



Avaliação do padrão de qualidade microscópica em amostras comerciais de achocolatados

Andressa Carvalho Câmara Januário¹, Nadinne Medeiros Assis², Camilla Ribeiro Ruback³,
Ivanilton Almeida Nery⁴ e Carlos Alexandre Marques⁵

Os processos de beneficiamento, manipulação, estocagem e transporte do cacau e seus produtos favorecem sua contaminação. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi a identificação de sujidades e possíveis fraudes, em amostras de achocolatados distribuídos comercialmente. Foram analisadas três marcas de achocolatados em pó de diversos lotes adquiridos em estabelecimentos comerciais das cidades do Rio de Janeiro e Nilópolis, RJ. Na análise microscópica foram encontradas sujidades leves como 15 hifas, três fragmentos de inseto, 17 pelos e 284 fragmentos vegetais em todas as amostras. A extração de partículas metálicas baseou-se no princípio da atração magnética por ímãs, sendo avaliadas, em seguida, pela técnica de Espectroscopia de Energia Dispersiva, acoplada ao microscópio eletrônico de varredura, onde foram detectados elementos químicos distintos, com predominância do Ferro (Fe).

Palavras-chave: Qualidade; Microscopia alimentar; Sujidades; Achocolatados.

Evaluation of microscopic quality standard in chocolate powder commercial samples

Processes for processing, handling, storing and transporting cocoa and its products, favor its contamination. Therefore, the objective of this paper was to identify dirt and possible fraud in samples of commercial chocolate powder. Three brands from different batches purchased in commercial establishments of Rio de Janeiro and Nilópolis counties, RJ, Brazil were analyzed. In the light microscopic analysis, dirt such as 15 fungi hyphae, three insect fragments, 17 hairs and 284 plant fragments were found in all samples. The extraction of metallic particles was based on the principle of magnetic attraction by magnets, later evaluated by the Dispersive Energy Spectroscopy technique, coupled to the scanning electron microscope, where different chemical elements were detected, with predominance of Iron (Fe).

Keywords: Quality; Food microscopy; Dirt; Chocolate powder.

Submetido em: 03/04/2021

Aceito em: 18/08/2021

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis, RJ. ID ORCID: 0000-0001-7120-5968

² Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis, RJ. ID ORCID: 0000-0002-2503-3381

³ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis, RJ. ID ORCID: 0000-0001-6805-4177

⁴ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis, RJ. ID ORCID: 0000-0003-0595-1684

⁵ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), *campus* Nilópolis, RJ. ID ORCID: 0000-0001-8578-709X. Endereço para correspondência: Rua Cel. Délio Menezes Porto nº 1045, Centro, Nilópolis, RJ. CEP: 26.530-060. E-mail: carlos.alexandre@ifrj.edu.br

INTRODUÇÃO

A microscopia alimentar é uma área do controle de qualidade que pesquisa, tanto a presença de elementos histológicos característicos de cada produto, quanto outras matérias estranhas, denominadas sujidades, que possam estar presentes no alimento^[1].

A presença de sujidades é um indicativo de falhas nas boas práticas de fabricação, assim como alterações sensoriais. As sujidades podem ser classificadas em macroscópicas ou microscópicas, sendo de natureza diversa. Entre os diferentes tipos de sujidades, destacam-se as matérias estranhas que indicam riscos à saúde humana que são aquelas capazes de veicular, para os alimentos, os agentes patogênicos ou de causar danos diretos para o consumidor, como fragmentos ou excrementos de animais vetores, fragmentos metálicos, objetos rígidos, pontiagudos ou cortantes^[2]. Dessa forma, a microscopia alimentar é um importante instrumento de suporte aos órgãos de vigilância sanitária. Por isso, estudos de microscopia alimentar, bem como de outras técnicas relacionadas, podem contribuir para a melhoria, não só dos produtos alimentícios, mas para a prevenção de eventuais problemas de saúde associados ao consumo de alimentos contaminados^[3].

Para a produção e comercialização de alimentos é necessário que os aspectos que comprometem a qualidade do produto sejam controlados, implicando na implantação de sistemas de trabalho e monitoramento das etapas do processo produtivo e do produto final^[4].

A necessidade de normatização dos procedimentos para a fabricação de alimentos e o estabelecimento de padrões de identidade e qualidade propiciaram o surgimento e o aprimoramento das leis referentes aos alimentos^[5].

Achocolatados são produtos em pó e instantâneos, consumidos quando acrescidos de leite e possuem cerca de 70% de sacarose ou outros açúcares, e cerca de 30% de cacau em pó. Tornam-se preferência por possuírem rápida reconstituição e praticidade, seu enriquecimento nutricional faz com que esse produto atenda principalmente o público infantil^[7].

