



DÉBORA DE ANDRADE PENTEADO FORCHETTI

**“USO DOS TEORES DE GORDURA EM CHOCOLATE
DETERMINADOS POR ESTUDANTES DE ENSINO MÉDIO NA
UNIVERSIDADE PARA ELABORAÇÃO DE UM MÉTODO RÁPIDO,
SIMPLES E VERDE: PROPOSTA COM ASPECTOS DIDÁTICOS E
ANALÍTICOS”**

Campinas

2013



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

DÉBORA DE ANDRADE PENTEADO FORCHETTI

“USO DOS TEORES DE GORDURA EM CHOCOLATE DETERMINADOS POR ESTUDANTES DE ENSINO MÉDIO NA UNIVERSIDADE PARA ELABORAÇÃO DE UM MÉTODO RÁPIDO, SIMPLES E VERDE: PROPOSTA COM ASPECTOS DIDÁTICOS E ANALÍTICOS”

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Izabel Maretti Silveira Bueno

Coorientadora: Dr^a Juliana Terra

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO APRESENTADA

**AO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP PARA
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRA EM QUÍMICA NA**

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DEFENDIDA

**POR DÉBORA DE ANDRADE PENTEADO FORCHETTI, E ORIENTADA PELA PROFA. DRA.
MARIA IZABEL MARETTI SILVEIRA BUENO.**

Assinatura da Co-orientadora

Campinas

2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR SIMONE LUCAS - CRB8/8144-
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

F749u

Forchetti, Débora de Andrade Penteadó (1977).
Uso dos teores de gordura em chocolate
determinados por estudantes de ensino médio na
universidade para elaboração de um método
rápido, simples e verde: proposta com aspectos
didáticos e analíticos / Débora de Andrade
Penteadó Forchetti. – Campinas, SP: [s.n.], 2013.

Orientadora: Maria Izabel Maretti S. Bueno.
Coorientadora: Juliana Terra.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Química.

1. Chocolate. 2. Gordura. 3. Química-Ensino.
4. *Bligh-dyer*. 5. Fluorescência de raio X. I. Bueno, Maria
Izabel Maretti Silveira. II. Terra, Juliana. III. Universidade
Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Use of fat chocolate contents obtained by high school students in the university for the development of a fast, simple and green method: a proposition with educational and analytical aspects

Palavras-chave em inglês:

Chocolate
Fat
Teaching of chemistry
Bligh-Dyer
X-ray fluorescence

Área de concentração: Química Analítica

Titulação: Mestra em Química na área de Química Analítica

Banca examinadora:

Juliana Terra [Coorientadora]
Jarbas José Rodrigues Rohwedder
Maria José Pereira Monteiro de Almeida

Data de defesa: 27/06/2013

Programa de pós-graduação: Química

A toda minha família e aos meus amigos por acreditarem no meu potencial.

"A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É essa emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e toda arte" *Albert Einstein*

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Prof^a Dr^a Maria Izabel Maretti, querida Bell, por tanto carinho e atenção que dedica a seus alunos, visando sempre o aprendizado e a ética.

A minha coorientadora, comadre, amiga de todas as horas, Jut, por todo incentivo, ensinamento, conselho e compreensão, que me fizeram enxergar minha capacidade de ir sempre além.

Aos meus amigos do GERX (Gustavo, Rafael, Karen, Marjorie, Guto), por tantos momentos de descontração e interação.

A diretoria do Instituto de Química da UNICAMP e aos funcionários pela parceria e apoio na realização dos projetos no AIQ e em especial à Cláudia por requisitar por dois anos consecutivos a realização da “proposta do Chocolate” no Programa Química em Ação.

Ao diretor da ETEC Monte Mor, Adilson, por conceder o transporte aos estudantes até a UNICAMP e a Professora Kátia que acompanhou as atividades experimentais.

A todos os estudantes que participaram das atividades com tanto empenho, dedicação e entusiasmo.

Aos meus pais que sempre me proporcionaram condições de bons estudos e me ajudaram em tantos momentos.

A minha irmã Sheila por todas as orações nos momentos decisivos da minha vida.

Ao meu esposo Hítalo e aos meus filhos Elisa, Nicolás e Caetano que souberam aceitar a minha ausência, que suportaram junto a mim momentos de grandes dificuldades e por participarem de tantos momentos felizes.

Ao CNPq pelo apoio financeiro.

“Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina” Cora Coralina

CURRÍCULUM VITAE

- **Graduação – Licenciatura em Química**

(Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas-SP, Conclusão: 2001)

- **Graduação – Bacharelado em Química Tecnológica**

(Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas-SP, Conclusão: 2001)

Participou de eventos científicos, com apresentações de trabalhos tanto na área de Ensino como de Química Analítica.

Desenvolveu e coordenou o projeto “Integração Escola-Universidade”, com apoio da diretoria do Instituto de Química, no Ano Internacional da Química (AIQ-2011).

Foi monitora e palestrante em duas edições do programa Química em Ação (2011 e 2012) para estudantes e professores e do programa Química em Ação na escola (2011 e 2012).

Participou como estagiária docente (PED) na disciplina QA112 no 1º semestre de 2013 sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Carla Beatriz Grespan Bottoli.

Atuante como professora de Química da Rede Estadual de Ensino por 14 anos.

Para maiores detalhes, consultar o currículo Lattes.

<http://lattes.cnpq.br/4875921298444977>

RESUMO

“USO DOS TEORES DE GORDURA EM CHOCOLATE DETERMINADOS POR ESTUDANTES DE ENSINO MÉDIO NA UNIVERSIDADE PARA ELABORAÇÃO DE UM MÉTODO RÁPIDO, SIMPLES E VERDE: PROPOSTA COM ASPECTOS DIDÁTICOS E ANALÍTICOS”

O chocolate é um dos alimentos processados mais consumidos no mundo, apresentando importância não só econômica como também nutricional e medicinal, podendo ser consumido por todas as faixas etárias. Nos rótulos de alimentos são apresentadas várias informações nutricionais, entre elas, o teor de gordura. A determinação deste parâmetro geralmente é feita pelo método Bligh-Dyer, um procedimento lento, que requer o uso de reagentes tóxicos, sendo gerador de resíduo. Visando reduzir ou eliminar estes aspectos negativos, foram desenvolvidos modelos de calibração e validação para determinar o teor de gorduras totais em chocolates a partir da aliança entre a fluorescência de raios X e a quimiometria. Apesar de tais aspectos, o método Bligh-Dyer é simples, não requerer equipamento sofisticado e apresenta um elevado potencial didático. Portanto, para a construção dos modelos quimiométricos, os valores considerados como de referência foram determinados pelo método de Bligh-Dyer por alunos de ensino médio de escolas públicas da região de Campinas, depois de estudos estatísticos dos mesmos. Desta forma, utilizando um alimento muito consumido pelo público jovem, foi possível integrar alunos do ensino médio com a universidade e propor uma alternativa ao método analítico convencional, sendo muito atraente para análises de rotina, com erros inferiores ao estabelecidos pela legislação brasileira vigente.

ABSTRACT

"USE OF FAT CHOCOLATE CONTENTS OBTAINED BY HIGH SCHOOL STUDENTS IN THE UNIVERSITY FOR THE DEVELOPMENT OF A FAST, SIMPLE AND GREEN METHOD: A PROPOSITION WITH EDUCATIONAL AND ANALYTICAL ASPECTS"

Chocolate is one of the most processed foods consumed in the world, presenting not only economic but also nutritional and medicinal importance, being consumed by all age groups. Nutritional data are presented at food labels, including fat contents. The determination of this parameter is based on Bligh-Dyer method, considered time-consuming, laborious and producing residues. These methods involve the use of reagents (some toxic) besides destroying the samples. In order to reduce or eliminate these negative aspects, calibration and validation models have been developed to determine the total fat content in chocolates from the alliance between X-ray fluorescence and chemometrics. Despite these aspects, the Bligh-Dyer method is simple, does not require sophisticated apparatus and shows a high didactic potential. Therefore, reference fat values were determined by the method of Bligh-Dyer by high school students from public schools in the region of Campinas and were used to construct chemometric models. Thus, using a attractive food consumed by young students, it was possible to integrate high school to the university and to propose an alternative to conventional analytical method. It is very attractive for routine analysis, with errors lower than those established by Brazilian legislation.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	xix
LISTA DE TABELAS	xxi
LISTA DE FIGURAS	xxiii
LISTA DE EQUAÇÕES	xxv
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO	1
I.1 INTRODUÇÃO GERAL	3
I.2 ROTULAGEM DE ALIMENTOS	5
I.3 CHOCOLATES	6
I.4 GORDURAS	6
I.5 MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE GORDURA	9
I.6 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X	10
I.7 QUIMIOMETRIA	13
I.8 PARÂMETROS CURRICULARES NACIONAL DO ENSINO MÉDIO (PCNEM) DE QUÍMICA.....	17
I.9 QUESTIONÁRIO	18
PARTE I: ASPECTOS DIDÁTICOS	21
CAPÍTULO II – OBJETIVOS DIDÁTICOS - PARTE I	23
II.1 OBJETIVOS DIDÁTICOS	25
CAPÍTULO III – EXPERIMENTAL – PARTE I	27
III.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	29
III.2 ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DOS QUESTIONÁRIOS	30
III.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL – MÉTODO BLIGH-DYER	31
CAPÍTULO IV – RESULTADOS E DISCUSSÃO – PARTE I	35
IV.1 QUESTIONÁRIOS	37
IV.2 MÉTODO BLIGH-DYER	42
CAPÍTULO V – CONCLUSÃO - PARTE I	47
V.1 CONCLUSÃO	49
CAPÍTULO VI – PERSPECTIVA – PARTE I	51

VI.1 PERSPECTIVA	53
PARTE II: ASPECTOS ANALÍTICOS	55
CAPÍTULO VIII – OBJETIVOS ANALÍTICOS - PARTE II	57
VIII.1 OBJETIVOS ANALÍTICOS	59
CAPÍTULO IX – EXPERIMENTAL – PARTE II	61
IX.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	63
IX.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL - MÉTODO PROPOSTO	63
CAPÍTULO X – RESULTADOS E DISCUSSÃO – PARTE II	65
X.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
CAPÍTULO XI – CONCLUSÃO – PARTE II	81
XI.1 CONCLUSÃO	83
CAPÍTULO XII – PERSPECTIVAS – PARTE II	85
XII.1 PERSPECTIVAS	87
CAPÍTULO XIII – TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....	89
XIII.1 TRATAMENTO DE RESÍDUOS	91
CAPÍTULO XIV – ANEXOS	93
XIV.1 ANEXO I: DECLARAÇÃO DE PARCERIA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP	95
XIV.2 ANEXO II: DECLARAÇÃO DE PARCERIA DA ESCOLA.....	96
XIV.3 ANEXO III: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (MAIOR DE IDADE)	97
XIV.4 ANEXO IV: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (MENOR DE IDADE)	99
XIV.5 ANEXO V: PARECER DO CEP	101
CAPÍTULO XV – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
XV.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Descrição em Inglês	Descrição em Português
ANVISA	---	<i>Agência Nacional de Vigilância Sanitária</i>
EDXRF	<i>Energy Dispersive X-Ray Fluorescence</i>	Fluorescência de Raios X por Dispersão de Energia
FAO	<i>Food and Agricultural Organization</i>	Organização de Alimentos e Agricultura
FRX	<i>X-Ray Fluorescence</i>	Fluorescência de Raios X
GERX	---	Grupo de Espectrometria de Raios X
HDL	<i>High density lipoprotein</i>	Lipoproteína de alta densidade
ICCO	<i>International Cocoa Organization</i>	Organização Internacional de Cacau
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>	Lipoproteína de baixa densidade
LOD	<i>Limit of Detection</i>	Limite de Detecção
LOQ	<i>Limit of Quantitation</i>	Limite de Quantificação
LV	<i>Latent Variable</i>	Variável Latente
mf	<i>Final Mass</i>	Massa Final
mi	<i>Initial Mass</i>	Massa Inicial
PC	<i>Principal Component</i>	Componente Principal
PCA	<i>Principal Component Analysis</i>	Análise por componentes principais
PCNEM	---	Parâmetros Curriculares Nacionais do Ensino Médio
PLS	<i>Partial Least Squares</i>	Regressão por Quadrados

		Mínimos Parciais
Abreviatura	Descrição em Inglês	Descrição em Português
PRESS	<i>Predicted Residual Error Sum of Squares</i>	Soma dos quadrados dos erros de previsão
r_{cal}	<i>Correlation Coefficient of Calibration</i>	Coefficiente de Correlação da Calibração
RDC	---	Resolução da Diretoria Colegiada
RMSEC	<i>Root Mean Square Error of Calibration</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Calibração
RMSEP	<i>Root Mean Square Error of Prediction</i>	Raiz Quadrada do Erro Médio Quadrático de Previsão
r_{val}	<i>Correlation Coefficient of Validation</i>	Coefficiente de Correlação da Validação
SDV	<i>Standard Deviation of Validation</i>	Desvio Padrão dos Erros de Validação
SÊN	<i>Sensitivity</i>	Sensibilidade
$V_{clorofórmio}$	<i>Volume of Chloroform</i>	Volume de Clorofórmio
VP	<i>Predicted Value</i>	Valor Previsto
V_{pipeta}	<i>Volume of Pipet</i>	Volume da Pipeta
VR	<i>Reference Value</i>	Valor de Referência
γ	<i>Analytical Sensitivity</i>	Sensibilidade Analítica

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número de replicatas aceitas pelo Teste Q com 95% de confiança e consideradas no cálculo do teor médio de gordura (Replicatas) das amostras de chocolate conforme o(s) agente(s) do método Bligh-Dyer	44
Tabela 2: Valores de referência (VR) e média dos valores obtidos para o teor de gordura (VP), ambos em g/100g, e erros relativos (Erro %) entre VR e VP para as amostras usadas no modelo de calibração via PLS	78
Tabela 3: Valores de referência (VR) e média dos valores obtidos para o teor de gordura (VP), ambos em g/100g, e erros relativos (Erro %) entre VR e VP para as amostras externas	79
Tabela 4: Figuras de Mérito do modelo multivariado para o teor de gordura em amostras de chocolate	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação de isômeros geométricos Cis-Trans	07
Figura 2: Representação do efeito fotoelétrico e processo de estabilização do átomo envolvendo elétrons externos	11
Figura 3: Diagrama de transições de raios X e suas respectivas denominações	11
Figura 4: Representação dos efeitos Compton e Rayleigh	12
Figura 5: Pré-questionário aplicado aos alunos que participaram da atividade de interação entre Universidade-Escola	38
Figura 6: Pós-questionário aplicado aos alunos que participaram da atividade de interação entre Universidade-Escola	39
Figura 7: Espectros de FRX sobrepostos de amostras de chocolate	67
Figura 8: Gráfico de <i>scores</i> para PC1 x PC2	69
Figura 9: Gráfico de <i>scores</i> para PC2 x PC3	69
Figura 10: Gráfico de <i>scores</i> para PC1 x PC3	70
Figura 11: Gráfico de <i>loadings</i> para PC1	71
Figura 12: Gráfico de <i>loadings</i> para PC2	71
Figura 13: Gráfico de <i>loadings</i> para PC3	72
Figura 14: Gráfico de Press de Calibração	74
Figura 15: Gráfico do coeficiente de regressão para o modelo PLS	75
Figura 16: Gráficos de <i>loadings</i> separadamente para oito variáveis latentes usadas na construção do modelo PLS.....	76
Figura 17: Relação entre os valores de referência e os valores previstos dos teores de gorduras para calibração e validação interna via PLS	77

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Equação de Atwater	05
Equação 2: Decomposição da matriz de dados (X) resultante de aplicação do método PCA	14
Equação 3: Sensibilidade do modelo	16
Equação 4: Limite de detecção	16
Equação 5 : Limite de quantificação	16
Equação 6: T_{bias}	16
Equação 7: bias	16
Equação 8: Desvio Padrão para erros de validação (SDV)	17
Equação 9: Cálculo do teor de gordura	32
Equação 10: Equação matemática para o modelo de calibração	77

I. INTRODUÇÃO

I.1 INTRODUÇÃO GERAL

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a ANVISA, todos os produtos obtidos a partir da mistura de derivados de cacau (massa de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau) com outros ingredientes, contendo no mínimo 25% de sólidos de cacau, são chamados de chocolate. O produto pode apresentar recheio, cobertura, formato e consistência variados (Brasil, 2005).

A fabricação de chocolate segue as normas internacionais recomendadas pela FAO (*Food and Agricultural Organization*) e ICCO (*International Cocoa Organization*) que englobam diversos tipos de produtos homogêneos, preparados a partir de raspas, farelo, massa, manteiga ou pasta de cacau; além do próprio cacau em pó. A adição de açúcares, leite, castanhas e outros ingredientes podem ser realizadas, conforme os tipos de chocolates desejados, afetando diretamente o rendimento de gordura do produto final (Minin e Cecchi, 1998; Minin *et al.*, 1999).

Legislações de diversos países exigem que os alimentos pré-embalados apresentem rótulo com informações sobre as propriedades nutricionais, permitindo que o consumidor possa adequar sua dieta (Agarwal *et al.*, 2006; Kays *et al.*, 1996).

Embora as informações variem conforme o tipo de alimento, os rótulos devem apresentar dados referentes ao valor energético, teores de proteína, de carboidrato, de gordura e de fibras alimentares (Kays *et al.*, 1996; Celeste, 2001).

