

PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DE BOMBOM RECHEADO COM XAROPE DE SACAROSE

João Guilherme Baggio de Oliveira (Universidade Estadual de Ponta Grossa) jgboliveira@uepg.br

Resumo:

O Brasil é um grande produtor de chocolates, sendo o bombom um dos principais produtos a base do chocolate, este muito apreciado por pessoas de todas as faixas etárias. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes concentrações de enzima invertase e goma a fim de obter a melhor formulação para elaboração de bombom com recheio de xarope de sacarose sabor abacaxi. Foram testadas concentrações de extrato enzimático em diferentes proporções e concentração de preparado comercial a base de goma xantana e carboximetilcelulose variando entre 0,059% e 0,341% através de planejamento fatorial. Devido a baixa taxa de conversão da sacarose a açúcar redutor, optou-se como melhor formulação o recheio elaborado apenas por solução de sacarose sem adição de extrato enzimático com 0,05% de goma que apresentou índice de viscosidade igual a $-27,094 \pm 3,37$ g.s, coesividade igual a $-413,509 \pm 10,02$ g, consistência igual a $52,018 \pm 0,82$ g.s e firmeza igual a $1323,219 \pm 34,13$ g parâmetros obtidos pela avaliação instrumental de textura. Pela análise microbiológica o produto se mostrou em conformidade com a legislação mostrando ser seguro para o consumo.

Palavras chave: Chocolate, invertase, xarope de sacarose.

PRODUCTION AND EVALUATION BOMBOM STUFFED WITH SUCROSE SYRUP

Abstract

Brazil is a major producer of chocolates, candy being one of the main products made of chocolate, this much appreciated by people of all ages. The aim of this paper was to test different concentrations of enzyme invertase and gum in order to get the best formulation for preparation of chocolate stuffed with sucrose taste pineapple syrup. Enzyme extract concentrations in different proportions and concentration of the commercial preparation based xanthan gum and carboxymethylcellulose ranging between 0.059% and 0.341% by factorial design were tested. Due to the low conversion rate of sucrose reducing sugar, was chosen as the best formulation filling made by only sucrose solution without addition of enzyme extract with 0.05% gum which showed viscosity index of $-27.094 \pm 3,37$ g.s, cohesiveness equal to $-413.509 \pm 10,02$ g, consistency equal to $52.018 \pm 0,82$ g.se firmly equal to $1323.219 \pm 34,13$ g parameters obtained by instrumental evaluation of texture. The microbiological analysis showed the product in accordance with the rules shown to be safe for consumption.

Key-words: Chocolate, invertase, sucrose syrup

1. Introdução

O chocolate, guloseima favorita das crianças e até dos adultos, esta entre os produtos mais consumidos no mundo todo. Devido a sua forma versátil, pode ser preparado e consumido nas

mais variáveis maneiras, entre elas como tabletes, biscoitos, sorvetes, caldas, bebidas em geral e inúmeras outras formas (CARDOSO, 2003; LIMA, 2008).

A concentração de flavonóides no chocolate é variável e depende não só da colheita dos grãos de cacau, como também das condições de processo ao qual são submetidos (SUZUKI, 2009). Os flavonóides são instáveis sendo facilmente destruídos por alguns fatores como altas temperaturas, por este motivo as condições de processo devem ser as melhores possíveis para que o produto final preserve uma quantidade considerável destes compostos naturais (RICHTER et al., 2007). Dos tipos de chocolates conhecidos o chocolate branco é a variedade que menos preserva a qualidade dos antioxidantes, seguido do chocolate ao leite e chocolate “amargo” (BECKETT, 2008).

Bombons são produtos constituídos por massa de chocolate ou por um núcleo formado por diversos recheios que podem ser elaborados com frutas, sementes oleaginosas, açúcar, leite, cacau, licores e inúmeras outras substâncias alimentícias, recobertos por camadas de chocolate podendo apresentar formatos e consistência variados (BRASIL, 2005; MEDEIROS e LANNES, 2012; RICHTER e LANNES, 2007; SOUZA et al., 2010).

Existem duas formas distintas para confecções de bombons, quando recobertos, o chocolate é derramado sobre um núcleo formando uma “casca” e o excesso é eliminado por agitação ou sopro. A outra maneira de confecção de bombons consiste na moldagem do chocolate para assumir diferentes formas ao solidificar-se podendo ou não conter recheio (BECKETT, 1994; RICHTER e LANNES, 2007).