O mercado possui grande disponibilidade deste produto, variando no seu processamento, formas de apresentação, concentrações de ingredientes, funcionalização do alimento e apelos comerciais. A variedade de marcas e preços viabiliza e amplifica o consumo.

Em busca de alimentos seguros, tencionando o aperfeiçoamento dos produtos oferecidos no mercado brasileiro, os parâmetros que determinam a qualidade higiênico-sanitária de um alimento industrializado podem ser avaliados através da qualidade do produto final, por meio de análises laboratoriais, já previstas na legislação, a fim de detectar possíveis inconformidades^[6].

A avaliação da sanidade e qualidade de achocolatados comerciais é de suma importância já que este tipo de produto é amplamente consumido e vem sendo constantemente modificado para atender a demanda por alimentos nutricionalmente funcionais, práticos e economicamente acessíveis. Há grande carência de estudos nesta área, sobretudo estudos que levam em consideração os parâmetros registrados pela nova legislação vigente no Brasil, onde grandes mudanças relativas aos padrões de qualidade dos produtos comerciais foram efetivadas.

Baseando-se nas informações anteriormente expostas considera-se, como objetivos do presente trabalho, verificar a eventual presença de matérias estranhas através de análises por microscopia fotônica e de varredura (MEV), além da detecção de elementos químicos, por meio de um dispositivo

de raios-X (EDS), acoplados ao MEV, em amostras comerciais de achocolatados vendidas nos municípios do Rio de Janeiro e de Nilópolis, RJ.

METODOLOGIA

Foram adquiridas 8 amostras de achocolatados de 3 marcas diferentes e 3 lotes distintos das marcas A e C, além de 2 lotes distintos da marca B, todas dentro do prazo de validade, obtidos em supermercados e padarias nos municípios do Rio de Janeiro e Nilópolis (Quadro 1).

As análises de sujidades foram realizadas no Laboratório de Microscopia do IFRJ, *campus* Nilópolis, utilizando-se o método de flutuação nº 965.38a, descrito pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC)^[8], além de um Método do Instituto Adolfo Lutz, conforme especificado na legislação vigente no Brasil - RDC nº 14, seção II, art. 13, §1º e §2º^[2]. Para detecção de amido nas amostras, foi realizado teste com lugol, conforme mencionado^[8]. Para o teste com lugol, uma pequena alíquota de cada amostra foi colocada em lâmina de vidro transparente para microscopia, onde pingou-se 1 a 2 gotas do reagente que é formado pela de solução de iodo 0,5% em água, adicionada de iodeto de potássio a 1% por, aproximadamente, 5 minutos. Posteriormente, cobriu-se o material com uma lamínula de vidro (22 x 22 mm e 0,17mm de espessura) antes de ser feita a observação ao microscópio fotônico^[9].

A fim de analisar a presença de irregularidades como rasgos, furos e sujidades aderidas, as embalagens foram analisadas ao microscópio estereoscópico binocular (Astral Científica, modelo Edutec 505, Curitiba, Brasil), nos aumentos de 20 e 40X. As sujidades encontradas foram isoladas entre lâminas e lamínulas de vidro transparente para microscopia, usando-se solução aquosa de glicerina 50% como meio de montagem, sendo posteriormente analisadas ao microscópio

fotônico binocular (Ernst, modelo Leitz dfv HM-LUX, Wetzlar, Alemanha ou Alltion, modelo ABM 103, Wuzhou, China), com câmera fotográfica digital acoplada, onde foram obtidos registros fotográficos em diferentes aumentos (40, 64, 100, 160, 400 ou 640X).

Nas amostras armazenadas em sachês, cortou-se a embalagem em duas partes com o auxílio de uma tesoura ou estilete. Estas partes foram acondicionadas em placa de Petri de vidro transparente e em seguida, analisadas ao microscópio estereoscópico, do mesmo modelo já citado, utilizando-se fundo escuro e aumento total de 40X. Nas amostras armazenadas em latas, foi analisada a tampa externa, o lacre metálico subjacente à tampa ao microscópio estereoscópico (Astral Científica, modelo Edutec 505, Curitiba, Brasil), nos aumentos de 20 e 40X, além da própria embalagem em lata.

Em amostras que apresentaram resíduos excessivos foi realizada hidrólise ácida, conforme descrito *a posteriori*. As sujidades leves, retidas na fase que contém heptano, seguiram posteriormente para filtração a vácuo^[8].

A amostra foi quarteada até a obtenção de um quartil de 100 g em um béquer de 1 litro, onde foram adicionados 600 mL de água destilada, agitando-se por cerca de 5 minutos com um bastão de vidro. A solução obtida foi filtrada em seguida, utilizando-se um tamis de 60 mesh SP Labor, São Paulo, Brasil. Quando necessário, o resíduo foi lavado com jatos de água aquecida a aproximadamente 37° C.

