

## ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS DE *WAFFERS* RECHEADOS COM CHOCOLATE AO LEITE E AROMA DE AVELÃ

GIOVANA FELTES<sup>1\*</sup>, PEDRO L. T. D. SILVA<sup>1</sup>, THAIS FEIDEN<sup>1</sup>, SANDRA C. BALLEEN<sup>1</sup>, JULIANA STEFFENS<sup>1</sup>, CLARICE STEFFENS<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos

\*e-mail: giovanafeltes-eal@outlook.com

**RESUMO** - O prazo de validade dos produtos de chocolate recheados pode ser limitado, especialmente se forem submetidos a temperaturas de armazenamento desfavoráveis. O objetivo do trabalho foi avaliar as propriedades físico-químicas e microbiológicas do recheio de chocolate com aroma de avelã durante 60 dias de armazenamento em estufa, com temperaturas de 25 e 40 °C. Foram realizadas análises de umidade, atividade de água, pH, cor e análise microbiológica. Verificou-se que a umidade,  $A_w$  e pH mantiveram-se estáveis durante o armazenamento em ambas temperaturas não apresentando diferença significativa ( $p > 0,05$ ), enquanto que observou-se variação na cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  e  $\Delta E$ ). Os resultados das análises microbiológicas indicaram que todas as amostras mantiveram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação. Portanto, os chocolates apresentaram boas propriedades físico-químicas, apresentando alteração na cor conforme os tratamentos, bons resultados quanto as análises microbiológicas.

### INTRODUÇÃO

O chocolate é um dos alimentos mais populares consumido por pessoas de todas as idades. A experiência sensorial única que o chocolate cria está relacionada ao perfil de derretimento na boca, bem como odor e sabor específicos (propriedades do aroma). Para o aroma de chocolate, o cacau presente na formulação e no processo de produção é muito importante para a fabricação do produto com as características de qualidade desejadas. (Braga *et al.*, 2018; Toker *et al.*, 2020).

O chocolate tem por definição é o produto preparado com cacau obtido por processo tecnológico adequado e açúcar, podendo conter outras substâncias alimentícias aprovadas, sendo que estes produtos podem conter variações dependendo de como forem produzidos e os adicionais a serem incrementados (Brasil, 1978).

O consumo médio anual de chocolate de cada brasileiro é de aproximadamente 2,5 kg, o equivalente a 16 barras desse produto. A

região sul do país detém a maior taxa de consumo, com um consumo anual aproximado de 4,5 kg (Pekic, 2014). No entanto, este nível de consumo pode potencialmente levar a complicações de saúde, incluindo diabetes, colesterol elevado, níveis elevados de triglicérides e obesidade. Isso se deve principalmente ao alto teor calórico e à presença de gorduras saturadas no chocolate.

O prazo de validade dos produtos de chocolate recheados pode ser limitado, especialmente se forem submetidos a temperaturas de armazenamento desfavoráveis. A estabilidade do produto também é afetada pelas propriedades físicas dos ingredientes não lipídicos (tamanho, forma e superfície química do açúcar, sólidos lácteos e sólidos de cacau). A migração de lipídios e etanol do recheio para a casca do chocolate é um fator chave que afeta o prazo de validade dos produtos compostos (Hřivna *et al.*, 2021).

A previsão do *shelf-life* de um produto não é uma tarefa fácil, pois é necessário ter informações sobre o alimento a ser

conservado, como as principais reações de deterioração, além de conhecer o a capacidade de multiplicação de micro-organismos (Moura *et al.*, 2007). Desse modo, alguns fatores, intrínsecos e extrínsecos, podem influenciar o *shelf-life* do produto, com atividade de água, pH, nutrientes, temperatura, umidade, embalagem, estocagem e transporte (Schneider *et al.*, 2018).