As gorduras são biomoléculas orgânicas insolúveis em água, que podem ser extraídas de células e tecidos por solventes orgânicos não polares. Entre os métodos encontrados na literatura para a quantificação do teor de gordura, o de Bligh-Dyer (Bligh e Dyer, 1959) é o menos complexo, pois utiliza apenas vidraria simples, não dependendo de nenhum equipamento específico ou sofisticado. Por outro lado, para sua execução, são necessários solventes orgânicos tóxicos, uma vez que o procedimento utiliza uma mistura de clorofórmio-metanol-água e o procedimento é lento, laborioso e gerador de uma grande quantidade de resíduos (Terra, 2009).

Apesar de ser o método oficial empregado atualmente na indústria alimentícia, os aspectos negativos do método Bligh-Dyer citados comprovam a necessidade de se desenvolver um método alternativo para determinação de teores de gordura em alimentos.

Devido ao seu caráter oficial, o método Bligh-Dyer foi utilizado como sendo o de referência para obtenção e validação do método proposto. Paralelamente, cabe ressaltar que a sua realização envolve etapas de elevado potencial didático, representado pelos diversos conceitos químicos e técnicas de laboratório que podem ser explorados; em especial para as aulas de Química do ensino médio (Forchetti *et al.*, 2011).

É fato que, entre os estudantes do ensino médio existe uma imagem muito negativa da Química, já que se associa à disciplina uma grande complexidade e dificuldade. Muitas vezes ainda, estes estudantes chegam a considerar que essa ciência não faz parte de suas vidas (Terra e Bueno, 2011). Com o intuito de despertar o interesse e a importância dos conceitos presentes nos currículos escolares verifica-se, portanto, a necessidade da utilização de propostas alternativas. Uma possível forma de ampliar a percepção pública da importância da Química é a interação entre a escola e a universidade. A realização de um método oficial (Bligh-Dyer) em um ambiente de ensino universitário, envolvendo um produto atrativo e muito consumido pelo público juvenil foi comprovada como sendo uma ferramenta para estimular o interesse pela pesquisa e por projetos científicos (Forchetti *et al.*, 2011).

Visando minimizar aspectos relacionados ao consumo de reagentes e geração de resíduos, além de tempo reduzido de análise e utilizando os teores de gordura obtidos pelos estudantes, como valores de referência, foram desenvolvidos métodos de calibração e validação. Aliando a fluorescência de raios X e a quimiometria, foi possível estabelecer um modelo robusto de previsão de amostras variadas de chocolates quanto ao teor de gordura.

I.2 ROTULAGEM DE ALIMENTOS

Os consumidores esperam e acreditam na veracidade de informações contidas nas embalagens de alimentos, principalmente para aqueles que necessitam de uma dieta mais controlada. Os excessos ou deficiências quanto aos nutrientes podem ocasionar doenças cardíacas, obesidade, osteoporose, entre outros problemas. As informações nutricionais são obrigatórias para valor energético (VE), teores de proteínas, carboidrato, gordura, fibra alimentar; e o cumprimento da legislação ocorre através de um controle analítico (Kays *et al.*, 1996).

A ANVISA é o órgão brasileiro que, entre outras funções, estabelece as legislações e seus cumprimentos relacionados com a rotulagem nutricional que deve estar presente nos alimentos pré-embalados. A resolução RDC 360 de 23 de dezembro de 2003 institui uma tolerância de 20% nos valores nutricionais declarados no rótulo (Brasil, 2003).

Segundo esta resolução, o valor energético e o teor de nutrientes devem aparecer no rótulo. Também devem ser apresentadas as chamadas informações nutricionais complementares, que consistem de quaisquer representações que afirmem, sugiram ou implique que um produto possui propriedades nutricionais particulares, especialmente, mas não somente, em relação ao seu valor energético e conteúdo de proteínas, gorduras, carboidratos e fibra alimentar, assim como ao seu conteúdo de vitaminas e minerais (Brasil, 2003).

Estudos realizados por Bryant e Atwater relacionam o valor energético (VE) com os teores de carboidrato (C), proteína (P) e gordura (G) de um determinado alimento (Harris, 2001).

$$VE = 4C + 4P + 9G \text{ Equação 1}$$

A determinação do teor de cada um dos macronutrientes envolvidos na equação de Atwater é realizada por métodos analíticos distintos. Para a quantificação de gordura, vários são os métodos encontrados na literatura, sendo

o método proposto por Bligh e Dyer (Bligh e Dyer, 1959) o mais utilizado pela indústria de alimentos.

I.3 CHOCOLATES

A utilização de chocolate pelos humanos data do período pré-clássico (de 900 aC até 250 dC). Foram detectados resíduos de cacau em cerâmicas maia que datam de 600 aC. Em várias delas e em murais, é possível visualizar hieróglifos que simbolizam a oferta de chocolate a governantes e deuses. Segundo Hurst e colaboradores, esta é a justificativa da designação latina para cacauzeiro, *Theobromacacao*, significar “alimento dos deuses” (Hurst *et al.*, 2002).

Estudos sobre a história, fabricação e divulgação do chocolate (McFadden e France, 2003) descrevem que Don Cortez, após a conquista do México em 1520, levou a bebida à base de favas de cacau para a Espanha. Amarga e adstringente, a bebida ganhou nova versão quando os espanhóis adicionaram açúcar. Apenas em 1727, Nicholas Sanders propôs a adição de leite à bebida, aumentando o teor de gordura da mesma.

Em 1828, o holandês Conrad Van Houtten desenvolveu uma técnica de prensagem do cacau moído para extrair a manteiga de cacau. A partir de então, surgiram as primeiras ideias de chocolate comestível, associando a mistura moída de favas de cacau, açúcar e manteiga de cacau. Em 1847, na Inglaterra, Joseph Storrs Fry comercializou as primeiras barras de chocolate, seguido rapidamente pelos irmãos Cadbury (McFadden e France, 2003).

Com o desenvolvimento das barras de chocolate, este produto foi se difundindo ainda mais pelo mundo, adquirindo cada vez mais consumidores, assim como atraindo novos empreendedores.

I.4 GORDURAS

Os lipídios são biomoléculas orgânicas insolúveis em água que podem ser extraídas de células e tecidos por solventes orgânicos não polares. Os lipídios

possuem várias funções biológicas importantes: são componentes estruturais de membranas e estão relacionados ao armazenamento e transporte de combustível metabólico (Lehninger, 1990).

A importância nutritiva/fisiológica das gorduras está associada principalmente ao seu poder energético, uma vez que nas reações de transformação do organismo, para cada grama de gordura são fornecidas 9 kcal, enquanto carboidratos e proteínas resultam em 4 kcal (Equação 1). Uma ingestão excessiva de gordura provoca doenças cardiovasculares e a redução de lipídeos pode resultar em deficiência de ácidos graxos polinsaturados essenciais e carência em vitaminas lipossolúveis. Simultaneamente, os lipídeos possuem funções indispensáveis no processamento dos alimentos, que incluem textura agradável, capacidade de solubilizar muitos constituintes aromáticos, aroma e sabor específicos (Belitz e Grosch, 1987; Terra, 2009).

Os óleos e gorduras são compostos de trigliceróis sendo obtidos pela reação química entre o glicerol e ácido graxo, podendo conter ligações duplas, o que torna a molécula insaturada, ou ligações simples, molécula saturada. Em ocasiões de ocorrência de insaturações o fenômeno de isomeria geométrica pode acontecer nas formas *cis* e *trans*, conforme a Figura 1.

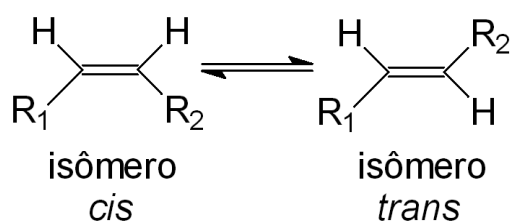


Figura 1: Representação de isômeros geométricos Cis-Trans

A formação de ácido graxo *trans* tem como vantagem um ponto de fusão superior ao isômero *cis*, possibilitando um aumento do teor de sólidos na gordura hidrogenada (Ribeiro *et al.*, 2007), porém seu efeito para a saúde humana é preocupante.

Alimentos que apresentam gorduras saturadas em sua composição, como carnes, leite e derivados, possuem um aumento no índice de LDL-colesterol, podendo provocar doenças cardíacas, acúmulo de gordura no sangue, obesidade, entre outros. No entanto, os processos de hidrogenação total ou parcial de óleos vegetais comuns em indústrias, pelo fato de promover a retirada de odores e sabores indesejáveis, bem como a reutilização de óleos em frituras, tem proporcionado a formação de ácidos graxos trans (Feuge *et al.*, 1962; Glushenkova e Markman, 1968; Raju *et al.*, 1968). Aspectos relatados por Martin e colaboradores revelam que a ingestão de gorduras *trans*, em média, é de 80 a 90% referente ao consumo de alimentos com hidrogenação parcial (Martin *et al.*, 2004).

Os ácidos graxos *trans* são considerados os grandes vilões da saúde porque alteram a relação LDL-colesterol/HDL-colesterol, aumentando o nível de “mau colesterol” (LDL) e diminuindo o “bom colesterol” (HDL) no organismo. Tal fato acentua os problemas gerados pelo consumo de qualquer tipo de gordura (Willett e Ascherio, 1995; Mozaffarian *et al.*, 2006).

Devido a inúmeros problemas provocados pelo consumo de gorduras *trans*, a ANVISA determina que o rótulo apresente o teor dessa gordura em mg/porção de alimento. Dessa forma, vários produtos foram reformulados inserindo gordura saturada para manter suas características (Gagliardi *et al.*, 2009; Brasil, 2010).

A manteiga de cacau é a principal forma de gordura presente nos chocolates. Ela possui características próprias, sendo obtida por processo tecnológico adequado da massa de amêndoas do cacau (Brasil, 2005).

A manteiga do cacau é composta predominantemente (75%) de trigliceróis simétricos como o ácido oleico, possuindo apenas traços de trigliceróis assimétricos. Apresenta aproximadamente 20% de trigliceróis na fase líquida a temperatura ambiente, possuindo faixa de fusão entre 32-35 °C e amolecimento ao redor de 30-32 °C. Ácidos graxos saturados e monoinsaturados também são

encontrados na manteiga de cacau, em especial, o ácido palmítico, esteárico e oleico (Shukla, 1995; Afoakwa *et al.*, 2007).

A escolha do tipo do triglicerol e do ácido graxo utilizado na massa do chocolate pode influenciar no polimorfismo da cristalização da gordura na etapa de temperagem, possibilitando a estabilidade mesmo diante de alterações de temperatura e evitando efeitos de “*fat bloom*” com formação de uma camada esbranquiçada na superfície (Feuge *et al.*, 1962; Minifie, 1989).

Para substituição total ou parcial da manteiga de cacau, a indústria e pesquisadores têm trabalhado no desenvolvimento de sucedâneos, produzindo gorduras que atendam às necessidades dos consumidores, às exigências legais e melhorando a qualidade da gordura do chocolate. Entre estas gorduras, estão as obtidas a partir de caroços de palma, coco ou babaçu, as chamadas de láuricas, que são líquidas em temperatura ambiente e de fácil cristalização, melhorando a consistência do chocolate e efeito de derretimento na boca (Lannes, 1993; Lannes e Gioielli, 1996; Richter e Lannes, 2007).

I.5 MÉTODO DE EXTRAÇÃO DE GORDURA

A extração de óleo/gordura é um processo físico que consiste na retirada deste composto de uma determinada amostra com uso de solvente e recuperado sem ocorrência de qualquer reação química (Regitano-d'Arce e Lima, 1987).

O primeiro aparelho para extração de lipídios em matrizes orgânicas foi desenvolvido por Franz Von Soxhlet, em 1879 (Schneider, 1980), com a vantagem da amostra permanecer em contato com o solvente durante o processo, possibilitando maior obtenção de gordura e apresentar metodologia simples (De Castro e Garcia-Ayuso, 1998). Por outro lado, a quantificação de alguns componentes lipídicos pode ser comprometida, já que o solvente permanece em refluxo por muitas horas, o que favorecem as reações de peroxidação e hidrólise (Kates, 1972).

Uma alternativa para eliminar os aspectos negativos da proposta de Soxhlet é usar o método de Bligh-Dyer. Este método é de simples realização, sem

uso de equipamentos sofisticados e há extração eficiente de lipídios neutros e polares, sustentada pela teoria do equilíbrio líquido-líquido de três componentes (clorofórmio, metanol e água), cuja solubilidade pode ser verificada pelo diagrama ternário (Bligh e Dyer, 1959).

A amostra é misturada com metanol e clorofórmio numa proporção em que formam uma fase. A adição de mais clorofórmio e água, após agitação, promove a formação de duas fases distintas, uma de clorofórmio, contendo lipídios, e a outra de metanol e água, fase aquosa. A fase do clorofórmio com a gordura é separada e, após a evaporação do solvente, obtém-se a pesagem quantitativa de gordura (Terra, 2009).

I.6 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS X

A fluorescência de raios X (FRX) é uma técnica de análise relacionada com a medida de energia e intensidade características da radiação X emitida por uma amostra irradiada com radiação eletromagnética (IUPAC, 2013). A resposta analítica gerada é obtida pela medida das intensidades dos raios X emitidos pelos elementos presentes na amostra em seus comprimentos de onda correspondentes.

Para os elementos ditos pesados ($Z > 11$) é o efeito fotoelétrico que permite obter as informações quali e quantitativas. Quando um elemento recebe alta energia, um elétron é foto-ejetado com energia cinética equivalente à diferença entre a energia inicial da partícula e a energia de ligação do elétron com o átomo, gerando uma vacância e deixando o átomo instável (Skoog *et al.*, 2002). Para reestabelecer a estabilidade do átomo, é possível que um elétron de camada mais externa ocupe a vacância, sendo que a diferença de energia entre os níveis eletrônicos será emitida na forma de fótons de raios X (Figura 2):

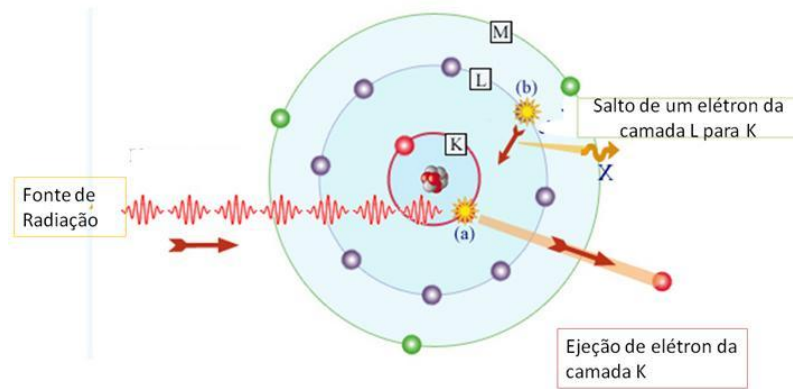


Figura 2: Representação do efeito fotoelétrico e processo de estabilização do átomo envolvendo elétrons externos.

A camada a ser preenchida pelo fóton determina a nomenclatura da emissão de raios X, sendo α (a mais próxima), β , γ , δ , etc, segundo o diagrama (Jenkins, 1970).

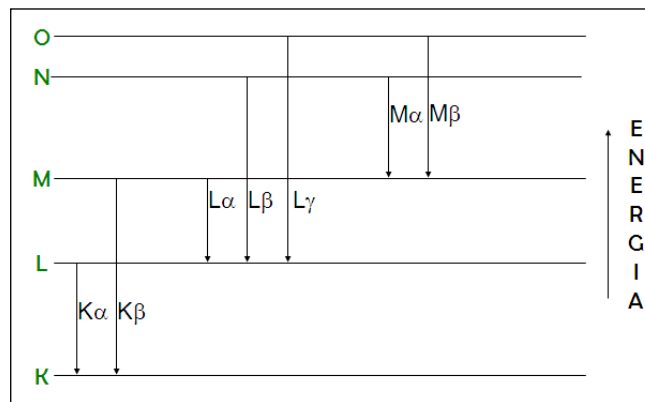


Figura 3: Diagrama de transições de raios X e suas respectivas denominações.

A energia liberada do deslocamento eletrônico dos átomos da amostra irradiada pela radiação X é característica de cada elemento, enquanto a intensidade da energia emitida é proporcional à quantidade do elemento na amostra (Jenkins e De Vries, 1970; Skoog *et al.*, 2002).

Embora o efeito fotoelétrico não tenha os mesmos resultados para os elementos considerados leves, pois estes promovem o espalhamento excessivo da FRX, informações importantes podem ser obtidas sobre eles quando são aplicadas ferramentas quimiométricas. Isto porque, o perfil do espectro

dependente de várias características da amostra como composição, estrutura cristalina e concentrações relativas de seus componentes (Terra *et al.*, 2010a).

Sendo assim, às já conhecidas vantagens da FRX como rapidez, realização de pouco ou nenhum pré-tratamento da amostra, baixo custo operacional e não necessidade de uso de reagentes, pode ser acrescida a obtenção de resultados qualitativos e quantitativos, tanto da parte inorgânica quanto orgânica da amostra (Terra *et al.*, 2010b).