A formulação dos recheios utilizados na fabricação de bombons é muito importante para a qualidade do produto final, por isto os ingredientes devem ser devidamente selecionados de acordo com a característica do bombom (RICHTER e LANNES, 2007).

De uma forma geral, as enzimas são compostos de natureza protéica e estrutura complexa que aceleram/catalisam a maioria dos processos bioquímicos. Devido a sua estrutura, as enzimas permanecem inalteradas por um longo tempo, tornando-as interessantes tecnologicamente. São sólidas, de difícil cristalização e em alguns casos são solúveis em água e álcool diluído. Quando em solução, podem ser precipitadas pela adição de alguns agentes como o sulfato de amônio, álcool ou ácido tricloroacético. Sua principal característica em relação a sua utilização em alimentos é que as enzimas são inativadas pelo calor (BOBBIO e BOBBIO, 1995).

No processamento de alimentos possuem uma grande variedade de aplicações, desde a produção de alimentos até a produção de bebidas. Normalmente são utilizadas com a finalidade de melhorar aspectos como aroma, sabor, textura e cor nos produtos aos quais são empregadas (KOBBLITZ, 2008; LEHNINGER et al., 2006)

A invertase, ou β -D-frutofuranosidase frutohidrolase é uma enzima muito utilizada na indústria alimentícia (GOULART et al., 2003). Invertases são bastante distribuídas na natureza, sendo produzidas por animais, vegetais e microrganismos (KOBBLITZ, 2008). Alguns microrganismos são capazes de sintetizar diversas enzimas de importância industrial. Em geral a invertase produzida por leveduras é intracelular, isto é, necessita do rompimento da célula para sua obtenção e a invertase proveniente dos fungos é extracelular, estas são mais fáceis de isolar e avaliar (BOBBIO e BOBBIO, 1995), na Tabela 1 podem ser observadas as diferenças nas características da invertase extracelular e intracelular de *Saccharomyces cerevisiae*. As invertases são glicoproteínas contendo até 50% de carboidratos (PEBERDY, 1994). Dos microrganismos que produzem a invertase, o mais comum é a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, chamada popularmente de “fermento de pão”, embora muitas

pesquisas tenham estudado a invertase purificada obtida de fungos como *Neurospora crassa*, *Candida utilis*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus Níger*, *Aspergillus casingii*, *Rizhopus* sp entre outros (GOULART et al., 2003, NOVAKI et al., 2010).

2. Materias e Métodos

2.1 Material

Para a formulação dos bombons utilizou-se chocolate ao leite da marca Garoto para a elaboração da casca e para o fechamento dos mesmos após a adição do recheio. Para o preparo do recheio utilizou-se açúcar refinado da marca Caravelas, preparado comercial de Carboximetilcelulose (CMC) e goma Xantana cedido por Pontali Alimentos, água destilada, essência artificial de abacaxi da marca Selecta linha Algemix. Para os tratamentos com adição da enzima invertase utilizou-se fermento da marca Fleishman. Para confecção dos bombons utilizou-se formas de policarbonato.

Todos os materiais utilizados para a formulação dos bombons foram adquiridos em supermercados e lojas especializadas da região de Ponta Grossa.

2.2 Métodos

2.2.1 Obtenção da Enzima Invertase

Foram pesados 50g de levedura e suspendeu-se em 50 mL de bicarbonato de sódio 0,1M para a autólise das células das leveduras. Deixou-se a suspensão à temperatura ambiente por 15 horas. Após a autólise, foi realizada a centrifugação a 3500 rpm e a 4° C em centrífuga refrigerada por 10 minutos para a separação da enzima Invertase. Após a obtenção da enzima até sua utilização esta foi mantida em banho de gelo. Este procedimento foi baseado no procedimento descrito por Vilella et al. (1973) para obtenção do suco de Lebedev.

O extrato enzimático utilizado na formulação dos bombons foi diluído 25 vezes para a posterior adição a formulação.

2.2.2 Determinação da Atividade Enzimática

A determinação dos produtos da reação enzimática foi realizada pelo método de Somogyi-Nelson de acordo com o Instituto Adolfo Lutz 2008 para açúcares redutores.