As alterações que ocorrem em alimentos podem ser divididas em físicas, químicas e microbiológicas, migração de umidade entre o produto e o ambiente de estocagem, reações de oxidação e degradação do aroma e textura, bem como deterioração microbiológica, respectivamente, são exemplos de alterações que podem ocorrer (Schneider *et al.*, 2018). Algumas propriedades dos alimentos, como pH e atividade de água estão relacionados com a multiplicação microbiana. Por isso existe a necessidade de garantir a qualidade e segurança ao consumidor.

Informações sobre o *shelf-life* são necessárias durante o desenvolvimento e lançamento no mercado de novos produtos. Muitos produtos tem vida de prateleira prolongada, desse modo ocorre a aplicação de Testes Acelerados de Vida de Prateleira (TAVP), o qual é realizado testes acelerados, afim de verificar formas de deterioração que poderão limitar a vida de prateleira do produto (Moura 2023).

Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar as características físico-químicas e microbiológicas do recheio de chocolate aromatizado com avelã sob duas temperaturas de armazenamento, 25 e 40 °C.

## METODOLOGIA

As análises físico-químicas realizadas foram de umidade, atividade de água, pH, cor e análises microbiológicas

### pH

Foi diluído, em um béquer, 1 g de amostra de recheio em 25 mL de água destilada para posterior medição do pH.

### Cor

Os parâmetros de cor foram avaliados usando um colorímetro (CR-400, Osaka,

Japão) usando o diagrama de cores tridimensional ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ), onde a coordenada  $L^*$  representa a luminosidade da amostra, variando de 0 (escuro) a 100 (claro),  $a^*$  indica cromaticidade variando de verde (- 80) a vermelho (+ 100) e  $b^*$  mostra cromaticidade variando de azul (- 50) a amarelo (+70).

O  $\Delta E$  (variação dos parâmetros de cor em relação ao controle) e IE (índice de escurecimento) foram calculados de acordo com as Equações 1 e 2 (Azab, Almoselhy, & Mahmoud, 2022).

$$\Delta E = [(a - a_0)^2 + (L - L_0)^2 + (b - b_0)^2]^{1/2} \quad (1)$$

$$IE = \frac{100}{0.17} [(a^* + 1.75 L^*) / (5.645L^* + a^* - 3.012b^*) - 0.31] \quad (2)$$

### Atividade de água

A atividade de água foi medida através de leitura com equipamento AquaLab (modelo 4TE). Foi utilizado em torno de 1,5 g de recheio para cobrir completamente o fundo do recipiente de análise.

### Umidade

A análise de umidade foi feita utilizando o equipamento analisador de umidade por infravermelho da Prolab (Marte), foram utilizadas de 3 g de recheio de chocolate, espalhada em “prato” metálico e este levado ao equipamento para a leitura de umidade.

### Análise microbiológica

As análises microbiológicas de bactérias mesófilas, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp e *Staphylococcus coagulase* positiva foram realizadas de acordo com APHA, ISO 6888-1-999, 6888-1/A1-2004 e ISO 6579-1-2017.

### Análise estatística

Foram realizada triplicatas de todas as análises. Os resultados físico-químicos foram avaliados quanto a diferenças entre as médias por análise de variância (ANOVA), seguida pelos testes de Tukey e T de Student ( $P < 0,05$ ) utilizando o SAS M, versão 4.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Caracterização das amostras

Verificou-se que as amostras não apresentaram diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre si nas diferentes temperaturas e tempos de armazenamento (Tabela 1). Em relação ao pH, os alimentos levam a seguinte classificação: muito ácidos ( $\text{pH} < 4,0$ ); ácidos ( $4,0 < \text{pH} < 4,5$ ) e pouco ácidos ( $\text{pH} > 4,5$ ) (Azeredo *et al.*, 2012), dessa forma as amostras de recheio de chocolate estudadas classificam-se como pouco ácidas.