As amostras que não apresentaram resíduo excessivo foram diretamente filtradas a vácuo, usando-se bomba de vácuo modelo 131 tipo 2VC, Fabbe Center, São Paulo, SP, Brasil. O material obtido na filtração foi seco em estufa à 50°C durante duas horas, sendo em seguida resfriado a temperatura ambiente para posterior análise ao microscópio fotônico. As sujidades encontradas foram acondicionadas em lâminas semipermanentes, contendo solução aquosa de

glicerina 50%, como meio de montagem, sendo posteriormente analisadas ao microscópio fotônico, cuja marca já foi anteriormente mencionada^[3].

Em amostras que apresentaram resíduo excessivo (C1, C2, C3) aplicou-se o método de hidrólise ácida descrito no método de flutuação nº 965.38 a (16.201) da AOAC^[8]. Para tal, transferiu-se o resíduo para um Béquer, adicionando-se 50 mL de HCl 5% em água, 15 mL de heptano e água aquecida (60°C) até completar 100 mL. Aqueceu-se por 20 minutos, mantendo-se a temperatura constante a 60°C, agitando-se ocasionalmente com bastão de vidro.

Realizou-se uma filtração a vácuo e, em seguida, o material obtido foi seco em estufa de secagem Brasdonto, modelo 5, Paulínia, SP, Brasil a 50°C durante duas horas, posteriormente resfriado a temperatura ambiente até a estabilização da temperatura. As sujidades encontradas foram montadas entre lâminas e lamínulas de vidro com solução aquosa de glicerina 50%, como meio de montagem, sendo posteriormente analisadas ao microscópio fotônico das mesmas marcas já mencionadas^[3].

Após a retirada de um quartil para análise pelo método de flutuação nº 965.38 a (16.201) da AOAC^[8], os quartis restantes foram tamisados. As malhas utilizadas foram respectivamente 60, 80 e 100 mesh da SP Labor, São Paulo, Brasil. As frações obtidas foram triadas ao microscópio estereoscópico, nos aumentos de 20 e 40 X. As sujidades encontradas foram acondicionadas entre lâminas e lamínulas de vidro com solução aquosa de glicerina 50%, como meio de montagem, posteriormente sendo analisadas ao microscópio fotônico cujas marcas foram já mencionadas^[9].

Após a filtração no tamis de 60 mesh, o sobrenadante foi agitado com uma barra magnética. A barra magnética foi retirada com o auxílio de uma pinça metálica, transferida para

um vidro de relógio e em seguida examinada ao microscópio estereoscópico, nos aumentos de 20 e 40X.

Ao observar a presença de elementos metálicos, os mesmos foram separados da barra magnética através de filtração a vácuo com auxílio de jatos de água intermitentes. O papel de filtro com o material retido foi seco em estufa por 2 horas e depois resfriado até a temperatura ambiente. O papel de filtro foi pesado antes e depois da filtração. Através da diferença de peso quantificou-se o material metálico obtido. Foi realizada análise no microscópio eletrônico de varredura – MEV (Phenom World, modelo Pro-X, Netherlands, Holanda) do laboratório de microscopia do IFRJ *campus* Nilópolis. A identificação e o percentual de elementos químicos obtidos foram feitas através do equipamento de Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) para microanálise de raios-x, (Phenom World, Netherlands, Holanda) acoplado ao MEV. Os elementos metálicos retidos na etapa anteriormente descrita foram montados em fita dupla face da marca 3M e grafite coloidal em *stubs* de alumínio com diâmetro de 12,7 mm, ambos da marca Ted Pella Inc., sendo analisados no MEV, com porta amostra redutor de carga, sem necessidade de metalização das amostras. O canhão de elétrons foi configurado no modo imagem em 10 kV, para geração de eletromicrografias e 15 kV point para o EDS^[10].

Após análise pelo método de tamisação foi retirada da fração contendo fragmentos menores (retidos nas peneiras com menores mesh), uma pequena alíquota de amostra referente à ponta de uma espátula, em seguida adicionados a uma lâmina. Acrescentou-se Lugol e, em outra lâmina, adicionou-se Sudan III, a fim de detectar a presença de amido e lipídios, respectivamente. As lâminas foram, posteriormente, cobertas com lamínulas de vidro para subsequente observação ao microscópio fotônico^[3].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da análise microscópica, feita por meio do método AOAC de solução-dispersão[8], foram obtidos resultados que estão relacionados no quadro 1. Após a execução do método, as amostras C1, C2 e C3 que apresentaram resíduo excessivo (resíduo visível a olho nu) apresentaram grandes quantidades de fragmentos vegetais.

Foram encontrados fragmentos vegetais em todas as amostras utilizando-se ambos os métodos (Figuras 2, 4, 5). Durante a análise as amostras C1, C2 e C3 apresentaram grandes quantidades de fragmentos vegetais, no entanto, seguiu-se considerando a alíquota de 1g de cada amostra (Quadro 1).