A reação ocorreu através da incubação de um volume de 0,4 mL do extrato enzimático que foi diluído 25 vezes e foi o último a ser adicionado ao tubo onde já estavam 0,4 mL de tampão acetato 0,05M pH 4,7 e 0,2 mL de solução de sacarose 0,01M para que se completasse o volume de 1 mL. Para o branco substitui-se a solução de sacarose por 0,2 mL de água destilada, e para o experimento controle não foi adicionado o extrato enzimático diluído 25 vezes. As amostras foram deixadas em banho-maria à 37° C por 5 minutos. Após a adição do extrato enzimático diluído marcou-se rigorosamente o tempo. Após 5 min de ensaio a reação foi interrompida com a adição de 1 mL do reativo de Somogyi, e os tubos aquecidos a 100° C por 10 minutos, sendo posteriormente resfriados em banho de gelo. Após esse tempo foi adicionado 1 mL do reativo de Nelson e completado o volume até 12,5 mL com água destilada. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro a 520 nm. Uma curva padrão de açúcar redutor foi utilizada para calcular o aparecimento do produto.

A unidade de atividade da invertase foi definida como sendo a quantidade de micromols de açúcares redutores liberados por 1,0 mL de enzima em 1 minuto de reação, nas condições de ensaio (U/mL).

Realizou-se experimento controle para a verificação de possíveis açúcares redutores presentes na sacarose comercial.

2.2.3 Formulação do Recheio

Com o objetivo de encontrar a melhor formulação para o bombom testou-se diferentes formulações com adição de solução de sacarose 60% e de essência de abacaxi além de formulações com e sem a adição de enzima.

2.2.3.1 Recheio de açúcar com adição de enzima

Foi feita uma solução de sacarose 60% com pH de 5,4 variando-se a concentração de enzima e goma adicionada nas seguintes proporções : 0,059%, 0,1%, 0,2%, 0,3% e 0,341% para a concentração de enzima e de 0,0295%, 0,05%, 0,1%, 0,15% e 0,1705% para concentrações de goma. Adicionou-se as formulações 1% de aroma de abacaxi. As formulações foram realizadas sempre em volume fixo de 200 mL.

2.2.3.1.1 Planejamento fatorial

Para verificar as melhores condições do processo de hidrólise da sacarose e avaliar a possível interação da concentração de goma para a produção do recheio do bombom foi realizado um Planejamento Fatorial completo 2² com 11 ensaios sendo 3 pontos centrais, apresentados na Tabela 3. Tendo como variáveis independentes a concentração de enzima e concentração de goma e variável dependente a concentração de açúcares redutores.

A resposta do planejamento fatorial deu-se em quantidade de açúcar redutor formado em µg/mL após 24 horas de incubação da formulação do recheio. A técnica utilizada foi a de Somogyi e Nelson (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Experimento	Valor Real (Valor Codificado)	
	[Enzima]	[Goma]
1	0,1(-1)	0,05 (-1)
2	0,3 (+1)	0,05 (-1)
3	0,1 (-1)	0,15 (+1)
4	0,3 (+1)	0,15 (+1)
5	0,059 (-1,41)	0,1 (0)
6	0,341 (+1,41)	0,1 (0)
7	0,2 (0)	0,0295 (-1,41)
8	0,2 (0)	0,1705 (+1,41)
9	0,2 (0)	0,1 (0)
10	0,2 (0)	0,1 (0)
11	0,2 (0)	0,1 (0)

Fonte: O autor

Tabela 1 – Planejamento Experimenta

Os efeitos principais das variáveis do processo e aqueles resultantes da interação entre elas foram calculados utilizando-se o software Statistic for Windows versão 5.0.

2.2.3.2 Recheio de Açúcar sem Adição de Enzima

Realizou-se uma solução de sacarose 60% com pH de 5,4 e variou-se apenas a concentração de goma nas proporções de 0,0295%, 0,05%, 0,1%, 0,15% e 0,1705%. As formulações foram realizadas em volume fixo de 200 mL adicionando-se 1% de aroma de abacaxi.

2.2.3.2.1 Avaliação da Textura

Para avaliação do recheio dos bombons sem adição de enzima realizou-se avaliação da textura de todas as concentrações de enzima que foram testadas. A avaliação foi realizada com o equipamento Texturômetro TA-XT plus Texture Analyser (Stable Micro Systems, Godalming, UK) e os parâmetros analisados foram firmeza, coesividade, consistência e índice de viscosidade. O modelo utilizado para a comparação foi o modelo para ketchup e alimentos de consistência similar. O acessório utilizado foi célula de extrusão (A/BE) com disco de 35mm, e velocidade utilizada de 1,0 mm/s.