Na FRX, todos os átomos espalham fótons de raios X do feixe incidente simultaneamente ao efeito fotoelétrico, são os denominados efeitos Rayleigh, Compton e Raman. A intensidade do espalhamento depende do número atômico, principalmente para elementos ditos leves ($Z < 11$) e da composição orgânica da amostra (Jenkins, 1970).



Figura 4: Representação dos efeitos Compton e Rayleigh

Atualmente, para análises qualitativas ou quantitativas utilizando a técnica de FRX para amostras que apresentam muito espalhamento, o uso de ferramentas quimiométricas pode revelar diversas informações químicas relevantes.

I.7 QUIMIOMETRIA

A quimiometria, segundo a Sociedade Internacional de Quimiometria, é a área da química que emprega métodos matemáticos e estatísticos para planejar ou selecionar experimentos fornecendo o máximo de informações químicas com a análise dos dados (ICS, 2013). Ela vem demonstrando ser uma ferramenta importante para a química analítica, pois pode trazer informações através de variáveis espectrais determinadas pelos diversos tipos de instrumentos, facilitando a interpretação de resultados (Ferreira *et al.*, 1999).

Uma das limitações da técnica de FRX era a obtenção de informações químicas em amostras complexas e de matriz orgânica devido ao alto grau de espalhamento gerado por átomos leves de carbono e hidrogênio, porém a associação com a quimiometria permitiu um avanço significativo para análises quali e quantitativas. Unindo FRX e quimiometria, De Oliveira e colaboradores (2010) desenvolveram, a partir de espectros de FRX, uma metodologia capaz de determinar quantitativamente espécies de Cr^{3+} e Cr^{6+} em solução, diretamente por calibração multivariada. A principal explicação para o método desenvolvido está relacionada à combinação dos picos de cromo e da região de espalhamento do tubo de raios X conterem informações específicas para cada espécie analisada. Terra e colaboradores (2010a) quantificaram a partir do método PLS (do inglês, *Partial Least Squares*), teores de carboidratos, proteínas, gorduras e valores energéticos de alimentos industrializados, de maneira rápida e sem uso de reagentes, por EDXRF. Os erros apresentados foram menores que 14%. Em FRX, as análises exploratórias também podem ser feitas por uso de ferramentas quimiométricas, como proposto por Custo *et al.* (2002) para classificação de solos.

As principais ferramentas quimiométricas utilizadas são a análise por componentes principais (PCA – do inglês, *Principal Component Analysis*) e a regressão por quadrados mínimos parciais, o PLS. Ambas consistem na redução da dimensionalidade do conjunto de dados a partir de combinações lineares das variáveis originais (Moita Neto e Moita, 1998; Martens e Naes, 1996; Beebe, 1998).

A base fundamental da maioria dos métodos modernos para tratamento de dados multivariados é a PCA. Este método consiste numa manipulação da matriz de dados com objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis, através de um número menor de "fatores", construindo um sistema de eixos para representar as amostras, no qual a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões (Malinowski, 1991).

PCA é um método que projeta os dados multivariados num espaço de dimensão menor e, como resultado, as informações mais relevantes se tornam mais "óbvias". Esta análise também pode ser usada para detectar amostras com comportamento atípico (anômalo), ou seja, diferenciado do restante do conjunto (Martens e Naes, 1996).

Em uma PCA, o agrupamento das amostras define a estrutura dos dados através de gráficos de *scores* e *loadings*, cujos eixos são componentes principais, nos quais os dados são projetados. Como as componentes principais (PC) são ortogonais, é possível estabelecer relações entre as amostras e variáveis. Este método está fundamentado no conceito de correlação entre as variáveis originais, gerando nova variável (PC) direcionada ao longo do eixo de maior espalhamento dos dados. A sua aplicação implica em decompor a matriz de dados (**X**) em duas outras matrizes: a de *scores* (**T**) e a de *loadings* transposta (**P'**), conforme a Equação 2, onde **E** é a matriz de erros ao realizar esta decomposição (Ferreira *et al.*, 1999; Wold *et al.*, 1987).

$$\mathbf{X} = \mathbf{TP}' + \mathbf{E} \quad \text{Equação 2}$$

A matriz de *scores* expressa a relação entre as amostras, apresentando as suas coordenadas em um novo sistema de eixos. Já a matriz de *loadings* expressa a relação entre as variáveis, identificando o quanto cada uma delas contribuiu na formação das componentes principais (Ferreira *et al.*, 1999; Wold *et al.*, 1987).

Para se estabelecer uma relação quantitativa entre as variáveis e as informações de interesse, cria-se um modelo matemático ou de calibração através do método PLS.

O método PLS é uma ferramenta quimiométrica muito importante para ajustar um modelo robusto e que promove pouca alteração na inclusão de amostras externas no conjunto de calibração. A regressão PLS estabelece uma relação quantitativa entre o conjunto das respostas instrumentais (por exemplo, dados espectrais) e uma ou mais propriedades físicas ou químicas das amostras de interesse. A primeira etapa consiste em montar uma matriz de dados \mathbf{X} a partir de dados espectrais (variáveis independentes) e \mathbf{Y} as propriedades de interesse (variáveis dependentes). A segunda etapa é eliminar informações que não são relevantes ao sistema, através de combinações lineares das colunas da matriz \mathbf{X} realizada pela PCA. Na terceira etapa, relaciona-se a matriz \mathbf{X} (reduzida na PCA) com a matriz \mathbf{Y} que possui a propriedade de interesse. Nesse processo, é importante a escolha correta do número de variáveis latentes que irá fornecer a melhor previsão de novas amostras e com o menor erro de previsão. Um número muito grande de variáveis latentes leva a incorporação de ruídos (“*overfitting*”); por outro lado, um número reduzido de variáveis latentes resulta em um modelo pouco ajustado (Ferreira *et al.*, 1999; Wold *et al.*, 1987).

Os valores previstos pelo modelo são comparados com os valores de referência e os erros são calculados. A partir destes, é obtida a soma dos quadrados dos erros de previsão (PRESS, *Predicted Residual Error Sum of Squares*) para cada variável latente. Após a construção do modelo de calibração, amostras são utilizadas para verificar a capacidade de previsão do modelo (Martens e Naes, 1996).

Através das figuras de mérito, é possível verificar a adequação do modelo. A sensibilidade (SÊN) é dada pela Equação 3, na qual b_K é o vetor dos coeficientes de regressão estimado pelo modelo PLS. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) pelas Equações 4 e 5, respectivamente, nas quais

δ_x é uma estimativa do desvio padrão da flutuação do sinal analítico (Valderrama *et al.*, 2009):

$$S\hat{E}N = \frac{1}{\|b_k\|} \quad \text{Equação 3}$$

$$LOD = 3\delta_x \|b_k\| = 3\delta_x \frac{1}{S\hat{E}N} \quad \text{Equação 4}$$

$$LOQ = 10\delta_x \|b_k\| = 10\delta_x \frac{1}{S\hat{E}N} \quad \text{Equação 5}$$

Em termos estatísticos, erros aleatórios e sistemáticos podem estar associados às análises químicas. Uma das formas de se averiguar se os erros sistemáticos presentes em um modelo multivariado possui significância estatística é calcular o t_{bias} , conforme Equação 6, considerando SDV (do inglês, *Standard Deviation of Validation*) como sendo o desvio padrão para os erros de validação e n o número de amostras do conjunto de previsão.

$$t_{bias} = \frac{|bias|\sqrt{n}}{SDV} \quad \text{Equação 6}$$

Caso o valor de t_{bias} calculado seja maior que o valor t crítico ($t_{tabelado}$), para $n-1$ graus de liberdade a 95% de confiança, há evidências de que erros sistemáticos são significativos. Se $t_{bias} < t_{tabelado}$, os erros sistemáticos incluídos no modelo podem ser considerados insignificantes e desprezados (Valderrama *et al.*, 2009).

Segundo a IUPAC (Currie, 1999), o bias da Equação 6 corresponde à diferença entre a média da população e o valor verdadeiro para verificação do erro significativo. Sendo assim, na Equação 7, y_i e \hat{y}_i correspondem aos valores de referências e aos valores previstos pelo modelo:

$$bias = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)}{n} \quad \text{Equação 7}$$

O desvio padrão para os erros de validação (Valderrama *et al.*, 2009), SDV, é obtido através da Equação 8:

$$SDV = \sqrt{\frac{\sum [(y_i - \hat{y}_i) - bias]^2}{n-1}} \quad \text{Equação 8}$$

I.8 PARÂMETROS CURRICULARES NACIONAL DO ENSINO MÉDIO (PCNEM) DE QUÍMICA

Na escola, de modo geral, o indivíduo interage com um conhecimento essencialmente acadêmico, principalmente através da transmissão de informações, supondo que o estudante, memorizando-as passivamente, adquira o “conhecimento acumulado”. É importante apresentar ao aluno fatos concretos, observáveis e mensuráveis, uma vez que os conceitos que o aluno traz para a sala de aula advêm principalmente de sua leitura do mundo macroscópico (Pereira, 2009).

No nível médio de ensino, a atividade experimental precisa ser programada, seja ela demonstrativa ou não, para que se tenha objetivos claros a serem alcançados, visando sempre o aprendizado significativo de conceitos, desenvolvimento de habilidades cognitivas, como transposição de linguagem química de símbolos, fórmulas e reações para algo mais próximo à sua realidade, interpretação de tabelas, gráficos, elaboração de resoluções de problemas e contribuições nas tarefas do grupo (Silva e Bandeira, 2006).

As habilidades e competências podem ser trabalhadas no Ensino de Química de maneira lúdica, para que se tenha maior participação e interesse da turma no processo de ensino e aprendizagem (Silva e Uchôa, 2009).

Os Parâmetros Curriculares Nacional do Ensino Médio (PCNEM) foram criados por especialistas e educadores de todo o Brasil para auxiliar os profissionais da educação na elaboração do currículo escolar e planejamento de aulas, tendo em vista uma nova vida contemporânea com muitas informações e

conteúdos interdisciplinares. Os PCNEM enfatizam a importância de se trabalhar a experimentação, pois, além de aspectos pedagógicos, ela permite estabelecer habilidades cognitivas. Paralelamente, a exploração de conceitos de forma contextualizada favorece o processo de ensino e aprendizagem (Brasil, 1999).

Seguindo estas colocações, a proposta deste trabalho envolveu uma atividade experimental em laboratórios de ensino universitário e a vivência de um experimento tal como ele ocorre em um ambiente industrial envolvendo uma amostra de grande conhecimento do público alvo, isto é, alunos de ensino médio.

I.9 QUESTIONÁRIO

A química é uma disciplina geralmente “renegada” pelos estudantes de ensino médio por vários aspectos. Possivelmente um deles esteja associado à imagem popular da química, visto que, em geral, a mídia apresenta esta ciência como grande vilã. A divulgação de ações de grande importância e interesse para a população pode quebrar este “senso comum”, como a demonstração de análise química para o controle de qualidade de diversos materiais, alimentos, etc ou ainda a criação de novos medicamentos, produtos e técnicas instrumentais.

Com o objetivo de mapear as impressões dos estudantes sobre a ciência Química, assim como criar um instrumento para averiguar se a proposta atingiu os objetivos propostos com relação à parte didática, utilizou-se um questionário para coleta de dados.

O questionário é uma técnica estruturada para coleta de dados por amostragem, que consiste de uma série de perguntas que um entrevistado deve responder (Günther, 2003; Trujillo, 1998; Malhotra, 2001). Em uma pesquisa de opinião, de modo geral, pode-se classificar 2 categorias, de acordo com a forma de obtenção e tratamento dos dados. Usualmente, essas categorias são conhecidas como: *Pesquisa Qualitativa* e *Pesquisa Quantitativa* (Trujillo, 1998).

Neste trabalho, optamos pela realização de uma pesquisa quantitativa, tendo como instrumento de pesquisa um questionário. A opção em se fazer uso desta técnica está relacionada a algumas de suas vantagens, como: economia de

tempo; abrangência simultânea de um maior número de pessoas; obtenção de respostas mais rapidamente; maior liberdade ao entrevistado em razão do anonimato; menor risco de distorção das respostas por influência do pesquisador; *etc*. Cabe ressaltar que o uso de questionários numa pesquisa quantitativa é um instrumento de auto aplicação e, como tal, apresenta alguns aspectos negativos como, por exemplo, grande número de perguntas sem respostas; impossibilidade de explicações de questões mal compreendidas; *etc* (Best e Kahn, 1998).

A pesquisa quantitativa utiliza-se de tratamento estatístico para que o público-alvo atinja a representatividade de um universo que resulta na quantificação dos dados (Malhotra, 2001; Best e Kahn, 1998). Também é necessário que o tratamento dos dados seja feito de maneira adequada, uma vez que, assim como para os dados experimentais instrumentais, existem sistemáticas muito bem estabelecidas para obtenção e tratamento de dados investigados por meio de pesquisa de opinião (Trujillo, 2001).

PARTE I: ASPECTOS DIDÁTICOS

II. OBJETIVOS DIDÁTICOS – PARTE I

II.1 OBJETIVOS DIDÁTICOS

Promover uma aproximação do estudante da escola pública a uma Universidade pública.

Propor, otimizar e realizar proposta experimental em laboratório de química universitário envolvendo estudantes do ensino médio para estimular a pesquisa neste nível de ensino e promover aprendizagem efetiva e interativa de diversos conceitos e procedimentos da Ciência Química, com a participação de estudantes, monitores de graduação e pós-graduação, bem como de professores.

Elaborar e validar questionários de opinião para verificar o potencial didático da proposta.

Quantificar os valores de gorduras totais em amostras de chocolate para serem usados como referência para um método alternativo que não gere resíduos e, portanto, venha de encontro com as necessidades ambientais.

“Quebrar” o senso comum de que os valores apresentados em rótulos de embalagens correspondem ao valor real e, portanto, alertar aos consumidores quanto à confiança absoluta nas informações nutricionais dos produtos industrializados.

III. EXPERIMENTAL – PARTE I

III.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O público alvo selecionado era composto de estudantes do ensino médio público que possuem em sua grade curricular a disciplina de Química. A integração Universidade-Escola ocorreu em 3 momentos distintos: nas atividades do ano internacional da Química realizadas pelo IQ-UNICAMP em 2011 (AIQM), no III Programa Química em Ação em 2011 e no IV Programa Química em Ação em 2012.

A proposta aplicada dentro das atividades do Ano Internacional da Química (AIQM, 2013) teve auxílio da diretoria do Instituto de Química que cedeu o espaço físico e materiais, além de auxílio financeiro para compra de reagentes e alimentação dos estudantes (Anexo I). A Escola Técnica de Monte Mor (ETEC) também apoiou a proposta, permitindo a divulgação da mesma em sua unidade junto aos seus alunos e patrocinando o transporte destes para a UNICAMP (Anexo II).

Para a otimização do experimento, 4 estudantes da ETEC realizaram a proposta no laboratório de pesquisa da Prof. Dra. Maria Izabel, GERX. Feitos todos os ajustes necessários, durante os dias 14 e 21 de maio de 2011, 80 estudantes do ensino médio da ETEC, local em que a autora deste trabalho atuava como professora, realizaram a atividade prática e responderam aos questionários solicitados. A seleção destes alunos teve início com uma divulgação da proposta na escola selecionada, a fim de verificar os estudantes interessados em participar. Para a participação efetiva, os interessados passaram por entrevista prévia com a mestranda, com a finalidade de explicar a proposta e no que consistiria a participação do estudante. A sua participação ainda implicou no preenchimento e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido pelo aluno ou responsável legal no caso de estudante menor de idade (Anexos III e IV)

O Programa Química em Ação que aconteceu no Instituto de Química da UNICAMP, nas férias escolares de julho, financiado pela Capes, contou com a participação de estudantes da rede pública de ensino de Campinas e região, com

atividades diversificadas como palestras, teatro, experimentos, visita ao museu exploratório de ciências, entre outras. Para os alunos que participaram do Programa Química em Ação, o processo de seleção obedeceu aquele estabelecido pelo programa, envolvendo os dirigentes de ensino das regiões Leste e Oeste de Campinas.

III.2 ELABORAÇÃO E VALIDAÇÃO DOS QUESTIONÁRIOS

Os questionários foram estruturados com perguntas sistematizadas em uma escala de alternativas, visando alcançar a uniformidade do entendimento dos entrevistados (Best e Kahn, 1998; Hair *et al.*, 1998).

Foram elaborados dois questionários contendo, cada um, dez questões objetivas, com 5 alternativas, com uso de linguagem acessível para um público de estudantes de Ensino Médio, aos quais chamamos de pré e pós-questionários. Antes de serem aplicados para o público alvo, os questionários foram testados para uma pequena amostra de entrevistados, com o objetivo de identificar e eliminar eventuais problemas ou ambiguidade de interpretação. A partir da validação, foram elaboradas as versões finais dos questionários.

Para aplicação dos questionários e divulgação de informações neste trabalho, foi necessário solicitar o parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP). Foi encaminhado um projeto para Ilmo Sr. Prof. Dr. Carlos Eduardo Steiner (presidente do Comitê de Ética em Pesquisa - FCM/UNICAMP) contendo todo o contexto do projeto, além da declaração de parceria do Instituto de Química da UNICAMP e da ETEC, os termos de consentimento livre e esclarecido e os questionários propostos (em anexo). O parecer favorável à proposta foi registrado pelo CEP como processo nº 716/2011 (ANEXO V).