Os resultados obtidos através da microscopia ótica com auxílio do método da tamisação estão relacionados no quadro 1. O conteúdo lipídico encontrado em alguns desses fragmentos são característicos da matéria-prima (Figura 1). Esses fragmentos podem sugerir o emprego de novas tecnologias para promover melhorias nesse sentido (Figuras 2, 6 e 7). Sabe-se que condições inadequadas de armazenamento do produto, antes e após o

envase, podem levar à contaminação por insetos, fato que justificaria os fragmentos encontrados (Figura 6).

Além das fibras isoladas e em grupos, tipicamente encontradas em quaisquer alimentos de origem vegetal (Figuras 3 e 4), foram encontrados fragmentos de testas de sementes de cacau em todas as amostras analisadas. Além disso foram identificadas cascas de semente de cacau, fragmentos de milho, e fragmentos de açúcar queimado em todas as amostras, conforme se pode observar na figura 5. Esse tipo de adulteração não é exclusivo dos achocolatados. Assis, Marques e Silva^[11] encontraram, em amostras comerciais de café, fragmentos de milho, arroz, caramelo de açúcar, cacau e soja como adulterantes significativos. Anteriormente, através da Resolução – CNNPA nº 12, de 1978^[12], as testas de sementes de cacau eram proibidas em produtos derivados por serem consideradas como contaminante. Entretanto esta decisão foi revogada pela RDC nº 227 de 28/08/2003^[13] que em seguida foi revogada pela RDC nº 264 de 22/09/2005^[14]. Nestas últimas resoluções não há especificações para ocorrência das testas de sementes de cacau, assim, gerando uma brecha que permite sua permanência no produto.

Quadro 1. Análise de sujidades no produto

Quantidade (unidade)	Códigos das Amostras	Origem	Fungos (hifas) (1) e (2)	Fragmentos (insetos) (1) e (2)	Pelos (1) e (2)	Fragmentos Vegetais (1) e (2)	Massa de material insolúvel (g) (1)
1	A1	Nil	-	1 e 0	-	8 e 38	2,38
1	A2	Nil	1 e 1	-	-	4 e 11	1,43
1	A3	Nil	1 e 3	-	-	5 e 9	2,04
3	B1	Rio	0 e 3	-	-	3 e 4	1,35
1	B2	Rio	1 e 1	1 e 0	1 e 13	4 e 12	2,93
2	C1	Nil	3 e 1	0 e 1	-	5 e 58 (**)	2,78
1	C2	Rio	-	-	-	6 e 57 (**)	2,93
1	C3	Rio	-	-	1 e 2	9 e 51 (**)	2,81

(1) Método de Solução-Dispersão. (2) Procedimento de Tamisação com malhas de 60, 80 e 100 mesh. Entre as matérias vegetais estranhas excluíram-se as testas das sementes. (-) Não foram encontradas sujidades. (**) Devido à grande quantidade de matéria vegetal encontrada, a análise foi realizada com a alíquota fixa de 1g do produto em (2). Nil – município de Nilópolis, RJ. Rio – Município do Rio de Janeiro, RJ.

Fonte: Autores.

A RDC nº 14 de 28 de março de 2014^[2], define fungos filamentosos, não característicos do produto, como matéria estranha indicativa de falha das Boas Práticas. Observaram-se fungos filamentosos do gênero *Aspergillus* identificados, com base em sua morfologia, na figura 3. Para produtos à base de cacau e chocolate destaca-se, no anexo I da Instrução Normativa IN nº 88, de 26 de março de 2021 os limites (LMT) de 5 mcg/kg para Aflatoxina B1, B2, G1, G2 e também para Ocratoxina A^[20].

Este tipo de contaminação pode ocorrer ao longo de toda a cadeia produtiva do achocolatado, sendo necessário considerar contaminações não só na matéria-prima, mas também no processamento, produção, transporte e comercialização, analisando em todo o processo os pontos críticos de controle vulneráveis às contaminações fúngicas. Pode-se destacar a recorrente presença de fungos do gênero *Aspergillus* no cacau, devido à natureza de sua colheita e beneficiamento, entretanto deve-se destacar que a polpa do cacau é microbiologicamente estéril^[15].

Alguns ingredientes e aditivos como conservantes podem limitar o crescimento fúngico. O achocolatado é composto em sua maioria por sacarose que, em pequenas quantidades, é uma fonte de carbono utilizada para o crescimento de fungos como o *Aspergillus*, entretanto, em grandes quantidades a sacarose pode inibir o crescimento e a reprodução fúngica. O crescimento e metabolismo microbiano exigem a presença de água de uma forma disponível e a sacarose acaba atuando como um conservante, diminuindo a atividade de água no alimento^[16].