Um dos fatores relevantes para a sobrevivência dos microrganismos é a presença de água, medida pela atividade de água ( $a_w$ ). Durante o armazenamento a diferentes temperaturas não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) no teor de umidade e atividade de água das amostras (Tabela 1). O teor de umidade do recheio está associado diretamente a umidade presente nos ingredientes e/ou no processamento do chocolate.

Tabela 1: Características físico-químicas do recheio de chocolate armazenados em 25 e 40 °C.

T (°C)	Tempo de armazenamento (dias)				
	1	15	30	45	60
<b>pH</b>					
25	6,29 <sup>aA</sup> ± 0,08	6,33 <sup>aA</sup> ± 0,08	6,32 <sup>aA</sup> ± 0,04	6,30 <sup>aA</sup> ± 0,05	6,27 <sup>aA</sup> ± 0,03
40	6,44 <sup>aA</sup> ± 0,08	6,40 <sup>aA</sup> ± 0,07	6,38 <sup>aA</sup> ± 0,06	6,34 <sup>aA</sup> ± 0,08	6,23 <sup>aA</sup> ± 0,10
<b>Atividade de água</b>					
25	0,487 <sup>aA</sup> ± 0,04	0,476 <sup>aA</sup> ± 0,04	0,466 <sup>aA</sup> ± 0,03	0,453 <sup>aA</sup> ± 0,04	0,452 <sup>aA</sup> ± 0,03
40	0,512 <sup>aA</sup> ± 0,05	0,509 <sup>aA</sup> ± 0,03	0,510 <sup>aA</sup> ± 0,03	0,502 <sup>aA</sup> ± 0,05	0,495 <sup>aA</sup> ± 0,03
<b>Umidade (%)</b>					
25	0,28 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,29 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,28 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,29 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,28 <sup>aA</sup> ± 0,01
40	0,30 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,29 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,29 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,30 <sup>aA</sup> ± 0,01	0,28 <sup>aA</sup> ± 0,01

Médias (± desvio padrão) seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey e T student, respectivamente.

Em relação a  $a_w$ , os alimentos podem ser classificados em alto ( $> 0,85$ ), intermediário ( $0,60 > A_w < 0,85$ ) e baixo ( $< 0,60$ ) (Azeredo *et al.*, 2012). Os resultados da análise de  $a_w$  não evidenciaram alterações no decorrer do tempo, sugerindo que o produto se manteve estável. Sendo assim, a probabilidade da ocorrência de micro-organismos no produto é relativamente baixa.

A cor em chocolates recheados se deve aos ingredientes e as mudanças no processo, bem como referência às condições de armazenamento e validade, servindo de auxílio a percepção do consumidor em relação a

textura, o odor, sabor, entre outros atributos de aparência. O controle dessa variável é imprescindível à qualidade do produto.

A variação de cor (Tabela 2) ao longo da estocagem esteve associada principalmente à redução de sua luminosidade ( $L^*$ ) e aumento do  $a^*$  e  $b^*$ . Valores baixos para luminosidade ( $L^*$ ) indicam menor reflectância da luz para os parâmetros de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ , fenômeno característico de substâncias escuras. O aumento da luminosidade pode estar associado a difusão de fases do chocolate e aumento de oxidação.

Tabela 2: Resultados da análise de cor do recheio de chocolate com aroma de avelã armazenado durante 60 dias.