2.2.4 Preparo dos Bombons

A partir da escolha da melhor formulação de recheio os bombons foram elaborados. O chocolate foi derretido a uma temperatura de 50° C em microondas, seguido de resfriamento com agitação mecânica até temperatura de 28° C para que ocorresse o processo adequado de temperagem. Após, o chocolate foi despejado em formas de policarbonato, depois as formas foram submetidas a vibração para retirada das bolhas de ar formou-se então uma camada de chocolate que foi levada a temperatura de refrigeração. Com a camada de chocolate formada pipetou-se 3 mL de recheio em cada uma das cavidades da formas de policarbonato. A camada formada por chocolate e adicionada de recheio foi congelada, repetiu-se o procedimento de derretimento e temperagem do chocolate, para ser posteriormente fechada. Após fechados os bombons foram submetidos a temperatura de refrigeração para que a camada de chocolate fosse formada e os bombons fossem desenformados. Depois da desenformagem os bombons foram pesados e cada bombom possuía aproximadamente 8,2 gramas.

2.2.5 Análise Microbiológica

Foram realizadas análises de detecção de Salmonella em 25 gramas de amostra, Estapylococcus coagulase positiva por grama de amostra e Coliformes a 45° C por grama de amostra conforme descrito por Silva et al. 1997. As análises microbiológicas estão de acordo com a legislação RDC 12 de janeiro de 2001 que estabelece os padrões microbiológicos para bombons com ou sem adição de recheio.

3. Resultados

3.1 Determinação da atividade enzimática da invertase

A atividade enzimática da invertase foi de 0, 596 U nas condições testadas, valor superior aos descritos por Vargas et al. (2003) que encontraram para a atividade da invertase valores de 0,481 U e 0,450 U respectivamente.

Andjelkovic *et al.* (2010) purificaram a invertase utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e obtiveram valores de 1,480 e 3,160 U essa variação para os valores de atividade devem-se aos diferentes tipos de invertase estudadas no trabalho, foram testadas diferentes invertases externas e internas. Os valores elevados são podem ser explicados pela alta capacidade de isolamento da enzima através do método empregado.

O experimento controle para a verificação de açúcares redutores presentes na sacarose não evidenciou presença desses na sacarose comercial.

3.2 Avaliação das formulações de recheio

Todas as formulações de recheio foram constituídas de solução de sacarose 60%, sendo que esta solução de sacarose apresentou teor de sólidos solúveis de 59° Brix, adicionada de 1% de essência, sabor e aroma de abacaxi, com e sem adição de extrato enzimático.

3.2.1 Planejamento fatorial

	Valor Real (Valor Codificado)		Resposta
	[Enzima]	[Goma]	Concentração de açúcar redutor (µg/mL)
1	0,1(-1)	0,05 (-1)	1895,84
2	0,3 (+1)	0,05 (-1)	6843,33
3	0,1 (-1)	0,15 (+1)	1687,50
4	0,3 (+1)	0,15 (+1)	7677,18
5	0,059 (-1,41)	0,1 (0)	958,00
6	0,341 (+1,41)	0,1 (0)	10177,19
7	0,2 (0)	0,0295 (-1,41)	2520,84
8	0,2 (0)	0,1705 (+1,41)	2468,84
9	0,2 (0)	0,1 (0)	2260,50
10	0,2 (0)	0,1 (0)	2000,00
11	0,2 (0)	0,1 (0)	2052,17

Fonte: O autor, 2015.

Tabela 2 – Resposta Planejamento Fatorial

De acordo com o planejamento fatorial que forneceu a resposta em açúcar redutor (µg/mL), pode-se analisar o efeito entre as variáveis independentes na variável de resposta (Tabela 3).

R ² =0,9789	Efeito	P
Média Interação	2102,307	0,001430
Enzima (L)	6001,913	0,000264
Enzima (Q)	3729,072	0,000974
Goma (Q)	637,924	0,031755
Interação Linear	521,095	0,063382

Fonte: O autor, 2015.

