa para medição da concentração e/ou homogeneidade da sacarose na massa de chocolate ou no produto acabado através de modelos de calibração multivariada. Poderia ser utilizado também para avaliação e acompanhamento do processo de fabricação durante diferentes etapas. O método de análise PCA permite também classificar amostras de chocolate por fabricante, o que seria útil para identificar amostras desconhecidas em procedimentos forenses, por exemplo.

REFERÊNCIAS

ALCÁCER, L. Textos de apoio a Química-Física. **Determinação da Estrutura Molecular**. Métodos Espectroscópios. AEIST. 2007.

ALMEIDA, L.C. Métodos de Reflectância. In: Espectroscopia no infravermelho na caracterização de compostos orgânicos. 2ª reimpr. Viçosa: Editora UFV, 2007, 220 p.

BLANCO, M.; VILLARROYA, I.; **Trends in Analytical Chemistry**, vol. 21, n. 04, p. 241-250, 2002.

FERRARINI H., **Determinação de teores nutricionais do milho por espectroscopia no infravermelho e calibração multivariada**. Dissertação de mestrado, UFPR, Curitiba, 2004, 125 p.

FOGAÇA, J. Açúcar na Alimentação – **Diabetes e Obesidade**. Saúde na escola. 2012. Disponível em: < <http://brasilecola.uol.com.br/saude-na-escola/conteudo/acucar-na-alimentacao-diabetes-obesidade.htm> >. Acesso em: 8 set. 2016.

LUCIRIO, I., Amargo o chocolate da vez- Ele virou o queridinho. **Revista Viva Saúde**, 2012, Ed. Escala, Publicado em 18 de dezembro de 2012. Disponível em: < <http://revistavivasaude.uol.com.br/saude-nutricao/111/artigo262042-1.asp/> >. Acesso em: 8 set. 2016.

MACIEL, L., Chocolate Faz Bem. **Revista Viva Saúde**, 2014 Ed. Escala, Publicado em 25 de março de 2013. Disponível em: < <http://revistavivasaude.uol.com.br/nutricao/chocolate-faz-bem/239/#> >. Acesso em: 8 set. 2016.

MARTIN, P. **Revista Nutrição em Pauta**. São Paulo, vol. 51, nov./dez. 2001.

MARTIN, P. **Revista Nutrição em Pauta**, São Paulo. n. 77, mar./abr. 2006.

MORGANO M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; FERREIRA, M. M. C.; **Química Nova**, vol. 30, n. 02, p. 346-350, 2007.

MORGANO M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M. M. C.; **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28(1), jan./mar., p.12-17, 2008.

SAUER-LEAL, E.; OKADA, F. M.; PERALTA-ZAMORA, P.; **Química Nova**, vol. 31, n.07, p. 1621-1625, 2008.

SKOOG, D.A; WEST, D.M.; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R.; **Fundamentos de Química Analítica**. 8a. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2012, 1030 p.

SKOOG, D.A; HOLLER, F.J.; CROUCH, S.R.; **Principles of Instrumental Analysis**. 6th. ed., Canada: Thomsom Brooks/Cole, 2007, 1039 p.

STUART, B.; **Infrared spectroscopy: fundamentals and applications**, Australia: Jonh Wiley & Sons, 2004, 480 p.

VOGEL, A.I. **Análise Química Quantitativa**. Reimpressão, Rio de Janeiro: LTC, 2011, 350 p.

WOLKE, R. L. **O que Einstein disse a seu cozinheiro: a ciência na cozinha**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, 2003.