T (°C)	Tempo de armazenamento (dias)				
	1	15	30	45	60
<b>L*</b>					
25	29,65 <sup>ab</sup> ± 0,02	29,47 <sup>bb</sup> ± 0,03	29,34 <sup>cb</sup> ± 0,02	29,18 <sup>db</sup> ± 0,01	29,09 <sup>ea</sup> ± 0,02
40	29,99 <sup>aA</sup> ± 0,01	29,94 <sup>bA</sup> ± 0,01	29,71 <sup>cA</sup> ± 0,02	29,52 <sup>dA</sup> ± 0,02	28,89 <sup>eB</sup> ± 0,02
<b>a*</b>					
25	1,45 <sup>cA</sup> ± 0,01	1,49 <sup>bb</sup> ± 0,02	1,50 <sup>abB</sup> ± 0,02	1,52 <sup>abB</sup> ± 0,02	1,54 <sup>ab</sup> ± 0,02
40	1,43 <sup>dA</sup> ± 0,02	1,54 <sup>cA</sup> ± 0,02	1,56 <sup>bcA</sup> ± 0,01	1,58 <sup>abA</sup> ± 0,01	1,61 <sup>aA</sup> ± 0,03
<b>b*</b>					
25	-4,75 <sup>cA</sup> ± 0,03	-4,79 <sup>bcA</sup> ± 0,03	-4,84 <sup>bA</sup> ± 0,03	-4,91 <sup>aA</sup> ± 0,02	-4,94 <sup>aA</sup> ± 0,02
40	-4,48 <sup>dB</sup> ± 0,02	-4,79 <sup>cA</sup> ± 0,02	-4,83 <sup>cA</sup> ± 0,02	-4,87 <sup>bA</sup> ± 0,02	-4,93 <sup>aA</sup> ± 0,02

Médias (± desvio padrão) seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey e T student, respectivamente.

As condições de armazenamento podem levar ao desenvolvimento de *bloom* gordura ou *bloom* açúcar, cada um dos quais compromete tanto o aspecto visual quanto o sabor do chocolate (Nightingale, Cadwallader, & Engeseth, 2012). Esses fatores podem estar ocorrendo nas amostras do recheio do chocolate armazenadas a diferentes

temperaturas, onde verificou-se mudanças na cor (L\*, a\* e b\*).

O índice de escurecimento representa a pureza da cor marrom e está associado ao escurecimento e a diferença total de cor é uma combinação dos valores L\*, a\* e b\*, que caracteriza a variação de cor durante o armazenamento.

Tabela 3: Resultados da diferença total de cor e índice de escurecimento do recheio de chocolate com aroma de avelã durante o armazenamento.

T (°C)	Tempo de armazenamento (dias)				
	1	15	30	45	60
<b>ΔE</b>					
25	-	0.0188 <sup>dA</sup> ± 0,0005	0.05535 <sup>cA</sup> ± 0,0002	0.1291 <sup>bA</sup> ± 0,0003	0.1829 <sup>ab</sup> ± 0,0001
40	-	0.0073 <sup>dB</sup> ± 0,0001	0.04845 <sup>cb</sup> ± 0,0001	0.1249 <sup>bb</sup> ± 0,0008	0.631 <sup>aA</sup> ± 0,0013
<b>IE</b>					
25	171.67 <sup>aA</sup> ± 1,63	171.53 <sup>aA</sup> ± 1,23	171.37 <sup>aA</sup> ± 1,12	171.16 <sup>aA</sup> ± 1,13	171.09 <sup>aA</sup> ± 1,05
40	171.57 <sup>aA</sup> ± 1,24	171.80 <sup>aA</sup> ± 0,89	171.66 <sup>aA</sup> ± 0,83	171.53 <sup>aA</sup> ± 1,06	171.21 <sup>aA</sup> ± 1,04

Médias (± desvio padrão) seguidas pelas mesmas letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna não apresentam diferença significativa ao nível de 5% pelo teste de Tukey e T student, respectivamente.

No ΔE (Tabela 3) foi verificado um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) com o tempo de armazenamento, indicando uma mudança

de cor em relação a amostra de referência (escurecimento). Para o IE (Tabela 3) observou-se que a amostras não apresentaram

diferença significativa durante a estocagem ( $p > 0,05$ ), isso indica que permaneceram estáveis, pois mudanças nesse índice indica início da degradação dos poli fenóis do chocolate em pigmentos marrons (Bertrand, El Boustany, Faulds, & Berdagué, 2018).