Tabela 3 – Tabela de efeitos a 90% de significância

Com os resultados obtidos podemos afirmar que linearmente a concentração de goma não influenciou a resposta de açúcar redutor, ou seja, quanto maior a concentração de enzima

maior a conversão da sacarose á açúcar redutor para a faixa linear do planejamento, porém a interação linear entre as concentrações de goma e concentrações de enzima demonstrou valores significativos. Em relação à quadrática da concentração de goma, quando se manteve fixa a concentração de enzima percebeu-se um aumento da conversão em relação às menores concentrações de goma. Em relação à quadrática da enzima quando se manteve fixa a concentração de goma, a maior conversão foi observada na maior quantidade de enzima.

Experimento	Concentração enzimática (%)	Eficiência de conversão (%)
1	0,1(-1)	0,32
2	0,3 (+1)	1,14
3	0,1 (-1)	0,28
4	0,3 (+1)	1,29
5	0,059 (-1,41)	0,16
6	0,341 (+1,41)	1,70
7	0,2 (0)	0,42
8	0,2 (0)	0,41
9	0,2 (0)	0,38
10	0,2 (0)	0,33
11	0,2 (0)	0,34

Fonte: O autor, 2015.

Tabela 4 - Eficiência de Conversão de Sacarose a Açúcar Redutor

Observa-se pela Tabela 7 que a eficiência de conversão de sacarose em açúcar redutor foi baixa, a maior eficiência de conversão foi verificada no experimento com maior concentração de enzima e não chegou a 2% com uma concentração de 0,341% de enzima, esse fato pode ser explicado pela alta concentração de substrato e temperatura de reação fora dos padrões de atividade ótima da enzima que segundo Santos (2010) deve estar entre 65-70°C para soluções concentradas, porém devido as características do chocolate essa faixa de temperaturas não é viável para a produção dos bombons. Somiari e Bielecki (1995) relataram que em concentrações de sacarose acima de 50 % a invertase obtida da levedura *Saccharomyces cerevisiae* reduz significativamente sua atividade e em concentrações maiores que 80% a enzima pode ter sua atividade completamente inibida. Outro fator que pode influenciar na conversão de substrato em produto são os métodos de extração e purificação da enzima. No trabalho de Serna e Rito, (2004) com a utilização de enzimas comerciais altamente purificadas e xarope concentrado de caldo de cana (70°Brix) como substrato em condições de pH de 4,5 a 6,0 e a temperaturas de 60°C foi possível a obtenção de taxas de conversão de até 90%.

O comportamento de enzimas em meios com altas concentrações de sólidos pode ser alterado favorecendo reações reversas, esses processos são muitas vezes desejáveis, como na produção de oligômeros de galactose e glicose que tem uso potencial como prebiótico e por reações de transglicosilação em meios concentrados de sacarose e adição da enzima invertase. A enzima invertase é uma glicoproteína que tem atividade de hidrolase e reconhece a ligação glicosídica

contendo frutose e glicose catalisando a hidrólise da sacarose e em altas concentrações de sacarose (maiores que 1M) pode exibir atividade como transferase produzindo frutoligossacarídeos como por exemplo a kestose (GF2), nistose (GF3) e 1 F frutofuranosilnistose (GF4) (FENNEMA, 2010; SIGMA ALDRICH, 2013).

Deste modo a baixa conversão enzimática pode ser causada pela reação de síntese que a invertase pode desempenhar devido a alta concentração de sacarose podendo dessa forma estar produzindo frutoligossacarídeos, que não foram investigados neste trabalho.

3.2.2 Avaliação de Textura

Conforme a Tabela 5 os valores encontrados para textura instrumental do bombom:

Goma	Firmeza	Índice de Viscosidade	Coesividade	Consistência
(%)	G	(g.s)	(g)	(g.s)
0	738,172±5,00	-12,905±1,83	-7,578±0,48	18,523±0,22
0,05	1323,219±34,13	-27,094±3,37	-413,509±10,02	52,018±0,82
0,15	8072,689±105,64	-219,072±4,85	-3149,840±203,44	305,53±16,35
0,1	3724,122±78,89	-91,167±3,34	-1480,271±33,90	144,671±3,82
0,0295	803,151±3,71	-17,798±0,13	-30,853±0,40	29,978±0,933
0,1705	10185,356±126,14	-238,267±7,90	-2869,13±125,67	413,404±17,02