Através do método AOAC nº 965.38 de solução-dispersão^[8] foram encontrados fungos nas amostras A2 e C1 (Figura 2). Através do método de solução-dispersão foi encontrado um fragmento de inseto na amostra A1 e outro na amostra B2. Já por meio do procedimento de tamisação foi encontrado um fragmento de

inseto na amostra C1 (Figura 6). A quantidade encontrada está dentro dos limites estabelecidos pela RDC nº 14 de 28 de março de 2014^[2], onde são permitidos 10 fragmentos de insetos a cada 100 g de produto, sendo classificados como indicativos de falha nas boas práticas. Dentro deste limite não são considerados um indicativo de risco à saúde humana. Contudo, a presença de fragmentos de insetos, mesmo dentro dos limites estabelecidos, demonstra falha nas boas práticas no processo de fabricação ou no armazenamento da matéria prima. Pragas em geral (insetos, roedores, ácaros) são importantes contaminantes de alimentos, devido aos grandes prejuízos que causam reduzindo a qualidade e por sua relação direta com outras contaminações (fungos e produção de micotoxinas)^[3].

Em relação à presença de pelos foi encontrado um pelo na amostra B2 e outro na amostra C3. Por meio do método de tamisação foi possível detectar treze pelos na amostra B2 e outros dois na amostra C3. Os fragmentos de pelos isolados foram comparados a padrões do laboratório de microscopia do IFRJ *campus* Nilópolis, sendo possível identificá-los como pelos de gato (Figura 7).

É de suma importância a identificação de pelos contaminantes, já que essas estruturas podem carrear fungos, ácaros e até coliformes fecais, em alguns casos.

A RDC 14 de 28 de março de 2014^[2] no Capítulo I, sessão III, no inciso X, considera os pelos de roedores, morcegos e pombos, inteiros ou em partes, como matéria estranha indicativa de risco à saúde humana, sendo que 1 pelo em cada 50 g é considerado a quantidade limítrofe permitida para a presença de fragmentos de pelo de roedor. No inciso XI da mesma RDC, a presença dos pelos de gato encontrados é classificada como “matéria estranha indicativa de falhas das boas práticas”.

Como não há classificação específica para pelos de gato considera-se que a amostra

está em desacordo com o regulamento como determinado no capítulo II, seção III, artigo 16, inciso VI.

A presença de amido, pelo teste histoquímico com lugol é um outro aspecto relevante, ainda pouco considerado nos

trabalhos de microscopia alimentar. O lugol é um reagente a base de iodo usado para detectar a presença de amido em diferentes alimentos. Ao reagir com lugol, o amido adquire coloração roxa. No cacau, as reservas de amido são consumidas durante a fermentação das sementes.

Figuras 1-7. Fragmentos vegetais encontrados nas amostras.

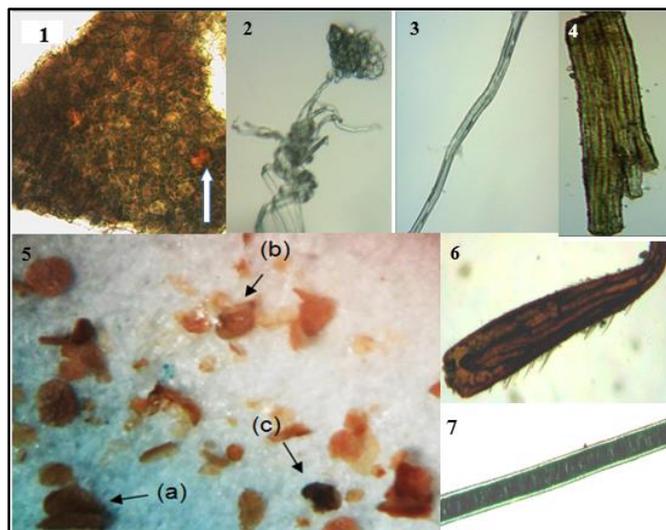


Figura 1. Fragmento vegetal (cacau) encontrado na amostra A2. A seta mostra o conteúdo lipídico. Aumento = 64X.

Figura 2. Hifas de fungo filamentosas encontradas na amostra A2, através do procedimento de tamisação. Aumento = 400X.

Figuras 3 e 4. Detalhe de uma fibra isolada (3) e de um grupo de fibras vegetais (4), encontrados na amostra A3, após tamisação. Aumento = 40X.

Figura 5. Amostra C3 - (a) Fragmentos do tegumento das sementes de cacau; (b) fragmentos de milho; (c) fragmentos de açúcar queimado. Aumento = 40X.

Figura 6. Fragmento de inseto (perna) encontrado na amostra C1, pelo procedimento de tamisação. Aumento = 64X.

Figura 7. Pelo de gato em detalhe. Aumento = 40X.