### Acompanhamento do *shelf-life*

A partir do resultados obtidos, verificou-se que alguns parâmetros físico-

químicos não foram significativos durante o armazenamento, como pH, Aw e umidade, não sendo adequado para aplicação do modelo matemático de Arrhenius. Entretanto, os parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) mostraram alterações importantes no decorrer do tempo, podendo ser aplicado o modelo matemático, conforme ilustra a Figura 1.

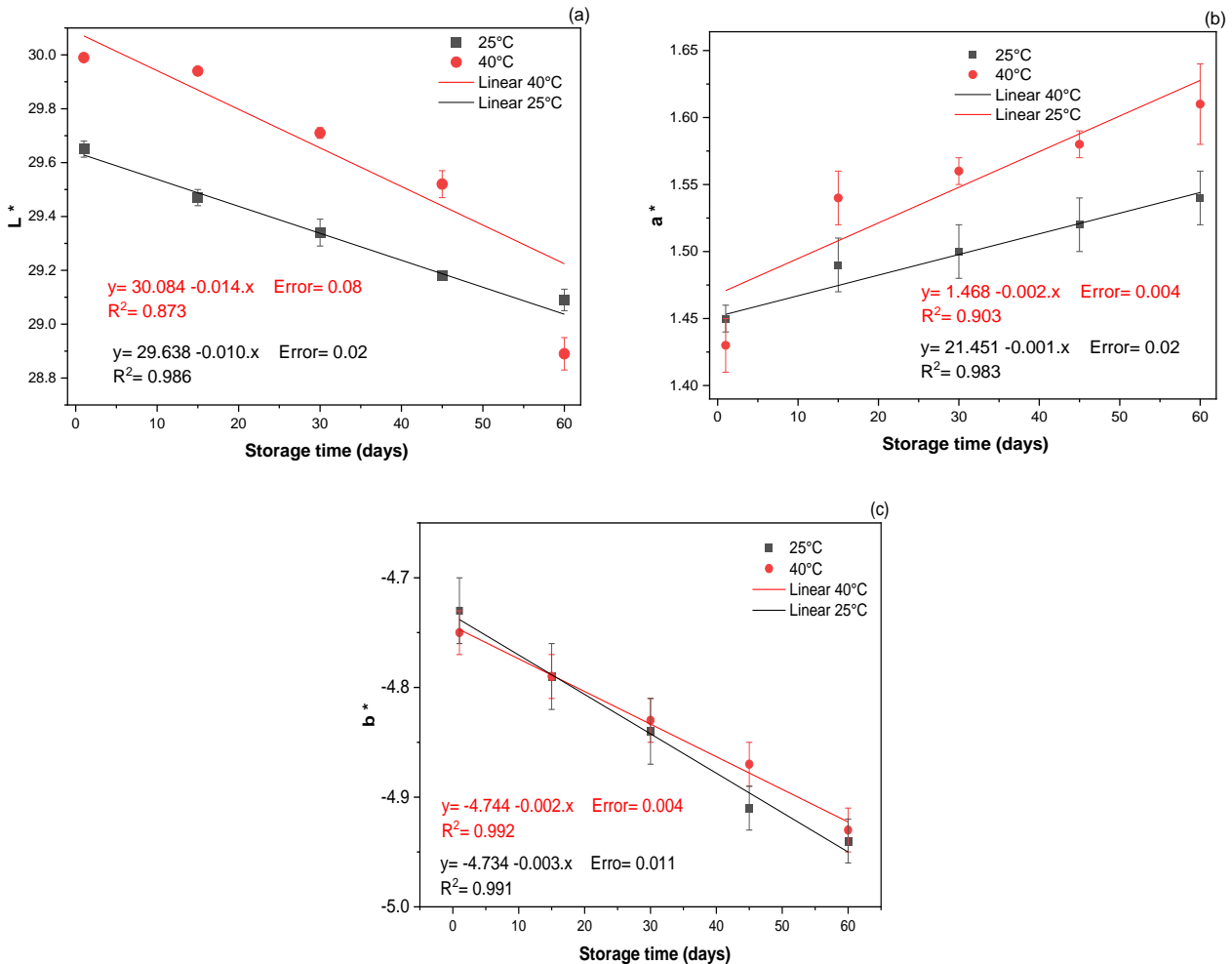


Figura 1: Modelo cinético para degradação da cor  $L^*$  (a),  $a^*$  (b) e  $b^*$  (c) nas temperaturas de 25 e 40°C.