Fonte: O autor, 2015

Tabela 5 - Resultados Obtidos para Textura Instrumental

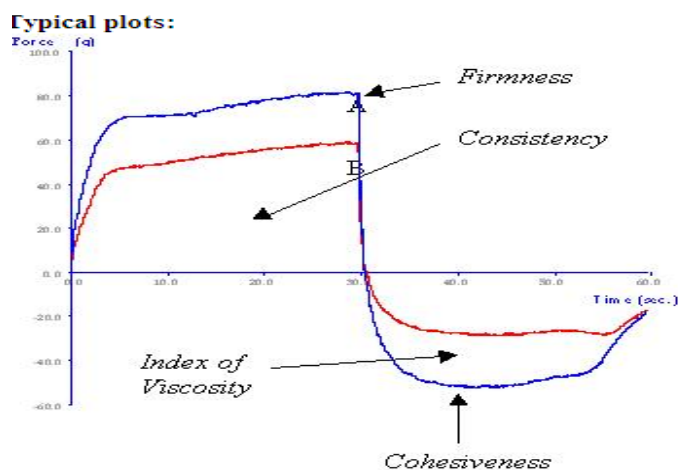


Figura 1 – Modelo Textura Ketchup

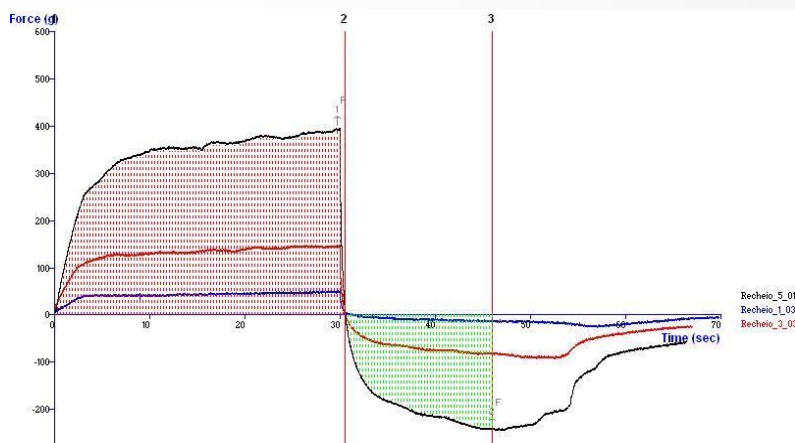


Figura 2 - Modelo Textura Bombom

Como pode ser observado na Figura 1, que demonstra o gráfico de resultado do modelo utilizado, quando atinge-se o pico, ou seja a força máxima aplicada, é considerada a medida de firmeza, dessa forma quanto maior o valor mais firme é amostra. A área formada até o pico denominado firmeza é tomada como medida de consistência, quanto maior a área mais grossa a consistência da amostra. A área negativa do gráfico é produzida pelo retorno do disco indica a resistência/consistência que passa ao redor do disco, o pico formado na região negativa da curva é descrito como coesividade e a área negativa formada abaixo do pico é definida como o índice de viscosidade. O modelo utilizado é eficiente para avaliação de textura, mel, iogurte, cremes e molhos e por isso foi escolhido para verificar a textura no recheio do bombom (STABLE MICRO SYSTEMS, 2008).

Os valores encontrados para a textura que apresentaram maior coesividade e maior firmeza apresentaram maior desvio padrão, fato que se deve a incorporação de bolhas de ar gerando muitos ruídos na análise de textura e formação dos picos. Pode-se verificar que nos experimentos onde os índices de viscosidade foram menores, com menor adição de goma, os desvios padrões foram menores devido a menor incorporação de bolhas de ar e conseqüente menor geração de ruído.

Os resultados encontrados demonstraram a mesma tendência, quando maior a adição de goma maior os valores encontrados para todos os parâmetros, deve-se lembrar que os valores de coesividade e índice de viscosidade devem ser considerados em módulo, pois representam a parte do gráfico que esta abaixo do eixo conforme observado na Figura 2 onde estão plotados recheios 01 que não tem adição de goma, recheio 03 que tem 0,05% de goma e recheio 05 que contém 0,1705% de adição de goma.

3.2.3 Escolha da Melhor Formulação

De acordo com os baixos índices de conversão de sacarose açúcar redutor optou-se pelas formulações sem a adição de extrato enzimático. Essas formulações permaneceram por 3 semanas em observação e não apresentaram cristalização nem crescimento microbiano. O recheio escolhido foi o com adição de 0,05% de goma que obteve a melhor avaliação sensorial prévia e também foi eleito como a melhor formulação em termos de operação.