III.3 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL: MÉTODO BLIGH-DYER

A realização do método Bligh-Dyer pelos estudantes ocorreu em laboratórios de ensino do Instituto de Química da UNICAMP. Todos os envolvidos receberam equipamentos de proteção individual e instruções prévias sobre as normas de conduta e segurança dentro do laboratório.

Antes dos estudantes iniciarem a parte prática, e após terem respondido o pré-questionário, foi entregue uma apostila contendo o procedimento detalhado e foi realizada uma aula sobre cada etapa da parte prática a ser executada pelos estudantes.

No laboratório, os estudantes trabalharam em trio e, para auxiliar os estudantes durante as atividades práticas, graduandos e pós-graduandos de química atuaram como monitores.

Cabe ressaltar que, para a construção dos modelos pelo método proposto (PARTE II - Aplicações Analíticas) foram utilizados apenas os resultados dos teores de gordura obtidos pelos alunos que participaram das atividades realizadas no ano de 2011.

I) Reagentes e Equipamentos

Para o preparo das soluções, foi utilizada água destilada (destilador de vidro) e todos os reagentes (clorofórmio, metanol e sulfato de sódio Anidro) apresentavam pureza analítica e eram da marca Synth.

Para pesagem foram usadas balanças analíticas, marca Quimis, modelo Q500L210C e série rs232; e, para derretimento das amostras e evaporação de solventes, a estufa da marca Fanem, modelo 315SE.

II) Medidas Analíticas

Primeiramente, os estudantes fizeram o reconhecimento das amostras, listando as informações trazidas nos rótulos das mesmas (marca, nome “fantasia”, tipo do chocolate, quantidade por embalagem, teor de gorduras totais).

Cada grupo de 3 alunos recebeu uma amostra e fez quantificação da gordura em duplicata. Portanto, eram esperadas 6 medidas por grupo.

Medidos em balança analítica ($\pm 0,1$ mg), 2 g de amostra foram adicionados em um tubo de ensaio de 70 mL com tampa de rosca. A este tubo foram transferidos, com auxílio de buretas, 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada.

O tubo tampado foi então agitado manualmente por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados, com buretas, 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 15 g L^{-1} . O tubo foi agitado por mais 2 minutos e o conteúdo transferido para funil de separação.

Após separação visual das fases, a que continha metanol e água foi devidamente descartada e a com clorofórmio foi recolhida em um béquer. O conteúdo do béquer foi então filtrado, utilizando funil de vidro e papel de filtro contendo aproximadamente 1 g de sulfato de sódio anidro.

Com o auxílio de pipeta volumétrica, 5 mL do filtrado foram transferidos para um béquer de 50 mL previamente, limpo, seco e pesado. O béquer foi colocado em estufa a $105 \text{ }^\circ\text{C}$, até evaporação total do solvente. Neste momento, todos os estudantes foram retirados do laboratório para evitar contatos com o vapor do clorofórmio e, posteriormente, pessoas habilitadas (monitores e técnicos do laboratório) retiraram os recipientes da estufa e colocaram em dissecadores para serem resfriados.

Em temperatura adequada, o béquer foi novamente pesado e o teor de gordura na amostra (% gordura) foi calculado conforme a Equação 9, onde $V_{\text{clorofórmio}}$ é o volume de clorofórmio utilizado para a extração da gordura (20,00 mL), V_{pipeta} é o volume da pipeta (5,00 mL), m_i , a massa de chocolate inicialmente pesada e m_f , a massa de gordura pesada após evaporação do solvente.

$$\% \text{ gordura} = \frac{V_{\text{clorofórmio}} \cdot m_f \cdot 100}{m_i \cdot V_{\text{pipeta}}} \quad \text{Equação 9}$$

III) Tratamento de dados

Os questionários foram analisados levando-se em consideração apenas as questões respondidas.

Os teores de gordura determinados pelos estudantes das atividades de 2011 foram comparados pelo teste Q com 95% de confiança (Baccan *et al.*, 2001; Miller e Miller, 2000) para verificar a precisão dos mesmos. Na sequência, a partir das replicatas não excluídas, foram calculados os valores médios e a estimativa do desvio padrão, valores considerados como sendo o de referência para a amostra. Tais valores foram comparados com aqueles apresentados no rótulo pelo fabricante para verificar adequação à legislação brasileira vigente.

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO – PARTE I

IV.1 QUESTIONÁRIOS

A aplicação dos questionários teve como objetivo específico verificar possíveis alterações nas concepções de diversos conceitos químicos por estudantes de ensino médio e suas opiniões sobre a ciência Química, após uma vivência de interação em laboratório do Instituto de Química da UNICAMP.

Para isso, foram criados e validados dois instrumentos de pesquisa que fossem capazes de verificar, com confiabilidade estatística, a opinião e o conhecimento prévio dos estudantes e os conhecimentos adquiridos pós-vivência.

Os questionários foram testados (validados) aplicando-se a uma pequena amostra de entrevistados, com o objetivo de identificar e eliminar eventuais problemas. Neste trabalho, isto foi feito com a aplicação do questionário para um total de 16 pessoas.

Os questionários foram respondidos de forma anônima e espontânea. O estudante teve a opção de não responder tais questionários, o que não ocasionaria qualquer punição; conforme “assegurado” no Termo de Consentimento Livre Estabelecido assinado pelo estudante ou responsável (em caso de menor de idade). No entanto, todos os estudantes responderam aos questionários, não necessariamente a todas as questões.

Analisando de forma mais criteriosa os questionários, depois da aplicação dos mesmos, foi possível constatar que algumas questões talvez não estivessem tão objetivas, proporcionando dúvidas. Por exemplo, o termo utilizado “precisão de vidraria volumétrica”, talvez não fosse adequado para o público, proporcionando um falso erro em relação ao conhecimento de vidraria. Neste caso uma pesquisa qualitativa poderia corrigir as falhas do questionário e proporcionar um aprofundamento em assuntos não abordados no questionário, mas que poderiam ser de extrema importância para compreender a linha de pensamento dos estudantes. Infelizmente, como a constatação desta característica do questionário só ocorreu após a atividade, não foi possível enriquecer os dados com a pesquisa qualitativa.



Pré-Questionário para alunos do ensino médio



A elaboração deste questionário foi feita levando em consideração as normas e sugestões encontradas na literatura especializada. Não tem objetivo de atribuir notas, apenas faz parte de uma pesquisa que está sendo desenvolvida no Instituto de Química. Agradecemos a colaboração de todos

GERX - Grupo de Espectroscopia de Raios X

- 1) Você gosta de química?
 - a) Adoro e, com certeza, faria um curso de química
 - b) Gosto, mas não faria um curso de química
 - c) Gosto apenas de alguns tópicos
 - d) Não gosto porque não vejo nenhuma utilidade da química
 - e) Não gosto porque acho muito difícil
- 2) Se você soubesse como é o trabalho de um químico, como ficaria a imagem da química para você?
 - a) Não mudaria porque já sei da importância da Química
 - b) Melhoraria muito porque eu descobriria uma utilidade para a química
 - c) Melhoraria um pouco porque eu descobriria uma utilidade para a Química
 - d) Não mudaria porque não tenho interesse em saber
 - e) Não mudaria porque o trabalho do químico não é importante
- 3) Você acha que, entre outras coisas, os químicos trabalham para atestar a qualidade de vários produtos de seu uso diário?
 - a) Sim, para muitos produtos
 - b) Sim, mas só para produtos especiais
 - c) Sim, mas só para produtos perigosos
 - d) Não, acho que não é função de químicos
 - e) Não sei
- 4) Você teria curiosidade em saber mais sobre o trabalho de um químico?
 - a) Sim, tenho muita curiosidade
 - b) Sim, tenho um pouco de curiosidade
 - c) Não, porque acho isso muito complicado
 - d) Não porque acho isso desnecessário
 - e) Não sei
- 5) Você sabe o que é a ANVISA?
 - a) Sim, trata-se de um órgão governamental nacional
 - b) Sim, trata-se de uma empresa privada de prestações de serviços
 - c) Sim, trata-se de um órgão governamental internacional
 - d) Já ouvi falar, mas não sei do que se trata
 - e) Não sei
- 6) Como você analisaria uma mistura de água e óleo?
 - a) A água se mistura ao óleo, porque as densidades são parecidas
 - b) A água se mistura ao óleo porque o grau de solubilidade é alto
 - c) A água não se mistura ao óleo porque a água é polar e o óleo apolar
 - d) A água não se mistura ao óleo porque a água é apolar e o óleo é polar
 - e) A água não se mistura ao óleo devido a diferença de densidade
- 7) Das vidrarias abaixo, indique a mais precisa para transferência de volumes:
 - a) Proveta
 - b) Bureta
 - c) Béquer
 - d) Erlenmeyer
 - e) Não sei
- 8) No preparo de chá de "saquinho", qual o procedimento químico envolvido?
 - a) Filtração
 - b) Evaporação
 - c) Destilação
 - d) Extração
 - e) Flotação
- 9) Ao se adicionar em um recipiente água, álcool e gasolina, nesta ordem, quantas fases e quantos componentes haverá?
 - a) 3 fases e 3 componentes
 - b) 3 fases e 2 componentes
 - c) 2 fases e 3 componentes
 - d) 3 fases e 1 componente
 - e) 1 fase e 3 componentes
- 10) Qual a maneira mais adequada de se descartar reagentes sólidos que não serão mais utilizados em um experimento:
 - a) Jogar na pia
 - b) Jogar na terra
 - c) Armazenar em frasco apropriado ou no lixo, conforme as características do reagente
 - d) Devolver ao frasco de onde foi retirado o reagente
 - e) Não sei

Figura 5: Pré-questionário aplicado aos alunos que participaram da atividade de interação entre Universidade-Escola



A elaboração deste questionário foi feita levando em consideração as normas e sugestões encontradas na literatura especializada. Não tem objetivo de atribuir notas, apenas faz parte de uma pesquisa que está sendo desenvolvida no Instituto de Química. Agradecemos a colaboração de todos

GERX - Grupo de Espectroscopia de Raios X

- 1) Depois de ter “vivenciado um dia de químico”, você:
 - a) Passou a gostar mais de Química
 - b) Continuou gostando da mesma forma
 - c) Continuou indiferente à Química
 - d) Continuou não gostando de Química
 - e) Passou a não gostar de Química
- 2) Com relação a análise da qualidade de um determinado produto feita por um químico:
 - a) Deve ser feita de maneira rigorosa para todos os tipos de produtos
 - b) Deve ser feita de maneira rigorosa apenas para alguns produtos
 - c) Deve ser feita de maneira superficial para qualquer produto
 - d) Não precisa ser feita, pois nenhum produto necessita de análises químicas
 - e) Não sei
- 3) O trabalho de um químico é importante para a sociedade?
 - a) Sim, em muitos casos
 - b) Sim, em poucos casos
 - c) Não, porque a química é desnecessária
 - d) Não, porque a química é prejudicial
 - e) Não sei
- 4) Numa escala de 1 a 5, qual a nota que você daria para a atividade experimental com chocolates, realizada no laboratório de química da UNICAMP?
 - a) 5
 - b) 4
 - c) 3
 - d) 2
 - e) 1
- 5) No Brasil, a elaboração de rótulos de produtos alimentícios possui normas padronizadas?
 - a) Sim, a empresa que faz o produto é que elabora as normas
 - b) Sim, o Governo Estadual que elabora as normas.
 - c) Sim, a ANVISA que elabora as normas
 - d) Não possui normas padronizadas
 - e) Não sei
- 6) Com base no experimento realizado para quantificar a gordura no chocolate, é possível afirmar que:
 - a) A gordura é polar e se mistura ao metanol
 - b) A gordura é polar e se mistura ao clorofórmio
 - c) A gordura é apolar e se mistura ao metanol
 - d) A gordura é apolar e se mistura ao clorofórmio
 - e) A gordura não é polar e nem apolar, não se misturando nem ao clorofórmio e nem ao metanol
- 7) O funil de separação deve ser utilizado quando se quer separar uma mistura:
 - a) Homogênea líquido-líquido.
 - b) Homogênea sólido-líquido.
 - c) Homogênea sólido-sólido.
 - d) Heterogênea líquido-líquido.
 - e) Heterogênea sólido-líquido.
- 8) Qual foi a técnica utilizada para separar a gordura do chocolate?
 - a) Filtração.
 - b) Evaporação.
 - c) Destilação.
 - d) Extração.
 - e) Flotação.
- 9) Na realização do método Bligh-Dyer, a fase orgânica é composta de:
 - a) Água e metanol.
 - b) Água e clorofórmio.
 - c) Água e gordura.
 - d) Metanol e clorofórmio.
 - e) Gordura e clorofórmio.
- 10) Qual a maneira adequada de se descartar os reagentes líquidos do método Bligh-Dyer (com exceção da água) :
 - a) Jogar na pia.
 - b) Jogar na terra.
 - c) Armazenar todos os reagentes em um único recipiente.
 - d) Armazenar cada reagente em um frasco individual com rótulos de identificação.
 - e) Devolver ao frasco de onde foi retirado o reagente

Figura 6: Pós-questionário aplicado aos alunos que participaram da atividade de interação entre Universidade-Escola

Os dados obtidos da tabulação dos questionários podem ser úteis para reflexões sobre a real necessidade de aprimorar a divulgação científica da Química e assim, fortalecer a conscientização social. Paralelamente, reflexões sobre o aprimoramento do aprendizado de conceitos químicos a partir da interação entre a prática experimental e a teoria podem ser realizadas.

O questionário é uma técnica estruturada para coleta de dados por amostragem, que consiste de uma série de perguntas que um entrevistado deve responder (Trujillo, 1998).

Foi observado grande entusiasmo dos estudantes durante a atividade e o seu impacto também foi constatado pelas respostas ao questionário de pós-experimentação. Observou-se que os alunos puderam aplicar conhecimentos prévios sobre conceitos químicos e outros novos foram adquiridos no decorrer da atividade.

Ao todo, foram respondidos 120 questionários (80 dos estudantes que participaram das atividades do AIQM e 40 do III Química em Ação). Levando em consideração apenas as questões respondidas, diversas constatações puderam ser feitas como, por exemplo:

- 90% dos estudantes responderam ter aumentado seu interesse pela química;
- 98% afirmaram que a atividade favoreceu o aprendizado de conteúdos;
- 61% passaram a (re) conhecer aspectos do trabalho de um químico;
- 23% tiveram interesse em direcionar seus estudos para um curso superior de química;
- 85% entenderam alguns critérios com que são feitas as análises químicas para quaisquer tipos de substâncias;
- 25% assimilaram nomes e utilidades de vidraria no laboratório;
- 60% entenderam formas corretas de descartes de reagentes;
- 58% dos estudantes passaram a entender corretamente processos de extração, visto que 42% das respostas do pré-questionário direcionavam

para uma concepção equivocada no processo de preparo de chá de “saquinho”.

Através das respostas aos questionários, foi possível verificar a necessidade de se explorar mais os conceitos de densidade e de polaridade com os alunos. Estudo realizado por uma equipe de professores (Rossi *et al.*, 2008) também comprovaram que estes temas são complicados para os alunos assimilarem, em especial quando não estão associados ao cotidiano dos mesmos, atendo-se exclusivamente às fórmulas apresentadas.

No entanto, mesmo após o experimento, por constatação visual, verificou-se que as concepções equivocadas dos estudantes permaneceram, o que deve refletir a complexidade dos temas e a necessidade de maior enfoque a eles. Paralelamente, os estudantes também apresentaram dificuldades relacionadas à nomenclatura de vidraria e a aplicação destes instrumentos, o que deve ser reflexo do número extremamente insuficiente de aulas práticas nas escolas públicas, já que foram utilizados instrumentos comuns de laboratórios de ensino e de pesquisa. Em relação à expectativa dos alunos quanto aos valores calculados e comparados com o rótulo, houve sentimento de frustração para os grupos que obtiveram valores fora do permitido pela ANVISA, provavelmente pela ideia que se tem de que o rótulo traz as “informações verdadeiras”, permitindo abertura para uma discussão sobre o assunto.

O III Química em Ação aplicou um questionário próprio para averiguar a opinião dos estudantes com relação às atividades desenvolvidas. No ano de 2011, 78% dos estudantes consideraram a quantificação de gorduras totais em amostras de chocolate a atividade mais interessante e, por esta razão, a proposta foi inserida também no IV Química em ação, em 2012. Neste ano, 73% dos 78 questionários respondidos pelos participantes do programa afirmaram que a proposta foi a que mais gostaram entre todas oferecidas durante o evento.

IV.2 MÉTODO BLIGH-DYER

A maioria dos estudantes não apresentava conhecimentos prévios em práticas de laboratórios, necessitando maior intervenção dos monitores durante todas as etapas. Porém, apesar de diversas ações simultâneas que os estudantes precisavam executar, a prática ocorreu de maneira tranquila, sem qualquer registro de ocorrências.

As etapas foram realizadas seguindo exatamente a descrição do método oficial, apesar dos perigos associados a uma evaporação do solvente clorofórmio em estufa, devido ao seu alto grau de toxicidade. Todo cuidado foi tomado para que nenhum estudante permanecesse nesse período no laboratório, embora seja importante ressaltar que nas indústrias os técnicos químicos ou até mesmo outros funcionários estão sendo expostos a estes riscos de contaminação.