A partir das equações de regressão linear obtidas do modelo cinético da cor, obtiveram-se as constantes da velocidade de reação ( $k$ ) para as temperaturas de armazenamento. Dessa forma verificou-se que a reação é de primeira ordem. O gráfico foi obtido (Figura 2), plotando-se o valor do logaritmo das constantes de velocidade de reação ( $\ln k$ ), na ordenada, em função do

inverso da temperatura absoluta ( $1/T$ ), na abcissa em escala linear, indicando que essa equação segue o modelo de Arrhenius.

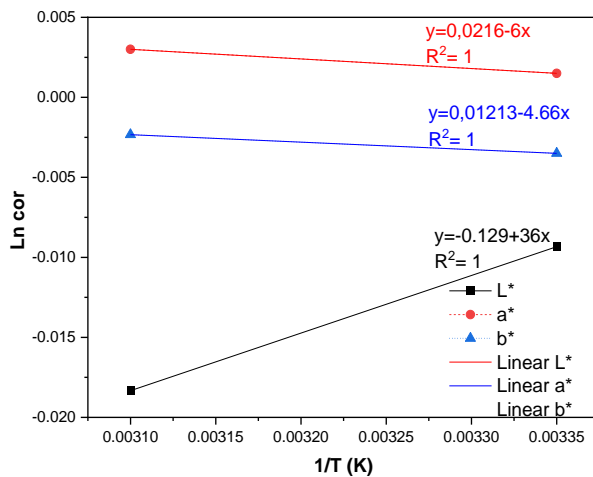


Figura 2: Efeito da temperatura na constante de taxa de degradação da cor ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) do waffer de chocolate recheado.

A determinação da energia de ativação (Ea) foi obtida pelo cálculo do coeficiente

angular da curva linearizada da equação de Arrhenius, levando-se em consideração a constante dos gases ideais ( $R = 1,987 \text{ cal/mol.K}$ ) obtendo-se valores de 0,010, 0,006 e  $6,49 \times 10^{-5} \text{ kcal/mol.K}$ , para cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ , respectivamente.

### Análise microbiológica

De acordo com a Resolução-RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001, para chocolate e produtos similares em barra ou na forma de bombom, com acréscimo ou não de outros ingredientes secos, devem ser analisados níveis de coliformes a  $45^\circ\text{C}$  e *Salmonella* spp. (Brasil, 2001). Os resultados das análises microbiológicas (Tabela 5) indicaram que todas as amostras dos recheios de chocolate mantiveram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela legislação.

Tabela 5: Análises microbiológicas do recheio de chocolate com aroma de avelã em diferentes temperaturas (25 e  $40^\circ\text{C}$ ).

Micro-organismos	Tempo de armazenamento (dias)				Referência*
	1 dia		60 dias		
	$25^\circ\text{C}$	$40^\circ\text{C}$	$25^\circ\text{C}$	$40^\circ\text{C}$	
Contagem de coliformes termotolerantes a $45^\circ\text{C}$ (UFC/g)	$<1,0 \times 10^1$	$<1,2 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,8 \times 10^1$	$1,0 \times 10^1$
Contagem <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC/g)	$<1,0 \times 10^1$	$<1,3 \times 10^1$	$<1,0 \times 10^1$	$<1,5 \times 10^1$	$5,0 \times 10^1$
Detecção de <i>Salmonella</i> spp. (25g)	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência	Ausência/25g

\*Brasil (2001).