3.3 Análise Microbiológica

A segurança alimentar é um dos temas mais discutidos mundialmente e esta diretamente ligada ao fato de que o alimento deve ser seguro para quem produz, para quem consome e para o meio ambiente e levando em consideração esses fatores, o consumidor assume um

papel decisório e ativo sobre a aquisição ou não do produto analisando seu padrão de qualidade (JUNQUEIRA, 1999).

A análise microbiológica durante o processamento é um importante instrumento para detectar possíveis contaminações antes ou depois do processo. A Resolução RDC N°12, de janeiro de 2001 define critérios e padrões microbiológicos para alimentos expostos à população. Esta legislação estabelece limites para a contagem de Coliformes totais a 45°C e ausência de *Salmonella* sp. para qualquer produto analisado. A presença destes microrganismos em limites acima dos preconizados pela Anvisa (2001) são indicativos de contaminação durante alguma etapa do processo, seja por limpeza ineficiente dos equipamentos e utensílios utilizados ou por falta de higiene pessoal dos manipuladores ou ainda por utilização de matéria prima contaminada ou procedência duvidosa. Todos esses fatores influenciam na qualidade do produto tornando-o impróprio para consumo (ANVISA, 2001).

No grupo dos coliformes totais, estão os microrganismos pertencentes à família Enterobacteriaceae (*Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*) que são capazes de fermentar a lactose produzindo o ácido láctico e gás carbônico. A presença destes microrganismos fora dos limites permitidos indica o nível de contaminação ambiental agregado ao alimento. São sensíveis ao calor, portanto sua presença em alimentos termicamente tratados indica contaminação após o processo, evidenciando práticas de higiene e sanitização ineficientes para o processamento de alimentos. Os coliformes termotolerantes correspondem aos coliformes que possuem a capacidade de fermentar a lactose quando expostos a temperatura de 45° C. A presença destes microrganismos indica contaminação de origem fecal (FRANCO e LANDGRAF, 1996).

O gênero *Salmonella* inclui várias espécies patogênicas para o homem sendo estabelecido pela legislação ausência em qualquer concentração de produto e tem o chocolate como um dos alimentos mais susceptíveis a sua contaminação. Durante os anos 80, uma infecção alimentar por ingestão de chocolate ao leite contaminado com bactérias do gênero *Salmonella* nos EUA acabou envolvendo mais de 200 crianças (PINTO, 2005).

Neste contexto, os bombons analisados estão em conformidade com a RDC N°12, de janeiro de 2001 (Tabela 6).

Análise	Resultado	RDC N°12, 2001
Deteção de <i>Salmonella</i> sp./ 25g	Ausente	Ausente
<i>Estapylococcus Coagulase</i> Positiva por grama (UFC)	<100	5 x 10 ²
Coliformes a 45°C por grama (NMP)	<3	10

Fonte: BRASIL, 2001.

Tabela 6 - Resultados Análises Microbiológicas

Sousa *et al.* (2010) encontraram em 12,3% dos bombons analisados valores de contagem superior aos estabelecidos pela Anvisa (2001) e sugerem que a contagem superior deve-se ao fato dos bombons serem produzidos artesanalmente. No trabalho de Reis (2011), para bombons artesanais de frutas e crocantes a contagem para Coliformes totais também foi superior aos limites admitidos pela legislação. Medeiros *et al.* (2012) obtiveram com as

análises microbiológicas ausência de coliformes totais para trufas de chocolate, estando dentro dos padrões de qualidade.

Com as análises microbiológicas pode-se assegurar a qualidade dos bombons sem oferecer riscos a saúde dos consumidores.

4. Conclusões

A atividade enzimática da invertase obtida foi de 0,596 U sendo este valor condizente com a literatura. Devido a baixa conversão enzimática não chegando a 2 % optou-se por não utilizar extrato enzimático na formulação do recheio.

Através do planejamento fatorial escolheu-se a melhor formulação do bombom, contendo 0,05% de goma que obteve os melhores parâmetros de textura para o processo.

Pelos parâmetros microbiológicos analisados pode-se assegurar a qualidade do bombom, pois os resultados estão de acordo com os preconizados pela legislação.