Fonte: Autores

Na rotulagem de nenhum dos produtos está especificada a adição de amido de outras fontes. Assim, a presença de amido é considerada adulteração do produto. A coloração marrom, também obtida, ocorre na

presença de dextrinas, sendo que essas estão especificadas nos rótulos. Os resultados obtidos através da reação da amostra com lugol estão relacionados na Tabela 1.

Tabela 1. Reação das amostras ao teste para detecção de amido com lugol

Amostras	Reação ao Lugol	Resultado
A1	Roxo e Marrom	Positivo
A2	Marrom	Positivo
A3	Roxo e Marrom	Positivo
B1	Roxo e Marrom	Positivo
B2	Roxo e Marrom	Positivo
C1	Roxo e Marrom	Positivo
C2	Roxo e Marrom	Positivo
C3	Roxo e Marrom	Positivo

Fonte: Autores

Dentre as amostras analisadas todas, exceto a amostra A2, não estão em conformidade visto que, ao reagirem com lugol, adquiriram coloração roxa, indicando a presença de amido (Figura 8), não especificado na lista de ingredientes. A coloração roxa e marrom (dextrina) foi encontrada na amostra B1. A adição de amido tem por objetivo o aumento da viscosidade do produto e do rendimento. Sua adição é permitida, desde que especificada na lista de ingredientes.

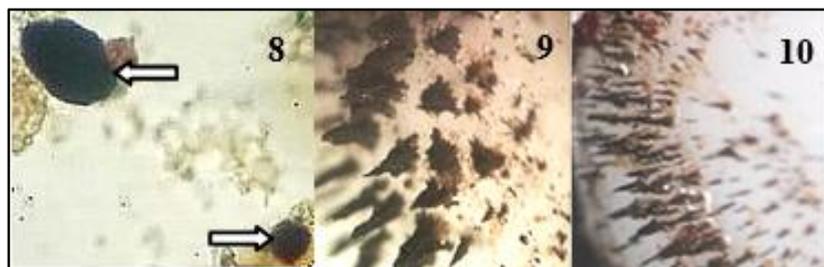
O exame da barra magnética ao microscópio estereoscópico, nos aumentos de

20 e 40X, pode-se constatar a presença de elementos metálicos em todas as amostras. Pode-se observar a barra magnética com as partículas metálicas nas amostras A1, B1 e C1 (Figuras 9 e 10).

Os resíduos obtidos da barra magnética foram analisados no MEV acoplado ao EDS. A massa metálica obtida em cada barra magnética foi quantificada após separação através de filtração a vácuo, e estão indicadas na Tabela 2.

Figura 8. Reação positiva ao lugol (setas), indicando presença de amido na amostra B1. Aumento = 100X.

Figuras 9 e 10. Fragmentos metálicos isolados e aderidos à barra magnética. (9) – fragmentos metálicos obtidos na amostra A1. (10) – fragmentos metálicos encontrados na amostra B1. Aumentos de 40X.



Fonte: Autores

Tabela 2. Massa de partículas metálicas obtidas através do princípio de atração magnética

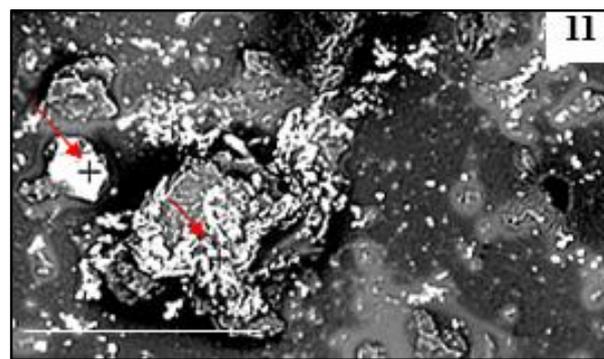
Amostras	Massa (g)
A1	0,89
A2	0,05
A3	0,02
B1	0,63
B2	0,13
C1	0,33
C2	0,32
C3	0,03

Fonte: Autores

Através da micrografia eletrônica de varredura com EDS acoplado (Figura 11), cujos resultados se encontram compilados na Tabela 3, observaram-se, na amostra A1 (Tabela 3, A), a presença percentual de Fe, C e O. Em B, referente a mesma amostra, foram encontrados C, Si e O. Já na amostra A2 (Tabela 3, C) foram detectados O, N, S, Cl, K e Ca. No entanto, no spot 2 (Tabela 3, D), detectou-se a presença percentual de Fe, C, Cl, O e Si, através da análise

química pontual (EDS em 15 kV). Na amostra A3, observaram-se, em E, a presença percentual de Fe, O, C, Al, N, Si e Cl e na amostra C3 (Tabela 3, F) foi detectada a presença de Fe, O e Na.