O tempo necessário para que os estudantes obtivessem seus resultados foi em torno de 7 horas, já que o processo é laborioso. Neste período em que os alunos estiveram na Universidade, em vários momentos alunos, monitores e professores se reuniram em rodas para discutir sobre as etapas já realizadas e as seguintes, verificando o acompanhamento dos estudantes, suas opiniões e expectativas. As rodas de conversa também contribuíram muito no processo ensino-aprendizado visto que os estudantes discutiam os aspectos positivos e negativos do método Bligh-Dyer relacionados ao tempo, gasto de reagentes e geração de resíduos, conceitos químicos, bem como a função da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) na fiscalização dos rótulos de embalagens quanto aos valores energéticos. Também durante o intervalo para o almoço, os estudantes puderam conversar com os monitores graduandos e pós-graduandos sobre os programas e cursos ministrados na Universidade, enquanto passeavam pelo campus conhecendo as faculdades e os institutos que o compõe. “A transformação da educação como objetivo de formação de um cidadão mais autônomo, livre para se expressar e mais responsável pela transformação da sociedade”, um sonho de grande expectativa declarado por Freinet (Freinet, 1996), foi concretizado em alguns momentos na realização deste trabalho,

quando, por exemplo, se discutiu a veracidade das informações de rótulo versus o valor experimental e a capacidade de cada um em atingir resultados plausíveis de questionamento da fiscalização da ANVISA quanto aos valores nutricionais nos rótulos de embalagens de chocolates e outros alimentos e bebidas. Impulsionado pelas propostas de Bakhtin (Bakhtin, 1975) de calar-se e escutar ou dialogar, professores, monitores e estudantes se igualavam em seus saberes e aprendizados durante as rodas de conversa, proporcionando momentos de compreensão comum e partilha. Os monitores graduandos e pós-graduandos de química que, em sua maioria, não haviam experimentado o prazer do envolvimento com ensino, também ganharam muito com a vivência além de contribuir para o desenvolvimento da atividade. Como professora da rede estadual de ensino, a autora deste trabalho confirma que suas aulas nunca mais foram iguais, pois seus olhos e ouvidos estavam travados diante de uma pedagogia mais tradicional. A escuta dos alunos mostrou o quanto é importante elaborar e discutir situações diversas para um aprendizado significativo principalmente diante de uma realidade cruel de apenas 2 aulas semanais (50 minutos cada) de química com um conteúdo extensivo a ser cumprido, desta forma, trabalhar uma nova proposta pedagógica com aulas experimentais e discussões de maneira que o indivíduo se sinta participante ativo da construção do seu conhecimento e, portanto, proporcionando momentos prazerosos, resgatando a autoestima e aumento o aprendizado. Como já dito anteriormente, o método Bligh-Dyer possui aspectos negativos, principalmente no que se refere ao consumo de reagentes e geração de resíduos, o que é contrário à chamada Química Verde (Terra, 2009).

Tabela 1: Número de replicatas aceitas pelo Teste Q com 95% de confiança e consideradas no cálculo do teor médio de gordura (replicatas) das amostras de chocolate. (*Replicatas eliminadas)

Pesquisadora		Estudantes do AIQ 14/05/2011		Estudantes do AIQ 21/05/2011		Estudantes do III Química em Ação	
Amostra	Replicatas	Amostra	Replicatas	Amostra	Replicatas	Amostra	Replicatas
78	3	2	3	10	6	5	6
79	3	4	2*	11	3	18	5
81	3	6	6	16	4	22	5
82	3	14	3	17	5	43	3*
83	3	34	3	21	4	45	5
84	3	36	3	31	3	46	6
85	3	37	3	32	6	47	6
86	3	38	5	33	3	57	5
87	3	40	3	41	2*	64	3
88	3	58	6	48	3	65	3
90	3	61	4	51	4	68	3
91	3	62	3	56	3	73	3
92	3			59	2*	75	6
93	3			63	2*	76	3
94	3					77	3
95	3						
96	3						
97	3						
98	3						
99	3						
100	3						
101	3						
102	3						
103	3						
104	3						
105	3						

Estima-se, por exemplo, que para a realização do método na quantificação de gordura das 65 amostras de chocolates e suas respectivas replicatas, foram consumidos aproximadamente 10 litros de metanol e 10 litros de clorofórmio.

O cálculo do teor de gordura do chocolate foi realizado conforme Equação 2 pelos próprios alunos, tendo estes sido auxiliados pelos monitores. Os valores obtidos foram comparados com os valores de rótulo. A partir dos valores obtidos das replicatas de cada amostra, foi calculado o valor médio do teor de gordura presente nas amostras, levando em consideração apenas as medidas que não diferiram significativamente segundo o teste Q com 95% de confiança (Baccan *et al.*, 2001).

Em virtude de perdas de amostras ao longo da realização do procedimento oficial, em especial na etapa de derretimento, ao todo foram consideradas a quantificação do teor de gordura em 65 amostras cujos valores médios, usados como referência para a construção dos modelos quimiométricos, correspondem aos VR apresentados nas Tabelas 2 e 3.

As médias obtidas foram comparadas com os valores apresentados nos rótulos das amostras. Esta comparação permitiu verificar que o teor de gordura de 7,7% das 65 amostras analisadas estavam fora da tolerância da ANVISA. Em 20% destas amostras, os valores de rótulo estavam menores do que os obtidos experimentalmente. Esta informação pode ocasionar em sérios problemas de saúde aos consumidores que precisam de um controle mais rigoroso de gorduras. Paralelamente, as demais amostras divulgavam possuir teores superiores de gordura aos que foram obtidos experimentalmente. Embora tal informação não proporcione danos aos consumidores, leva ao questionamento das outras informações da tabela nutricional presente no alimento. É interessante relatar que os alunos se sentiam frustrados quando ocorria um distanciamento dos valores, o que mostra a confiança do consumidor sobre informações de rótulo. Em função desta expectativa dos alunos, foi trabalhada a questão do que é realmente “correto” e confiável.

Os estudantes não participaram da etapa da construção da proposta analítica utilizando FRX e quimiometria, mas puderam entender o significado da importância de se desenvolver a Química Verde através de discussões sobre o assunto.

V. CONCLUSÃO – PARTE I

V.1 CONCLUSÃO

Com a integração de estudantes do ensino médio com a Universidade, foi possível promover um dos importantes papéis que cabe a esta instituição de ensino: a extensão.

Vendo-se capaz de realizar atividades dentro de um laboratório universitário, os estudantes da escola pública constataram sua capacidade, habilidade e competência. Além disso, estar na universidade superou a expectativa de muitos para os quais tal ambiente era considerado como algo impossível.

A aplicação do método Bligh-Dyer em um ambiente universitário despertou a curiosidade de alunos, aumentando o interesse pela química. O método permitiu abordar a forma adequada de se fazer a pesagem de uma amostra, a manipulação de vidraria, além da apresentação exata e precisa dos resultados obtidos. Processos de extração e filtração também foram abordados com o método.

As rodas de conversa e interações entre os estudantes e monitores proporcionaram momentos de grande aprendizado, trocas de experiências.

Os questionários confirmaram que os conceitos de densidade e polaridade são relativamente complexos para estudantes deste nível de ensino, necessitando de maior enfoque e contextualização.

Com relação aos teores de gordura obtidos para as amostras, apesar da ANVISA possuir diversas normas e procedimentos que devem ser seguidos pelos fabricantes de produtos alimentícios, verificou-se que ainda faltam controle e fiscalização efetivos quanto às informações fornecidas nos rótulos destes produtos. Possivelmente, a fiscalização seja feita em relação à apresentação do rótulo com todas as informações nutricionais, e não na fidedignidade dos valores, o que justificaria o índice de amostras encontrado de chocolates que não obedecem às normas de rotulagem.

VI. PERSPECTIVAS – PARTE I

VI.1 – PERSPECTIVAS

Com relação às questões didáticas, a proposta estimula que se façam novas interações entre a universidade e a escola pública, envolvendo a contextualização e a experimentação, especialmente a partir de adaptações de métodos oficiais e ou usuais na indústria, pesquisa ou ensino superior.

O tema “chocolate” também poderá ser abordado em aulas, proporcionando a interdisciplinaridade com fatores históricos da produção de chocolate, regiões geográficas de plantio de cacau envolvendo clima e solo favoráveis, o tipo de gordura no chocolate (trans, saturada, insaturada), o risco na saúde por excessos ou faltas de macro e micronutrientes, entre outros assuntos.

PARTE II: ASPECTOS ANALÍTICOS

VIII. OBJETIVOS ANALÍTICOS – PARTE II

VIII.1 OBJETIVOS ANALÍTICOS

Considerando os aspectos analíticos, o objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento, através da aliança da FRX e da quimiometria, de um novo procedimento para quantificar o teor de gorduras totais de amostras de chocolate, visando minimizar os aspectos negativos do método Bligh-Dyer. Também foi objetivo do trabalho obter resultados que se enquadrassem na legislação vigente no Brasil, isto é, com erro máximo de 20% (RDC 360, portaria 42, de 23 de dezembro de 2003 - ANVISA).

IX. EXPERIMENTAL – PARTE II

IX.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Para a construção do modelo proposto foram utilizadas 66 amostras comerciais de chocolates em barra obtidas em supermercados brasileiros e casas do ramo. As amostras variavam conforme o “nome fantasia”, características indicadas pelo fabricante (diet, light, amargo, meio amargo, ao leite, etc) e marca, sendo, em alguns casos, mais de uma amostra pertencente ao mesmo fabricante.

Os valores utilizados como de referência para o teor de gordura das amostras de chocolate foram aqueles determinados pelo método Bligh-Dyer, conforme descrito nos capítulos III e IV.

IX.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL – MÉTODO PROPOSTO

I) Equipamento

Para a obtenção dos espectros foi utilizado o espectrômetro de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) marca Shimadzu, modelo EDX-700, constituído por um tubo de Rh e um detector semi-condutor de Si(Li).

II) Medidas analíticas

Celas de FRX (Chemplex 1300) foram montadas, tendo seu fundo sustentado por um filme de Mylar[®] (Chemplex 100) de espessura de 2,5 μm .

Três celas, no mínimo, foram preenchidas totalmente com a amostra de chocolate derretido, garantindo completa absorção do feixe de raios X (modo de espessura infinita). Esta etapa foi feita no mesmo dia em que foi realizado o método Bligh-Dyer para a amostra.

Espectros sequenciais de 0 a 40 keV foram obtidos para as amostras, aplicando-se voltagem no tubo de raios X de 50 kV e tempo de irradiação de 300 s.

III) Tratamento de dados

Os espectros foram submetidos a tratamento quimiométrico (PCA e PLS), tendo sido utilizado o programa computacional Pirouette® 3.11 (Infometrix Co., 2003).

O pré-processamento aplicado foi a centragem na média ou *Mean Centering*.

Todos os espectros foram usados para verificar a presença de amostras anômalas (*outliers*), assim como a possibilidade de agrupamentos das amostras conforme suas características através da PCA.

Após a escolha do número de componentes principais, foram verificadas as amostras anômalas pelo gráfico que correlaciona *leverage* e resíduo de Student. Os modelos PLS foram construídos com todas as amostras não excluídas (“não *outliers*”).

X. RESULTADOS E DISCUSSÃO – PARTE II

X.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As regiões de espalhamento do feixe incidente conservam informações dos elementos leves das amostras, geralmente associadas à parte orgânica das mesmas. As quase imperceptíveis variações destas regiões de amostra para amostra requer o uso de ferramentas quimiométricas para identificar e aproveitar as informações a elas associadas (Bortoleto *et al.*, 2007; Pereira e Bueno, 2008).

Na Figura 7 estão expostos os espectros sobrepostos de algumas amostras de chocolate, selecionados aleatoriamente.

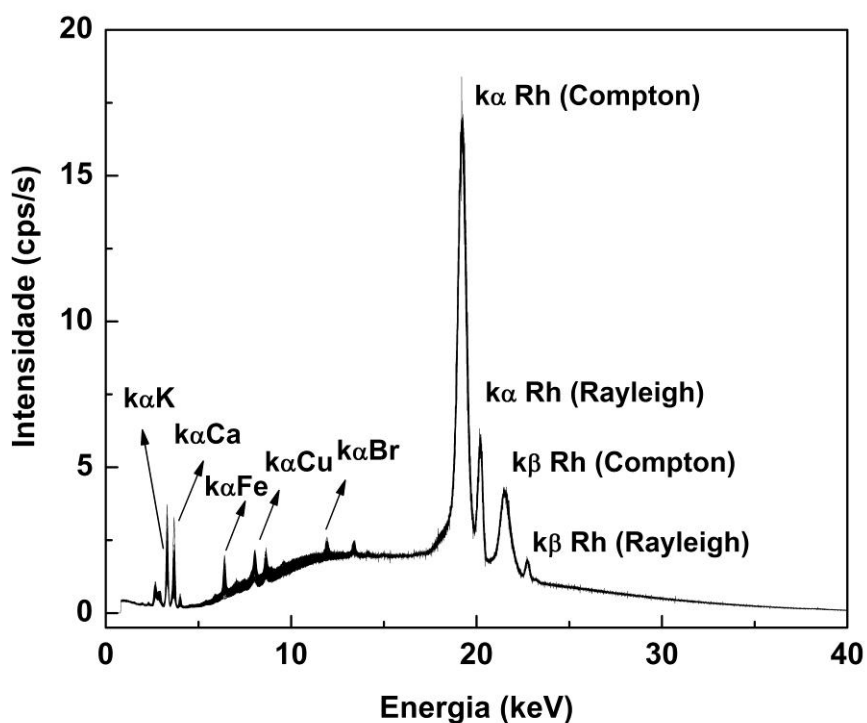


Figura 7: Espectros de FRX sobrepostos de amostras de chocolate

Observa-se nos espectros da Figura 7 que a região de espalhamento (faixa ao redor de 19,2 keV) apresenta alta intensidade relativa. Os efeitos de espalhamento dos raios X são observados, especialmente quando a matriz é

composta por elementos de baixo número atômico. O chocolate é o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau sendo, portanto, composto principalmente de matéria orgânica (Richter e Lannes, 2007).

O cálcio é destacado nos espectros de FRX ($K\alpha_{Ca}$ 3,7 keV), o que deve refletir a contribuição de leite presente em todas as amostras estudadas. O leite em pó usado nos chocolates aumenta o valor nutritivo do alimento e influencia na viscosidade e textura, contribuindo, também, para diminuição da umidade e aumento da vida de prateleira (Richter e Lannes, 2007).

O pico correspondente do Fe ($K\alpha_{Fe}$ 6,4 keV) é justificado pelo alto teor deste elemento no cacau. O ferro tem extensa utilização em funções biológicas, sendo capaz de existir em diferentes estados de oxidação, formar muitos complexos, além de agir como centro catalítico para diversas funções metabólicas (Carpenter e Mahoney, 1992).

É possível visualizar picos de bromo em algumas amostras, o que causa certa preocupação devido à sua toxicidade. Uma possível explicação é a contaminação do cacau por deltametrina ($C_{22}H_{19}Br_2NO_3$), o princípio ativo de defensivos agrícolas frequentemente aplicados em lavouras de cacau (Braibante e Zappe, 2012).

O gráfico da análise de componentes principais envolvendo a PC1 e PC2 (Figura 8) não permitiu verificar separação ou agrupamento das amostras com base nas informações disponíveis sobre elas. Já o gráfico de *scores* (Figura 9) entre PC2 e PC3 permitiu verificar uma tendência das amostras em se agruparem em dois grandes grupos; o que foi confirmado na Figura 10 envolvendo a PC1 e PC3, que explicaram juntas 95.01% da variância.