Referências

ANDJELKOVIC', U.; SRDJAN, P. U.; ZORAN, V. *Purification and characterisation of Saccharomyces cerevisiae external invertase isoforms. Food Chemistry*, v. 120, p.799-804, 2010.

BECKETT, S. T. *Fabricación y Utilización Industrial del Chocolate*. Zaragoza: Acribia, 1994.

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à Química de Alimentos*. Varela, 2.ed. São Paulo, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Legislação. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos*. Disponível em <www.portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 13 de agosto de 2015.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Legislação. Resolução RDC n.264 de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco*. Disponível em <www.portal.anvisa.gov.br>. Acesso em 07 de maio de 2015.

CARDOSO, V. *Conteúdo de Flúor em Diversas Marcas de Chocolate e Bolachas de Chocolate Encontradas no Brasil*. *Revista Pesquisa Odontológica Brasileira*. v.6, n.12, p. 25-29, São Paulo, 2003.

FRANCO B.D.G.M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos alimentos*. São Paulo: Atheneu, 1996, 182p.

FENNEMA, R. O.; PARKIN, L. K.; DAMODARAN, S. *Química de Alimentos de Fennema*. Editora Artmed, 4º Ed., São Paulo, 2010.

GOULART, A. J.; ADALBERTO, P. R.; MONTI, R. *Purificação Parcial de Invertase a Partir de Rhizopus sp em Fermentação Semi-Sólida*. *Alimentos Nutricionais*, v.14, n.2, p.199-203, Araraquara, 2003.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz - Métodos químicos para análise de alimentos*. Governo do Estado de São Paulo, 3. ed. 1985

KATZBAUER, B. *Properties and Applications of Xanthan Gum. Polymer Degradation and Stability*. P81-84, 1998.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Principles of biochemistry*. 4.ed. New York: Worth Publishers, 2006.

LIMA, R. *Gastronomia com pouco açúcar*. Revista Veja. v.4, n.9, p.82-84, São Paulo, 2008.

MEDEIROS, M. L.; LANNES, S. C. S. *Avaliação da textura de bombons com recheio de longa duração*. Revista Brasileira. Ciênc. Farm, v. 36, n. 1, p. 48, São Paulo, 2012.

NOVAKI, L.; HASAN, S. D. M.; KADOVAKI, M. K; ANDRADE, D. *Produção de Invertase por fermentação em Estado Sólido a Partir do Farelo de Soja*. Engevista, v.12, n.2, p.131-140, Toledo, 2010.

PEBERDY, J. F. *Protein secretion in filamentous fungi -trying to understand a highly productive black-box*. Trends Biotechnology., v.12, p.50-57, 1994.

RICHTER, M.; LANNES, S. C. S. *Ingredientes Usados na Indústria de Chocolates*. Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas. v.43, n.3. São Paulo, 2007.

SANTOS, A. F. *Imobilização de Invertase Comercial e de Saccharomyces cerevisiae em Sabugo de Milho e Bagaço de Cana-de-Açúcar*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

SERNA, S. R. S.; RITO, P. A. M. *Production of invert syrup from sugarcane juice using immobilized invertase*. World Intellectual Property Organization. Monterrey, 2004.

SIGMA-ALDRICH. *Product information: Invertsase from baker's yeast (S. cerevisiae)*. Saint Louis, USA, 2013.

SOUZA, C. L.; LOURENÇO, L. F. H.; FRANCÊS, L. M. O.; SOARES, Y. P. P.; ARAÚJO, E. A. F.; PENA, R. S. *Avaliação Microbiológica, Físico-Química e das Condições de Fabricação de Bombom de Chocolate com Recheio de Frutas*. Revista Alimentos Nutricionais. v.21, n.2, p.305-310, Araraquara, 2010.

STABLE MICRO SYSTEMS. *The texture analysis application directory: Food Products*. Godalming, UK. 2008

SUZUKI, R M. *Composição Química e Quantificação de Ácidos Graxos em chocolates, achocolatados em pó, bebidas achocolatadas e sorvetes de chocolates*. Tese (Doutorado em Química) – Departamento de Química. UEM, Maringá, 2009.

VARGAS, L. H. M.; CAMPOS, V. E.; CELLIGOI, M. A. P. C. *Avaliação do tempo de sonicação na liberação de invertase por Saccharomyces cerevisiae*. SINAFERM. Florianópolis, 2003.