Figura 11. Eletromicrografia que exemplifica a análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Amostra A1, com localização dos pontos (spots evidenciados pelas setas) marcados para análise química por EDS em 15 kV. Barra = 10 µm

**Fonte:** Autores**Tabela 3.** Análises em EDS acoplado ao MEV. A - amostra A1, spot 1, mostrando os elementos químicos e seus respectivos percentuais encontrados. B - Amostra A1, spot 4. C - Amostra A2, spot 1. D - Amostra A2, spot 2. E - Amostra A3, spot 2. F - Amostra C3, spot 1.

Elementos detectados	Amostras					
	A	B	C	D	E	F
Fe	77,2%	*n.d.	*n.d.	78,0%	67,4%	51,7%
O	7,5%	23,7%	53,2%	4,2%	17,4%	44,6%
C	15,3%	47,5%	*n.d.	12,5%	5,5%	*n.d.
Al	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.	4,8%	*n.d.
N	*n.d.	*n.d.	33,7%	*n.d.	2,5%	*n.d.
S	*n.d.	*n.d.	5,5%	*n.d.	*n.d.	*n.d.
Cl	*n.d.	*n.d.	3,0%	5,0%	1,1%	*n.d.
K	*n.d.	*n.d.	2,6%	*n.d.	*n.d.	*n.d.
Ca	*n.d.	*n.d.	2,0%	*n.d.	*n.d.	*n.d.
N	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.
Si	*n.d.	28,8%	*n.d.	0,3%	1,4%	*n.d.
Na	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.	*n.d.	3,7%

*n.d. – Não Detectado

Fonte: Autores

Foi possível detectar a presença de ferro (Fe) como elemento químico majoritário, na maioria dos pontos analisados. A Micrografia eletrônica de varredura e a análise química por dispersão de raio-x (EDS).

É possível que, nas unidades fabris, existam maquinários constituídos de ferro na sua estrutura e que, durante o processo produtivo, podem contaminar o produto com limalhas. Falhas nas boas práticas durante a fabricação como a manutenção, afiamento ou cisalhamento de equipamentos e ferramentas também são problemas que propiciam a contaminação por ferro metálico. Contudo, também é comum nos produtos achocolatados a adição de sais de ferro como fator de enriquecimento dos alimentos.

Os principais compostos de ferro utilizados na fortificação de alimentos são os compostos solúveis em água, como o sulfato ferroso, gluconato ferroso e o lactato ferroso. São considerados ferro de alta biodisponibilidade, mas apresentam a grande desvantagem de interagirem com a matriz alimentar, principalmente modificando suas características sensoriais, podendo-se utilizá-los apenas para fortificar alimentos estocados por curtos períodos. O sulfato ferroso apresenta boa estabilidade e os efeitos do processamento e cozimento são desprezíveis. Os alimentos fortificados mais comuns encontrados com esse tipo de sal são as fórmulas infantis, massas, farinhas de cereais e farinhas de panificação. Há ainda os compostos pouco solúveis em água e solúveis em ácidos diluídos, como o fumarato e o succinato ferroso. Geralmente não causam tantas alterações organolépticas e são mais utilizados em cereais infantis e achocolatados em pó. Usa-se ainda o NaFeEDTA que é considerado, atualmente, o aditivo com maior biodisponibilidade^[17,18,19].

Sais como o fumarato e o succinato ferroso possuem o aspecto muito semelhante ao

encontrado nas amostras. Logo, não há como diferenciá-los da limalha de ferro não sendo possível, portanto, determinar categoricamente sua origem. Os demais elementos químicos identificados podem integrar às diferentes categorias de moléculas orgânicas que podem compor alimentos infantis processados enriquecidos, como os achocolatados. Todavia, as amostras B1, B2 e C1 não apresentaram nenhuma menção ao enriquecimento com ferro nas informações contidas em seus rótulos. Entretanto observaram-se a presença do ferro nas amostras em concentrações consideráveis, conforme mostrado anteriormente. Tal fato, neste caso específico, pode indicar falhas nas informações dos rótulos ou a contaminação das amostras por limalha de ferro, indicando falhas relativas às boas práticas de fabricação.

CONCLUSÃO

As técnicas de isolamento, as análises em microscopia fotônica (ótica) e eletrônica de varredura com EDS acoplado ratificaram sua importância como instrumento de suporte, produzindo resultados que justifiquem o trabalho das instituições relacionadas à segurança alimentar, principalmente no contexto da vigilância sanitária.

O método de solução–dispersão, seguido do procedimento de tamisação mostraram-se adequados para o isolamento de matérias estranhas em achocolatados. Pode-se destacar também a facilidade de isolar fungos e pelos através do método de tamisação. O procedimento de tamisação possui menor custo, visto que não demanda a utilização de solventes. Logo, conclui-se que a combinação dos dois métodos proporciona uma análise mais precisa e eficiente, visto que esses métodos se complementam.

Foi possível observar similaridades nos resultados obtidos entre as marcas distintas.

Considerando-se que todas elas são produzidas e embaladas pela mesma empresa, torna-se evidente a ocorrência de falhas nas boas práticas de fabricação (BPF).