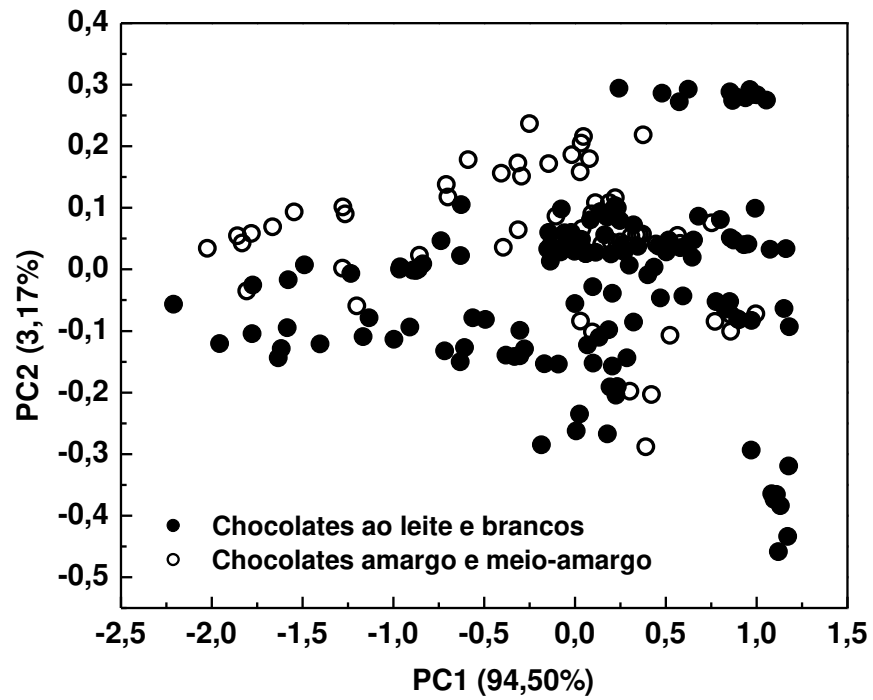


Figura 8: Gráfico de *scores* para PC1 x PC2

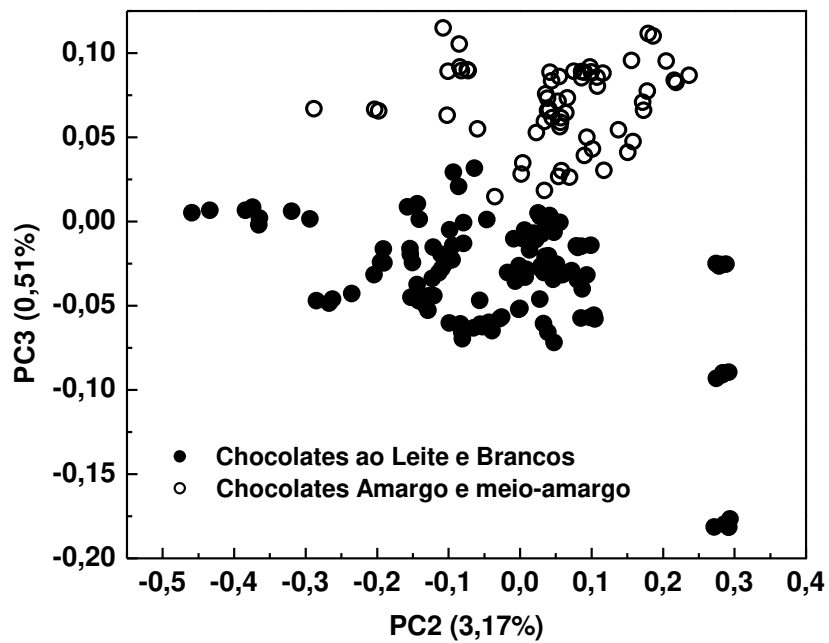


Figura 9: Gráfico de *scores* para PC2 x PC3

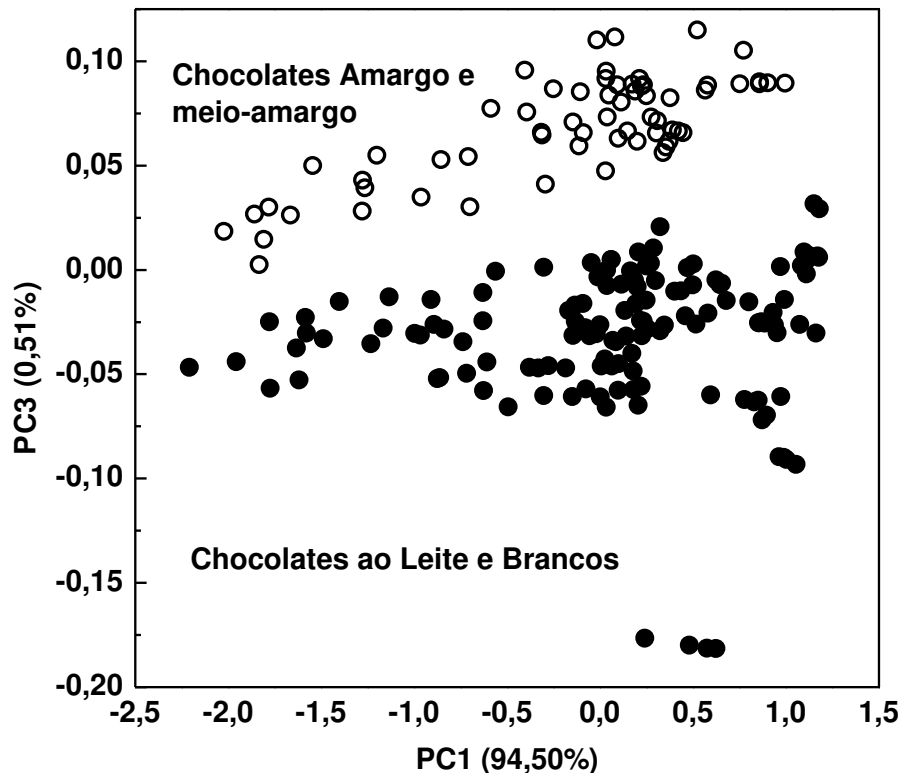


Figura 10: Gráfico de *scores* para PC1 x PC3

Os dois grandes grupos que se formaram estão associados ao teor de cacau presente nas amostras: teor de cacau > 35% e teor de cacau < 35%.

Os gráficos de *loadings* para PC1, PC2 e PC3 estão apresentados nas Figuras 11, 12 e 13 respectivamente.

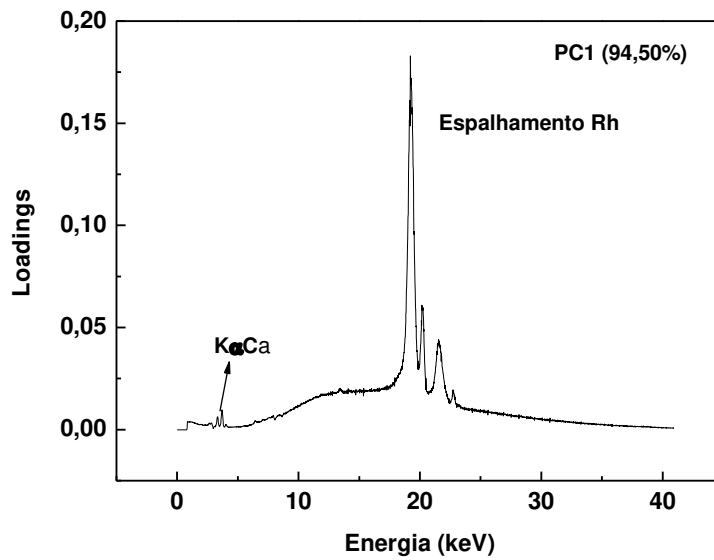


Figura 11: Gráfico de *loadings* para PC1

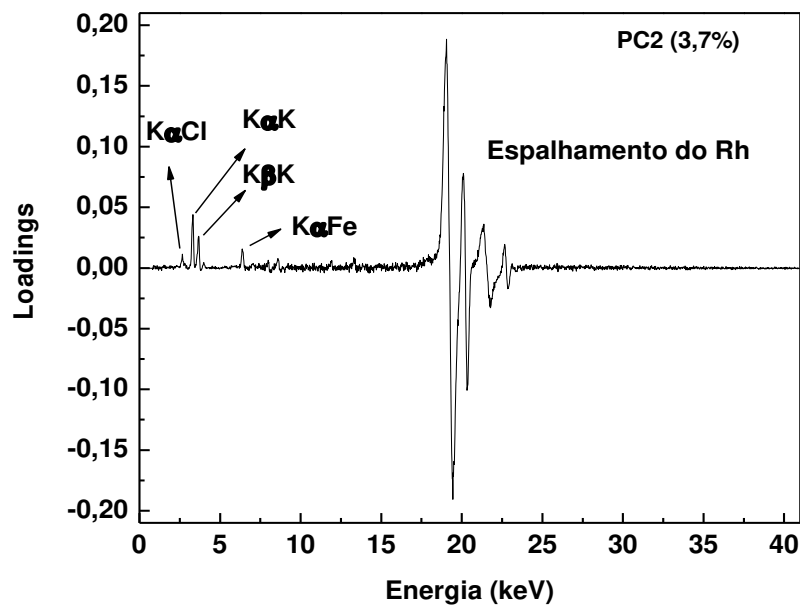


Figura 12: Gráfico de *loadings* para PC2

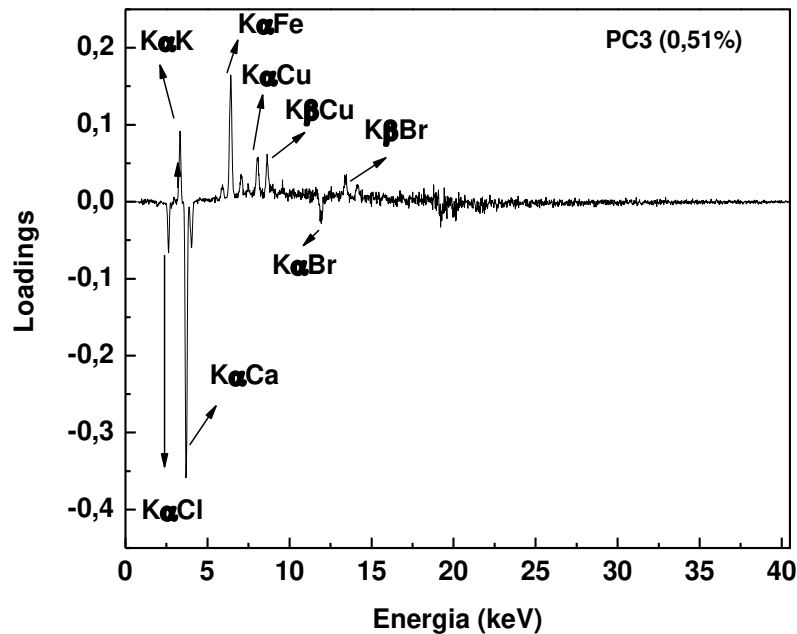


Figura 13: Gráfico de *loadings* para PC3

Esses gráficos permitiram identificar que as principais faixas de energia que contribuíram para esta separação foram as associadas às regiões do $K\alpha$ do cálcio (3,7 keV), $K\alpha$ do ferro (6,4 keV) e dos espalhamentos de raios X da fonte de ródio (ao redor de 19,2 keV).

A composição precisa do chocolate varia em todo o mundo, devido à diferença de gostos e legislação, que se preocupa com as porcentagens de cacau e sólidos do leite adicionais, quantidade e tipos de gorduras vegetais permitidas. As gorduras encontradas no chocolate incluem a manteiga de cacau, a gordura do leite e gordura vegetal (Martin, 1994). O componente do cacau é rico em inúmeros minerais essenciais, como magnésio, cobre, potássio e manganês. No Brasil, não há determinação específica para classificar o chocolate pelo teor de cacau, os quais são geralmente denominados pelos fabricantes de branco, ao leite, meio amargo e amargo. Na União Europeia, o chocolate amargo deve ter pelo menos 35% de sólidos de cacau (Hammerstone *et al.*, 1999).

As amostras com teor de cacau superior a 35% apresentaram mais ferro, enquanto as de menor teor de cacau apresentavam mais cálcio (Figura 13). Tal relação é bastante coerente, visto que o aumento de cálcio estaria associado ao aumento do leite, enquanto o teor de ferro à quantidade de cacau. Isto justifica também as colorações mais escuras encontradas em produtos com alto teor de cacau (Rusconi e Conti, 2010).

Na aplicação do PLS, os valores utilizados como esperados (variáveis independentes ou preditoras) foram àqueles obtidos através do método convencional (Bligh-Dyer) e não os fornecidos pelos rótulos. Isso porque os fabricantes não especificam no rótulo qual o procedimento utilizado para a determinação das informações fornecidas. Além disso, foi verificado que 7,7% das amostras estudadas apresentavam valores fora ($> |20\%|$) do considerado aceitável pela ANVISA (Forchetti *et al.*, 2012).

Antes de iniciar a construção do modelo PLS, foram determinadas as amostras anômalas (*outliers*), através das grandezas complementares *leverage* e resíduo de Student. As amostras consideradas *outlier* foram excluídas do conjunto amostral.

Na sequência, foram construídos os modelos de calibração e validação, obtendo os valores de previsão para as amostras externas previa e aleatoriamente selecionadas, que correspondiam a 25% do total de amostras.

Em um procedimento quimiométrico, os pré-tratamentos possíveis têm como objetivo eliminar ou remover variações sistemáticas, corrigir a linha de base, minimizar o ruído, melhorar a definição dos picos que se encontram sobrepostos na mesma região, evidenciar os parâmetros de interesse e, conseqüentemente, aumentar a seletividade, remover informação irrelevante e diminuir os efeitos causados por diferenças nos tamanhos de partícula. Apesar destas correções, a escolha do pré-tratamento tem que garantir que não serão eliminadas informações químicas e físicas importantes para o sistema em estudo. Este tratamento permite que o desenvolvimento do método de calibração não seja afetado por informações irrelevantes, permitindo uma maior linearidade (Kramer, 1998).

No modelo construído, o único pré-processamento utilizado foi centrar os dados na média, que consiste em subtrair o elemento de cada coluna pelo valor médio dos elementos dessa coluna, obtendo-se como resultado uma matriz onde todas as colunas têm médias iguais à zero. Do ponto de vista estatístico, ao se realizar a centragem na média, busca-se evitar que pontos mais distantes do centro dos dados tenham maior influência que os mais próximos, dando importância não à intensidade verificada, mas à sua distância do valor médio. Esta operação geralmente diminui o número de fatores do modelo (Thomas, 1994).

A escolha do número de variáveis latentes foi baseada nos valores de Press (do inglês, *Predicted Residual Error Sum of Squares*) que corresponde à soma dos quadrados dos erros de previsão. O valor de Press para a oitava variável não apresentou diferença significativa de valores, quando comparado com mais variáveis latentes. Portanto, foram consideradas oito variáveis latentes para a construção do modelo PLS, explicando 98,63% da variância acumulada, conforme a Figura 14.

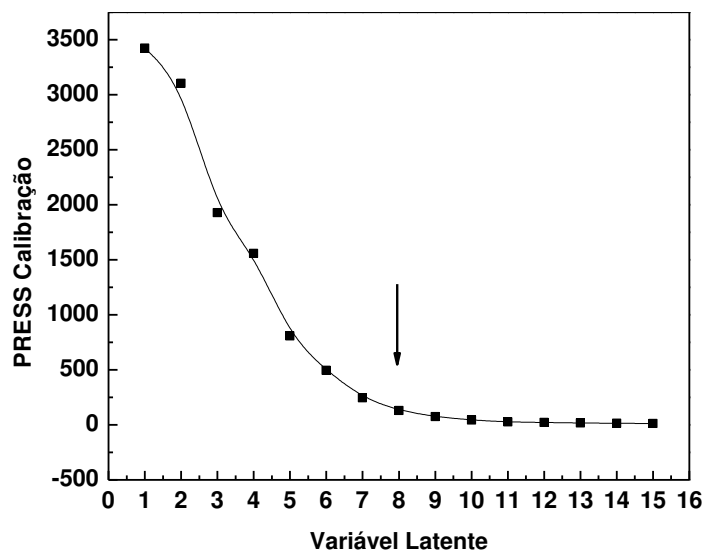


Figura 14: Gráfico de Press de calibração

O uso de um número maior de variáveis latentes levaria a inclusão de ruídos presentes nos espectros, o quê, certamente, acarretaria um superajuste no modelo. Por outro lado, o uso de um número menor de variáveis latentes poderia omitir informações necessárias para se obter um modelo com baixos erros de previsão.

Para a construção do modelo de calibração via PLS foi utilizado o espectro inteiro. Os valores significativos do vetor de regressão para a maior parte das variáveis (Figura 15) permitiu inferir que todo o espectro traria informações relevantes ao modelo. Além disso, a seleção e a eliminação de variáveis seria uma etapa a mais a ser realizada e que, como comprovado posteriormente, não necessária.

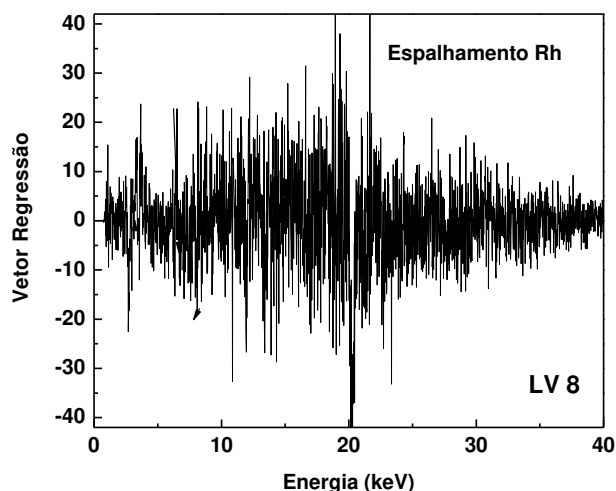


Figura 15: Gráfico do coeficiente de regressão para o modelo PLS

A contribuição de cada variável para a construção do modelo é expressa pelos pesos (*loadings*): quanto maior a influência da variável, maior é o valor em módulo do peso. Os gráficos dos *loadings* das 8 variáveis latentes usadas na construção do modelo estão apresentados na Figura 16.

É possível verificar na Figura 16 a contribuição significativa da parte orgânica das amostras em todas as variáveis latentes, constatada pela região ao

redor de 19.2 keV. Outros elementos fundamentais para o modelo foram: K, Ca, Cl, Fe, Br, Fe e Cu.