### CONCLUSÃO

O waffer recheado de chocolate com aroma de avelã manteve suas características físico-químicas inalteradas ao longo de 60 dias de armazenamento a 25 e  $40^\circ\text{C}$ , garantindo condições microbiologicamente seguras para consumo. Utilizando o modelo de Arrhenius foi possível obter a energia de ativação para os componentes de cor  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

### NOMENCLATURA

Aw- Atividade de água  
 $a^*$ - Cromaticidade variando de verde a vermelho  
 $b^*$ - Cromaticidade variando de azul a amarelo  
 cal/mol.K- Caloria por mol kelvin  
 g- Grama  
 IE- Índice de escurecimento  
 kcal/mol.K- Quilocaloria por mol-kelvin  
 Kg- Quilograma

Kg/ano- Quilograma por ano  
 L\*- Luminosidade  
 mL- Mililitro  
 UFC- Unidade formadora de colônia  
 $\Delta E$ - Diferença total de cor  
 %- Porcentagem

## REFERÊNCIAS

- AZAB, D. E.-S. H., ALMOSELHY, R. I. M., & MAHMOUD, M. H. (2022). Improving the quality characteristics of low fat toffee by using mango kernel fat, pectin, and high-speed homogenizer. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(12), e17235.
- AZEREDO, H. M. C. (2012). Fundamentos de estabilidade de alimentos. Embrapa Agroindústria Tropical.
- BERTRAND, E., EL BOUSTANY, P., FAULDS, C. B., & BERDAGUÉ, J.-L. B. T.-R. M. IN F. S. (2018). The Maillard reaction in food: an introduction. Elsevier.
- BRAGA, S. C. G. N., OLIVEIRA, L. F., HASHIMOTO, J. C., GAMA, M. R., EFRAIM, P., POPPI, R. J., & AUGUSTO, F. (2018). Study of volatile profile in cocoa nibs, cocoa liquor and chocolate on production process using GC  $\times$  GC-QMS. *Microchemical Journal*, 141, 353–361.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução N° 12, de 30 de março de 1978, Brasília, 1978.
- BRASIL. (2001). Resolução- RDC n° 12, de 02 de janeiro de 2001. ANVISA.
- HŘIVNA, L., MACHÁLKOVÁ, L., BUREŠOVÁ, I., NEDOMOVÁ, Š., & GREGOR, T. (2021). Texture, color, and sensory changes occurring in chocolate bars with filling during storage. *Food Science & Nutrition*, 9(9), 4863–4873.
- MOURA, S.; BARBARI, S. A.; GERMER, S. P. M.; ALMEIDA, M. E. M. (2007), Determinação da vida-de-prateleira de maçã-passa por testes acelerados. *Food Science and Technology*, 27 (1).
- MOURA, S. C. S. R. (2023), Shelf life de alimentos e testes acelerados para estimativa de prazo de validade, *Food Safety Brazil*.
- NIGHTINGALE, L. M., CADWALLADER, K. R., & ENGESETH, N. J. (2012). Changes in dark chocolate volatiles during storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.  
<https://doi.org/10.1021/jf204718z>
- PEKIC, V. (2014). Brazilian premium choc market to grow 26% by 2020 as middle class buys in.
- SCHENEIDER, D.; RASCH, D.; DEWES, D. C.; SOUZA, E. D.; KORBES, J.; HAMMES, L. D.; PILETTI, R. (2018), Determinação de vida-de-prateleira de produtos alimentícios, 5°AGROTEC, UCEFF.
- TOKER, O. S.; PALABIYIK, I.; PIROUZIAN, H. R.; AKTAR, T.; KONAR, N. (2020), Chocolate aroma: Factors, importance and analysis. *Trends in Food Science & Technology*, v. 99, 2020, p. 580-592.