É evidente a necessidade da aplicação das BPF e da padronização de procedimentos e processos tanto nas *commodities* quanto na indústria de transformação, a fim de garantir a qualidade dos produtos e a integridade do consumidor.

AGRADECIMENTOS

Ao IFRJ *campus* Nilópolis por disponibilizar todos os meios necessários à realização deste trabalho e pela verba disponibilizada para realização do trabalho de conclusão de curso da primeira autora.

REFERÊNCIAS

- [1] Oliveira F, Ritto JLA, Jorge LIF, Barroso ICE, Prado BW. Microscopia de Alimentos. Exames microscópicos de alimentos *in natura* e tecnologicamente processados. São Paulo: Editora Atheneu; 2015. ISBN 978-85-388-0654-7.
- [2] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Dispõe sobre matérias estranhas macroscópicas e microscópicas em alimentos e bebidas, seus limites de tolerância e dá outras providências. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 14, de 28 de março de 2014 [Internet]. 2014 [Acesso em 2014 abr 04]. Diário Oficial da União. 2014 mar 28. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura>
- [3] Fontes EAF, Fontes PR. Microscopia de Alimentos: Fundamentos Teóricos. Viçosa: Editora UFV; 2005.
- [4] Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 216, 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas de Fabricação de Alimentos [Internet]. 2004 [Acesso em 2016 jun 15]. Diário Oficial da União. 2004 set 16. Disponível em: <http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/>
- [5] Ferreira AB, Lanfer-Marquez, ÚM. Legislação brasileira referente à rotulagem nutricional de alimentos [Internet]. 2007 [Acesso em 2016 jun 15]. Revista de Nutrição. 2007;20(1):83-93. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/doi/14155273/2007/00000020/00000001/art00009>
- [6] Bojic BD *et al.* Guide on legislating for the right to food. FAO; 2009. ISBN 978-92-5-106256-2.
- [7] Lannes SC, Medeiros ML. Processamento de achocolatado de cupuaçu por spray-dryer [Internet]. 2003 [Acesso em 2017 ago 24]. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 2003;39(1):115-123. Disponível em: <http://www.periodicos.usp.br/rbcf/article/view/43846>
- [8] Association of official analytical chemists (AOAC). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17.ed. William Horwitz (Editor), Gaithersburg, MD: AOAC; 2000.
- [9] Kraus JE, Arduin M. Manual básico de métodos em Morfologia Vegetal. Seropédica: EDUR; 1997. ISBN 8585720115.
- [10] Nascimento AM, Marques CA, Torres JC. Caracterização morfo-anatômica e testes fitoquímicos em amostras comerciais de *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae). Revista Fitos. 2016;10(4):417-432. DOI: 10.5935/2446-4775.20160030
- [11] Assis NM, Marques CA, Silva MC. Avaliação microscópica de amostras comerciais de café. Segur. Aliment. Nutr. 2020;27:1-13. e020022. DOI: <http://dx.doi.org/10.20396/san.v27i0.8658921>.
- [12] Brasil. Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos. Aprova normas técnicas especiais relativas a alimentos e bebidas. Resolução – CNNPA nº 12, de 1978 [Internet]. 1978 [Acesso em 2016 ago 28]. Diário Oficial da União. Disponível em: <https://sogis.sogi.com.br/Arquivo/Modulo113.MRID109/Registro4760/documento%201.pdf>
- [13] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para chocolate e produtos de cacau. Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005 [Internet]. 2005 [Acesso em 2016 ago 28]. Diário Oficial da União. 2005 set 22. Disponível em: <http://www.aeap.org.br/doc>
- [14] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco. Resolução RDC nº 227, de 28 de agosto de 2003 [Internet]. 2003 [Acesso em 2016 ago 28]. Diário Oficial da União. 2003 set 01. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>

[15] Schwan RF, Wheals AE. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality [Internet]. 2004 [Acesso em 2016 jun 03]. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2004;44(4):205-221. Disponível em: <https://www.researchgate.net>

[16] Gava AJ, Silva CAB, Frias JRG. *Tecnologia de alimentos: princípios e aplicações*. São Paulo: Nobel; 2008.

[17] Hurrell RF. Preventing iron deficiency through food fortification. *Nutrition Reviews*. 1997;55(6):210-222. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1997.tb01608.x>

[18] World Health Organization. *Prevention and control of iron deficiency anaemia in women and children*. WHO Regional Office for Europe. Geneva: WHO/UNICEF; 1999.

[19] Vellozo EP, Fizberg M. O impacto da fortificação de alimentos na prevenção da deficiência de ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2010;32(Supl. 2):134-139. DOI: 10.1590/S1516-84842010005000069

[20] Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Instrução Normativa nº 88, de 26 de março de 2021. *Diário Oficial da União*. 31 mar 2021.