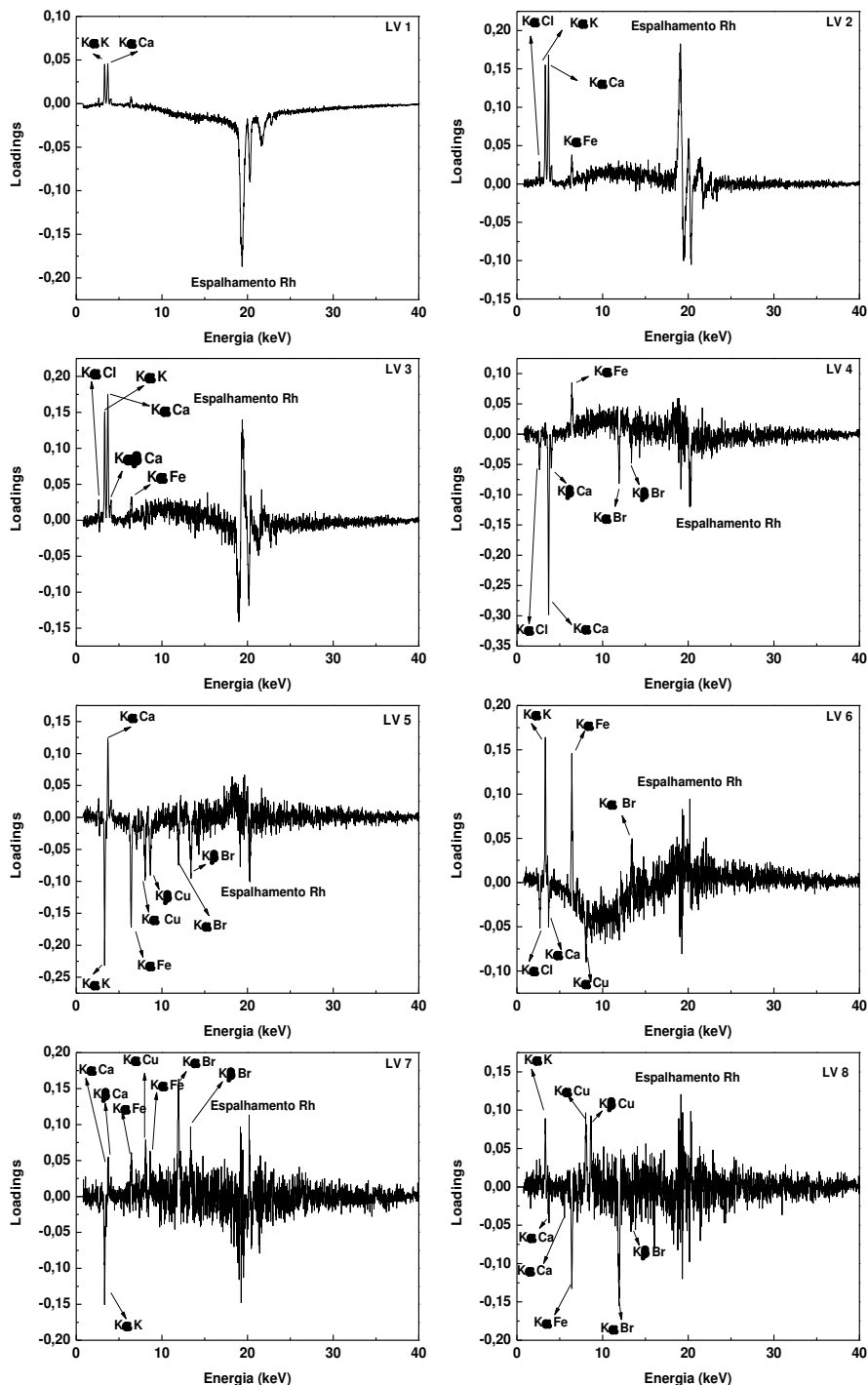


Figura 16: Gráficos de *loadings* separadamente para oito variáveis latentes usadas na construção do modelo PLS

As relações entre os valores previstos e os valores de referência (obtidos pelo método Bligh-Dyer) estão apresentadas na Figura 17, tanto para o modelo de calibração quanto para o de validação cruzada (ou interna). Também são apresentados os valores dos coeficientes de correlação da calibração (*r_{cal}*) e da validação (*r_{val}*).

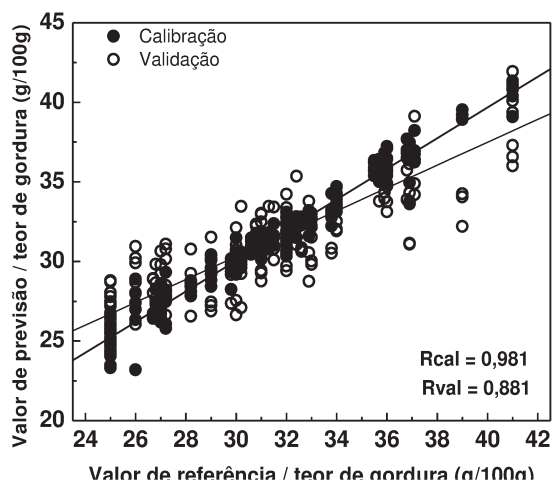


Figura 17: Relação entre os valores de referência e os valores previstos dos teores de gorduras para calibração e validação interna via PLS

A equação matemática (Equação 10) que expressa o modelo (calibração interna) permite afirmar que o erro geral embutido nos resultados obtidos é de no máximo de 5%. Isso porque o coeficiente linear do modelo é 1,2; o que significa que, se o valor de referência for zero, o modelo preverá que o teor de gordura seja 1,2 g/100 g. Como o menor valor de referência do teor de gordura é igual a 25 g/100 g (amostras 10, 16, 45, 56, 94, 95), este coeficiente corresponderia aos 5%, já que o coeficiente angular é muito próximo a 1 (0,96).

$$VP = 1,2 + 0,96 VR \quad (\text{Equação 10})$$

Nas Tabelas 2 e 3, são apresentadas as médias dos valores da previsão, os valores de referência e os erros relativos entre estes valores, determinados

para as amostras do modelo de calibração e para as amostras externas, respectivamente.

Tabela 2: Valores de referência (VR) e média dos valores obtidos para o teor de gordura (VP), ambos em g/100g, e erros relativos (Erro %) entre VR e VP para as amostras usadas no modelo de calibração via PLS.

AMOSTRAS	VR	VP	Erro %	AMOSTRAS	VR	VP	Erro %
4	35,9	36,0	-0,3	75	31	31	0
5	33	32	3	76	32,4	32,3	0,3
10	25	24	4	77	27	30	-11
16	25	25	0	79	32,6	32,3	0,9
17	28,2	28,8	-2,1	81	32	32	0
21	30,2	30,0	0,7	82	27	27	0
22	29	29	0	83	29,8	29,2	-2,1
31	41	41	0	84	31,5	31,6	-0,3
32	26	30	-15	85	31,3	31,3	0
33	41	40	2	86	36	36	0
34	32	32	0	87	26,7	26,7	0,0
36	30	31	-3	88	26,8	27,5	-2,6
40	39	39	0	91	32,3	32,5	-0,6
41	36,8	36,9	-0,3	92	27,2	27,9	-2,6
43	30,8	32,2	-4,5	93	32	31	3
45	25	27	-8	94	25	27	-8
48	27,2	28,1	-3,3	95	25	26	-4
56	25	25	0	96	30,6	30,9	-1,0
58	30	30	0	97	26	28	-8
59	36	36	0	98	34	35	-3
62	34	34	0	100	31	32	-3
63	35,5	35,8	-0,8	102	31	31	0
65	33,8	32,8	3,0	103	31	31	0
68	36,9	34,3	7,0	105	32,9	32,4	1,5
73	37,1	36,7	1,1				

Tabela 3: Valores de referência (VR) e média dos valores obtidos para o teor de gordura (VP), ambos em g/100g, e erros relativos (Erro %) entre VR e VP para as amostras externas obtidas aleatoriamente.

AMOSTRAS	VR	VP	Erro %	AMOSTRAS	VR	VP	Erro %
2	29,5	31,5	-6,3	51	33	31	6
6	26	30	-13	57	35	37	-5
11	31	33	-6	61	36	31	14
14	25,9	29,9	-1,3	64	32,1	32,7	-1,8
18	26	28	-7	90	32	30	6
38	37	32	13	99	33	33	0
46	30	29	3	101	28,6	31,0	-7,7
47	34	35	-3	104	32	33	-3

Observa-se que o maior erro obtido, em módulo, para o modelo de calibração foi igual a 15% (amostra 32), enquanto para a validação externa foi de 14% (amostras 61), inferiores ao estabelecido pela ANVISA (|20%|).

Algumas figuras de mérito, apresentadas na Tabela 4, foram determinadas para averiguar o desempenho do método.

Tabela 4: Figuras de Mérito do modelo multivariado para o teor de gordura em amostras de chocolate

Figuras de Mérito	$\hat{S}\hat{E}N$	γ	γ^{-1}	RMSEC	RMSEP	LOD	LOQ	T_{Bias}
	0,0029 ^a	1,73 ^a	0,58 ^b	0,814 ^b	4,09 ^b	1,91 ^b	5,78 ^b	0,398

^a(100g/g)

^b(g/100g)

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) obtidos para o modelo foram inferiores aos valores determinados pelo método convencional

(valores de referência), o que permite afirmar que o modelo é adequado para a proposta, já que nenhuma amostra estudada apresenta valores de teor de gordura tão baixos.

O t_{Bias} foi menor que o t_{Tabelado} (2,31) e, portanto, erros sistemáticos podem ser desconsiderados apesar do coeficiente linear ser 1,2.

O valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de calibração (RMSEC) apresenta faixa de erro de 2-3%. O valor da raiz quadrada do erro médio quadrático de previsão (RMSEP) permite inferir que a capacidade de previsão também está adequada, apresentando faixa de erro entre 10-16%, mesmo com todas as limitações dos estudantes participantes da obtenção dos dados de referência. Possivelmente, por tanto, o modelo desenvolvido teria precisão e exatidão ainda melhores se a etapa envolvendo o método Bligh Dyer fosse realizada por pessoas especializadas.

XI. CONCLUSÃO – PARTE II

XI.1 CONCLUSÃO

Os resultados permitiram verificar a potencialidade da aplicação da técnica de fluorescência de raios X aliada à quimiometria para se determinar o teor de gordura em amostras de chocolate. A intensidade de radiação é baixa e, portanto não traz danos maiores do que a exposição do analista aos reagentes utilizados no método oficial.

O tempo reduzido de análise e a não necessidade de uso de solventes tornam o método proposto uma alternativa a ser considerada em substituição ao método convencional empregado atualmente (Bligh-Dyer), principalmente em laboratórios industriais e de rotina. Além disso, os erros de previsão externa foram inferiores ao exigido atualmente (20%) pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, o que reforça a aplicação da proposta.

XII. PERSPECTIVAS – PARTE II

XII.1 PERSPECTIVAS

Encontrar traços de bromo em amostras de chocolate foi algo surpreendente, podendo ser averiguado de forma mais detalhada em trabalhos futuros.

Os resultados obtidos permitem propor a investigação do cumprimento da legislação nas embalagens de chocolates para os demais componentes nutricionais.

XIII. TRATAMIENTO DE RESÍDUOS

XIII.1 TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Os resíduos gerados no decorrer dos experimentos foram devidamente separados e tratados de acordo com as normas da Comissão de Segurança do IQ-UNICAMP (LQA, 2013).

- Metanol e Clorofórmio: foram separados, armazenados em frasco adequado e submetido à comissão de Segurança para enviá-los à empresa *Essencis Soluções Ambientais*, responsável pela incineração. Cabe ressaltar que o clorofórmio foi filtrado com sulfato de sódio anidro para retirada de traços de água, conforme recomendação da literatura (Jardim, 1998).
- Sulfato de sódio: solução descartada na pia e sólido no lixo comum.
- Os restos de chocolate foram jogados em lixo comum.

XIV. ANEXOS

ANEXO I: DECLARAÇÃO DE PARCERIA COM IQ

11/07/2011

Folha de Rosto



MINISTÉRIO DA SAÚDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS				FR - 445236
Projeto de Pesquisa Proposta de um método rápido, simples e verde para determinar gorduras em amostras de chocolate com integração entre escola e a Universidade				
Área de Conhecimento 1.00 - Ciências Exatas e da Terra - 1.06 - Química			Grupo Grupo III	Nível
Área(s) Temática(s) Especial(s)				Fase Não se Aplica
Unitermos chocolate, ensino, Bligt-Dyer				
Sujeitos na Pesquisa				
Nº de Sujeitos no Centro 150	Total Brasil 150	Nº de Sujeitos Total 150	Grupos Especiais Criança e ou menores de 18 anos, Pessoas numa relação de dependência como presidiários, militares, alunos, funcionários, etc	
Placebo NAO	Medicamentos HIV / AIDS NÃO	Wash-out NÃO	Sem Tratamento Específico NÃO	Banco de Materiais Biológicos NÃO
Pesquisador Responsável				
Pesquisador Responsável Débora de Andrade Penteadó Forchetti		CPF 269.435.598-69	Identidade 27353274-1	
Área de Especialização QUÍMICA ANALÍTICA		Maior Titulação MESTRANDA	Nacionalidade BRASILEIRA	
Endereço ALAMEDA DOM JOÃO VI, 180		Bairro PARQUE IMPERIAL	Cidade MONTE MOR - SP	
Código Postal 13190-000	Telefone (019)35213424 / (019) 38791051	Fax	Email deboraf.orchetti@yahoo.com.br	
Termo de Compromisso				
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares. Comprometo-me a utilizar os materiais e dados coletados exclusivamente para os fins previstos no protocolo e publicar os resultados sejam eles favoráveis ou não.				
Aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima.				
Data: 12 / 07 / 11			Assinatura	
Instituição Proponente				
Nome UNICAMP/Faculdade de Ciências Médicas - SP		CNPJ 04.606.842/0001-33	Nacional/Internacional Nacional	
Unidade/Órgão Instituto de Química UNICAMP		Participação Estrangeira NÃO	Projeto Multicêntrico NÃO	
Endereço Rua Tessália Vieira de Camargo 126		Bairro Barão Geraldo	Cidade Campinas - SP	
Código Postal 13084970	Telefone 19 35218936	Fax 19 35218936	Email cep@fcm.unicamp.br	
Termo de Compromisso				
Declaro que conheço e cumprirei os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução.				
Nome: _____		Assinatura		
Data: 12 / 07 / 2011		Prof. Dr. Antonio Claudio Herrera Braga Diretor Associado Instituto de Química UNICAMP Matr. 03655-2		

O Projeto deverá ser entregue no CEP em até 30 dias a partir de 07/07/2011. Não ocorrendo a entrega nesse prazo esta Folha de Rosto será INVALIDADA.

Voltar

IMPRIMIR

ANEXO II: DECLARAÇÃO DE PARCERIA COM A ESCOLA

Declaração de Parceria da Escola Técnica de Monte Mor

A Escola Técnica (ETEC) de Monte Mor declara estar ciente e apoiar a realização do projeto “DETERMINAÇÃO DE GORDURAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE CHOCOLATES COM INTEGRAÇÃO ENTRE A ESCOLA PÚBLICA E A UNIVERSIDADE”, permitindo que seus alunos de ensino médio vivenciem esta integração nas dependências do Instituto de Química da UNICAMP sob a orientação da professora Débora de Andrade Penteadó Forchetti.

A ETEC se prontifica em fornecer o transporte para o traslado dos alunos (ETEC-UNICAMP-ETEC).



Nome: *Renata Dias Meirelles*

Cargo: *Diretora de Serviços Acadêmicos*

Renata Dias Meirelles
Diretora de Serviços Acadêmicos
RG nº 36.394.685-8

ANEXO III: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (maior de Idade)

“DETERMINAÇÃO DE GORDURAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE CHOCOLATES COM INTEGRAÇÃO ENTRE A ESCOLA PÚBLICA E A UNIVERSIDADE”

A proposta conta com a parceria entre a UNICAMP e a Escola ; visando a melhoria na qualidade da educação básica e fornecendo momentos de integração entre os estudantes do Ensino médio e a Universidade, despertando possivelmente um maior interesse pela Química. Neste contexto, o estudante do ensino médio vivenciará durante 10 (dez) horas atividades didático pedagógicas que deverão favorecer a sua formação acadêmica, bem como desenvolver a auto-estima, senso crítico e iniciativa própria.

Ao participante não caberá nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras: será fornecido, gratuitamente, almoço e traslado da Escola até a UNICAMP.

Será solicitado ao participante o preenchimento de questionários de forma anônima e espontânea, objetivando verificar a sua opinião sobre as atividades desenvolvidas e, desta forma, poder avaliar a qualidade da proposta. O estudante pode se recusar a responder tais questionários, o quê não ocasionará em qualquer punição.

A participação do voluntário não trará, a priori, qualquer benefício direto a ele. Neste contexto, não há desconfortos ou riscos previsíveis aos voluntários, uma vez que tratam-se de respostas a questionários objetivos, para os quais os voluntários não se identificarão. Desta forma também, será garantida a proteção à confidencialidade dos voluntários, já que dados pessoais não serão requeridos de maneira a identificá-los nas respectivas respostas fornecidas.

Ao longo da atividade, serão registradas fotos coletivas para registro e divulgação da mesma, sendo os únicos propósitos para os quais serão utilizadas estas imagens:

Eu _____, RG n° _____, CPF n° _____ declaro responder de forma espontânea e voluntária aos questionários solicitados no projeto “DETERMINAÇÃO DE GORDURAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE CHOCOLATES COM INTEGRAÇÃO ENTRE A ESCOLA PÚBLICA E A UNIVERSIDADE”; estando ciente que a minha recusa poderá ocorrer a qualquer momento sem causar-me nenhum ônus.

Com relação às imagens

Autorizo a obtenção de minhas imagens, tendo ciência que a sua divulgação será exclusivamente para divulgar e registrar o evento.

Não autorizo a obtenção de minhas imagens, mesmo tendo ciência que a sua divulgação será exclusivamente para divulgar e registrar o evento.

Campinas, _____ de _____ de 2011.

Participante

Maria Izabel Maretti S. Bueno

(Coordenadora Geral do Projeto)

Para mais informações ou esclarecimentos sobre o projeto contatar Juliana Terra pelo telefone (19) 3521-3424. Reclamações sobre o descumprimento das informações apresentadas neste termo, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa/FCM/UNICAMP, através do telefone 3521-8936 ou do endereço eletrônico: cep@fcm.unicamp.br.

ANEXO IV: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (menor de Idade)

“DETERMINAÇÃO DE GORDURAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE CHOCOLATES COM INTEGRAÇÃO ENTRE A ESCOLA PÚBLICA E A UNIVERSIDADE”

A proposta conta com a parceria entre a UNICAMP e a Escola; visando a melhoria na qualidade da educação básica e fornecendo momentos de integração entre os estudantes do Ensino médio e a Universidade, despertando possivelmente um maior interesse pela Química. Neste contexto, o estudante do ensino médio vivenciará durante 10 (dez) horas atividades didático pedagógicas que deverão favorecer a sua formação acadêmica, bem como desenvolver a auto-estima, senso crítico e iniciativa própria.

Ao participante não caberá nenhum custo ou quaisquer compensações financeiras: será fornecido, gratuitamente, almoço e traslado da Escola até a UNICAMP

Será solicitado ao participante o preenchimento de questionários de forma anônima e espontânea, objetivando verificar a sua opinião sobre as atividades desenvolvidas e, desta forma, poder avaliar a qualidade da proposta. O estudante pode se recusar a responder tais questionários, o quê não ocasionará em qualquer punição.

A participação do voluntário não trará, a priori, qualquer benefício direto a ele. Neste contexto, não há desconfortos ou riscos previsíveis aos voluntários, uma vez que tratam-se de respostas a questionários objetivos, para os quais os voluntários não se identificarão. Desta forma também, será garantida a proteção à confidencialidade dos voluntários, já que dados pessoais não serão requeridos de maneira a identificá-los nas respectivas respostas fornecidas.

Ao longo da atividade, serão registradas fotos coletivas para registro e divulgação da mesma, sendo os únicos propósitos para os quais serão utilizadas estas imagens.

Eu _____, RG n° _____,
_____, CPF n° _____ responsável legal
por _____, RG n° _____,
_____, autorizo a participação deste no projeto

“DETERMINAÇÃO DE GORDURAS TOTAIS EM AMOSTRAS DE CHOCOLATES COM INTEGRAÇÃO ENTRE A ESCOLA PÚBLICA E A UNIVERSIDADE”.

Com relação aos questionários:

Autorizo seu posicionamento nos questionários de opinião solicitados tendo ciência que a sua recusa não lhe causará nenhum ônus.

Não autorizo seu posicionamento nos questionários de opinião solicitados mesmo tendo ciência que a sua recusa não lhe causará nenhum ônus.

Com relação às imagens e filmografia

Autorizo a obtenção de suas imagens, tendo ciência que a sua divulgação será exclusivamente para divulgar e registrar o evento.

Não autorizo a obtenção de suas imagens, mesmo tendo ciência que a sua divulgação será exclusivamente para divulgar e registrar o evento.

Campinas, _____ de _____ de 2011.

Responsável Legal

Maria Izabel Maretti S. Bueno

(Coordenador Geral do Projeto)

Para mais informações ou esclarecimentos sobre o projeto contatar Juliana Terra pelo telefone (19) 3521-3424. Reclamações sobre o descumprimento das informações apresentadas neste termo, entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa/FCM/UNICAMP, através do telefone 3521-8936 ou do endereço eletrônico: cep@fcm.unicamp.br

ANEXO V: PARECER DO CEP



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/fcm/pesquisa

V - PARECER DO CEP.

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.

VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES.

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e).

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO.

Homologado na VII Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 26 de julho de 2011.


Profa. Dra. Fátima Aparecida Böttcher Luiz
COORDENADORA do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Comitê de Ética em Pesquisa - UNICAMP
Rua: Tessália Vieira de Camargo, 126
Caixa Postal 6111
13083-887 Campinas – SP

FONE (019) 3521-8936
FAX (019) 3521-7187
cep@fcm.unicamp.br

XV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

XV.1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afoakwa, E. O.; Paterson, A.; Folwer, M.; “Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review”, *Trends Food Sci. Technol.*; 18(6), 290-298, **2007**.

Agarwal, S.; Hordvik, S.; Morar, S.; “Nutritional claims for functional foods and supplements”, *Toxicology*; 221, 44–49, **2006**.

AIQM - Ano Internacional da Química. Disponível em: <http://www.aiqm.com.br/br/> (acesso em 06/jan/2013).

Baccan, N.; Andrade, J. C.; Godinho, O. E. S.; Barone, J. S.; “Química Analítica Quantitativa Elementar”, 3ª ed., Edgard Blücher: São Paulo, **2001**.

Beebe, K. R.; Pell, R. J.; Seasholtz, M. B.; “Chemometrics: A Practical Guide”, John Wiley & Sons: New York, **1998**.

Belitz, H. D.; Grosch, W.; “Food chemistry”, Springer Verlag: New York, **1987**.

Best, J. W.; Kahn, J. V.; “Research in Education”, 8ª ed., Ed. Allyn & Bacon: Boston, **1998**.

Bligh, E. C.; Dyer, W. J.; “A rapid method of total lipid extraction and purification”, *Can J. Biochem. Physiol.*; 37, 911-917, **1959**.

Bortoleto, G. G.; Borges, S. S. O.; Bueno, M. I. M. S.; “X-ray scattering and multivariate analysis for classification of organic samples: a comparative study using Rh tube and synchrotron radiation”, *Anal. Chem. Acta*; 595, 38-42, **2007**.

Braibante, M. E. F.; Zappe, J. A.; “A Química dos Agrotóxicos”, *QNEsc*; 34(1),10-15, **2012**.

Brasil, Parâmetros Curriculares Nacionais – Ensino Médio, Secretaria da Educação e Tecnologia, Ministério da Educação, Brasília, DF, **1999**.

Brasil, Resolução da diretoria colegiada 360 de 23 de dezembro de **2003**; “Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados”, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 26/12/2003.

Brasil, Resolução da diretoria colegiada 264 de 22 de setembro de **2005**; “Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Chocolate e Chocolate Branco”, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 23/09/2005.

Brasil, Resolução da diretoria colegiada 24 de 15 de junho de **2010**; “Regulamento Técnico para Critérios para divulgação de produtos alimentícios”, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 15/06/2010.

Bubnova, T.; Baronas, R. L.; Tonelli, F.;. “Voz, sentido e diálogo em Bakhtin”. *Bakhtin, Rev. Estud. Discurso*. São Paulo, 6(1), 268-280, **2011**.

Carpenter, C. E.; Mahoney, A.; "Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition", *Crit. Rev. Food Sc. Nutr.*; 31, 333-336, **1992**.

Celeste, R. K.; "Análise comparativa da legislação sobre rótulo alimentício do Brasil, Mercosul, Reino Unido e União Européia", *Rev. Saúde Públ.*; 35, 217-223, **2001**.

Currie, L. A.; "Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC recommendations 1995)", *Anal. Chim. Acta*; 391(2), 105-126, **1999**.

Custo, G.; Boeykens, S.; Cicerone, D.; Vázquez, C.; "Combining XRF Analysis and Chemometric Tools for a Preliminary Classification of Argentine Soils", *X-Ray Spectrom.*; 31(2), 132-135, **2002**.

De Castro, M. D. L.; Garcia-Ayuso, L. E.; "Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future", *Anal. Chim. Acta*; 369(1), 1-10, **1998**.

De Oliveira, L.; Antunes, A. M.; Bueno, M. I. M. S.; "Direct chromium speciation using X-ray spectrometry and chemometrics", *X-Ray Spectrom.*; 39(4), 279-284, **2010**.

Ferreira, M. M. C.; Antunes, A. M.; Melgo, M. S.; Volpe, P. L. O.; "Quimiometria I: Calibração Multivariada, um tutorial", *Quim. Nova*; 22, 724-731, **1999**.

Feuge, R. O.; W. Landmann, W.; Mitcham, D.; Lovegren N. V. "Tempering triglycerides by mechanical working", *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 39, 310-313, **1962**.

Forchetti, D. A. P.; Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; "Interação Universidade-escola uma abordagem em Química Analítica", 16^º ENQA, Campos do Jordão-SP, Brasil, EQ003, **2011**.

Forchetti, D. A. P.; Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; "Investigação dos teores de gordura apresentados em rótulos de chocolates", 35^a RASBQ, Águas de Lindóia - SP, Brasil, BEA029, **2012**.

Freinet, C.; "Pedagogia do bom senso", Martins Fontes: São Paulo, **1996**.

Gagliardi, A. C. M.; Mancini Filho, J.; Santos, R. D., "Perfil nutricional de alimentos com alegação de zero gorduras trans", *Rev. Assoc. Med. Bras.*; 55 (1), 50-53, **2009**.

Glushenkova, A. I.; Markman, A. L., " Isomerization during hydrogenation", *Chem. Nat. Compoud.*; 4 (6), 318-319, **1968**.

Hair, J. F.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L.; Black, W. C.; "Multivariate data Analysis", 5TH ed., Prentice Hall: New Jersey, **1998**.

Harris, D.C.; "Exploring Chemical Analysis", 2nd ed., Freeman, W.H.: New York,

2001.

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

Hurst, W. J.; Tarka, S. M.; Powis, T. G.; Valdez, F.; Hestr, T. R.; "Cacao usage by the earliest Maya civilization", *Nature*, 418, 289-290, **2002**.

ICS – International Chemometrics Society (acesso em 14/maio/2013):

<http://www.namics.nysaes.cornell.edu/index.html>.

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry, disponível em: <http://old.iupac.org/publications/compendium/X.html> (acesso em **15/maio/2013**).

Jardim, W. F.; "Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa", *Quim. Nova*; 21, 671-673, **1998**.

Jenkins, R.; De Vries, J. L.; "Practical X-Ray Spectrometry", 2nd ed., Springer: New York, **1970**.

Kays, S. E.; Windham, W. R.; Barton II, F. E.; "Prediction of total dietary fiber in cereal products using near-infrared reflectance spectroscopy", *J. Agric. Food Chem.*; 44, 2266-2271, **1996**.

Kates, M.; "Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids", Elsevier Applied Science: London, **1972**.

Kramer, R. "Chemometric techniques for quantitative analysis", Marcel Dekker: New York, **1998**.

Lannes, S. C. S.; Gioielli, L. A.; "Composição lipídica e propriedades químicas da manteiga de cacau e sucedâneos comerciais", *Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Aliment.*; 30(2), 112-117, **1996**.

Lannes, S. C. S.; "Estudo comparativo entre manteiga de cacau e seus sucedâneos comerciais", Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, **1993**.

Lehninger, A. L., "Princípios da bioquímica", Sarvier: São Paulo, **1990**.

LQA – Laboratório de Química Ambiental, disponível em: <http://lqa.iqm.unicamp.br> (acesso em **15/maio/2013**).

Malhotra, N. K.; "Pesquisa de Marketing: uma orientação aplicada"; 3^aed.; Bookman: Porto Alegre, **2001**.

Malinowski, E. R.; "Factor Analysis in Chemistry"; John Wiley & Sons, New York, **1991**.

Martens, H.; Naes, T.; "Multivariate Calibration", Wiley: New York, **1996**.

Martin, A. V.; "Chocolate confectionery". In: Man, C. M. D.; Jones, A. A., (Eds.). "Shelf life evaluation of foods. London", Blackie Academic: New York, **1994**.

Martin, C. A.; Matshushita, M.; Souza, N. E.; "Ácidos graxos trans: implicações nutricionais e fontes na dieta", *Rev. Nutrição*; 17 (3), 361-368, **2004**.

McFadden, C.; France, C. "Chocolate bible: from genesis to nemesis". Lorenz Books: London, **2003**.

Miller, J. N., Miller, J. C.; "Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry", Pearson Education: Harlow, **2000**.

Minifie, B. W.; "Chocolate, Cocoa and Confectionery: science and technology", 3rd ed., Van Nostrand Reinhold: New York, **1989**.

Minin, V. P. R.; Cecchi, H. M.; "Avaliação da composição em ácidos graxos de barra de chocolate ao leite", *Ciênc. Tecnol. Aliment.*; 18(1), 111-113, **1998**.

Minin, V. P. R.; Cecchi, H. M.; Minin, L. A. "Determinação de substitutos da manteiga de cacau em coberturas de chocolate através da análise de triacilgliceróis", *Ciênc. Tecnol. Aliment.*; 19(2), 217-223, **1999**.

Moita Neto, J. M.; Moita, G. C.; "Uma introdução à análise exploratória dos dados multivariados", *Quím. Nova*; 21, 467-469, **1998**.

Mozaffarian, D.; Katan, M. B.; Ascherio, A.; Stampfer, M. J.; Willett, W. C. "Trans fatty acids and cardiovascular disease", *The N. Engl. J. Med.*; 35(15), 1601-1613, **2006**.

Pereira, F. M. V.; Bueno, M. I. M. S.; "Calibration of paint and varnish properties: Potentialities using X-ray Spectroscopy and Partial Least Squares", *Chem. Intell. Lab. Syst.*; 92, 131-137, **2008**.

Pereira, C., B.; "Contextualização do ensino de Química através de aulas práticas", Trabalho de conclusão de curso, Licenciatura em Química, Universidade Estadual do Ceará, **2009**.

Raju, D. S.; Subbaram, M. R.; Achaya, K. T.; "Isomerization during hydrogenation of soap. I. potassium oleate", *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 45(3), 50-53, **2009**.

Regitano-d'Arce, M. A. B.; Lima, U. A.; "Emprego do álcool etílico na extração do óleo de sementes de girassol", *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 7(1), 1-14, **1987**.

Ribeiro, A. P. B.; Moura, J. M. L. N.; Grimaldi, R.; Gonçalves, L. A. G., "Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero trans", *Quím. Nova*, 30(5), 1295-1300, **2007**.

Richter, M.; Lannes, S. C. S. "Bombom para dietas especiais: avaliação química e sensorial", *Ciênc. Tecnol. Alim.*; 27, 193-200, **2007**.

Rossi, A. V.; Massarotto, A. M.; Garcia, F. B. T.; Anselmo, G. R. T.; De Marco, I. L. G.; Currulero, I. C. B.; Terra, J.; Zanini, S. M. C.; “Reflexões sobre o que se Ensina e o que se Aprende sobre Densidade a partir da Escolarização”, *QNEsc*; 30, 55-60, **2008**.

Rusconi, M.; Conti, A.; “*Theobroma cacao* L. - the Food of the Gods: a scientific approach beyond myths and claims”, *Pharmacol. Res.*; 61(1), 5-13, **2010**.

Shukla, V. K. S.; “Cocoa butter properties and quality”, *Lipid Technol.*; 7(3), 54-57, **1995**.

Silva, A. M.; Bandeira, J. A.; “A Importância em relacionar a parte teórica das aulas de química com as atividades práticas que ocorrem no cotidiano”, IV SIMPEQUI, Campinas: São Paulo, Brasil, **2006**.

Silva, A. M., Uchôa; K. N.; “A contribuição do lúdico na aprendizagem de Química no ensino médio”, XLIX CBQ, Porto Alegre - RS, Brasil, 1,134, **2009**.

Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nilman, T. A.; “Princípios da Análise Instrumental”, 5ª ed., Bookman: Porto Alegre, **2002**.

Terra, J.; Bueno, M. I. M. S.; “Jogo Desvendando a Química: uma ferramenta didática para todos os níveis de ensino e aplicação em química analítica”, 16º ENQA, Campos do Jordão-SP, Brasil, EQ014, **2011**.

Terra, J.; “Potencialidade da aliança da espectroscopia de raios X e quimiometria na determinação de valor energético e teores de alguns macronutrientes em amostras de farinhas para consumo humano”, Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, **2009**.

Terra, J.; Antunes, A. M.; Prado, M. A.; Bueno, M. I. M. S.; “Energy value determinations of industrialized foods: the potential of using X-ray spectroscopy and partial least squares”, *X-Ray Spectrom.*; 39, 167-175, **2010a**.

Terra, J.; Antunes, A. M.; Prado, M. A.; Bueno, M. I. M. S.; “Um método verde, rápido e simples para determinar o valor energético de farinhas e cereais matinais”, *Quim. Nova.*; 33(5), 1098-1103, **2010b**.

Thomas, E. V.; “A primer on multivariate calibration”, *Anal. Chem.*; 33(5), 1098-1103, **1994**.

Trujillo, V.; “Pesquisa de Mercado: Qualitativa x Quantitativa”, Ed. Scortecci: São Paulo, **1998**.

Valderrama, P. Braga, J. W. B.; Poppi, R. J.; “Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada”, *Quim. Nova*; 32(5), 1278-128, **2009**.

Willet, W. C.; Ascherio, A.; “Health effects of trans fatty acids”. *Am. J. Clinic. Nutri.*; 66(4), 1006s-1010s, **1995**.

Wold, S.; Esbensen, K.; Geladi, P.; “Principal component analysis”, *Chemom.*

Intellig. Lab. Syst., 2, 37-52, **1987**.