

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL

SABRINA SARKIS DE ANDRADE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA CBI DE ALTOS TEORES DE StOSt / StStO/ OSSt
PRODUZIDA POR INTERESTERIFICAÇÃO QUÍMICA SEGUIDA DE
FRACIONAMENTOS COM SOLVENTE**

Poços de Caldas / MG

2017

SABRINA SARKIS DE ANDRADE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA CBI DE ALTOS TEORES DE StOSt / StStO/ OSSt
PRODUZIDA POR INTERESTERIFICAÇÃO QUÍMICA SEGUIDA DE
FRACIONAMENTOS COM SOLVENTE**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Alfenas – *campus* Poços de Caldas. Área de concentração: Engenharia Química.
Orientador: Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch.
Co-orientadora: Prof^ª. Dra. Glazieli Marangoni de Oliveira.

Poços de Caldas/ MG

2017

A553d Andrade, Sabrina Sarkis de.

Desenvolvimento de uma CBI de altos teores de StOst / StStO/
OStSt produzida por interesterificação química seguida de
fracionamentos com solvente / Sabrina Sarkis de Andrade. – Poços
de Caldas, 2017.

68 f. –

Orientador: Theo Guenter Kieckbusch.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade
Federal de Alfenas, Poços de Caldas, MG, 2017.

Bibliografia.

1. Engenharia Química. 2. Óleo de girassol. 3. Canola. 4. Ácidos
graxos. 5. Acetona. 6. Manteiga de cacau. I. Kieckbusch, Theo
Guenter. II. Título.

CDD: 660

SABRINA SARKIS DE ANDRADE

**DESENVOLVIMENTO DE UMA CBI DE ALTOS TEORES DE StOSt / StStO/ OSSt
PRODUZIDA POR INTERESTERIFICAÇÃO QUÍMICA SEGUIDA DE
FRACIONAMENTOS COM SOLVENTE**

A banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Engenharia Química, pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Alfenas.

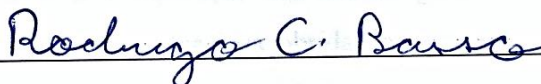
Área de Concentração: Engenharia Química.

Aprovada em: 15 de maio de 2017.



Prof(a.) Dr(a).Theo Guenter Kieckbusch

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - Unicamp



Prof(a.) Dr(a).Rodrigo Corrêa Basso

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Prof(a.) Dr(a).Chiu Chih Ming

Instituição: Universidade Estadual de Campinas - Unicamp

RESUMO

Ingredientes como óleos e gorduras vegetais são constituintes de diversos tipos de alimentos, fornecendo propriedades estruturais, sensoriais e nutritivas aos mesmos. O chocolate é um exemplo de alimento no qual a característica da gordura presente em sua formulação impacta diretamente sobre a qualidade do produto final. Os efeitos de oscilações sazonais da qualidade da manteiga de cacau representam um problema na sua produção. A adição de gorduras alternativas, produzidas por processos industriais que alteram as propriedades químicas e físicas de sistemas lipídicos naturais, auxilia na padronização e comercialização dos produtos. A interesterificação química de gorduras ricas em ácido esteárico gera bases lipídicas com elevado ponto de fusão e por isso são uma alternativa às gorduras parcialmente hidrogenadas na formulação de produtos “zero trans”. O presente trabalho teve como objetivo otimizar a obtenção de uma base lipídica rica em triacilgliceróis (TAGs) compostos por ácidos graxos esteárico/oleico/esteárico (StOSt/StStO/OStSt) capazes de atuar como uma CBI em chocolates. Essa base foi produzida por interesterificação química de uma mistura de CATH (óleo de canola totalmente hidrogenado) e HOSO (óleo de girassol alto oleico) na proporção 55:45, seguida do fracionamento em duplo estágio com acetona. O primeiro estágio do fracionamento foi conduzido nas temperaturas de cristalização, T_c , 12, 14, 16, 18, 20, 22, 25, 28 e 36°C e as frações oleína /estearina foram quantificadas quanto à composição em triacilgliceróis (cromatografia gasosa), perfil de sólidos (RMN) e comportamento térmico de cristalização (DSC). A partir dos resultados destas análises a fração oleína obtida na T_c 25°C foi selecionada para a realização do segundo estágio do fracionamento por apresentar maior concentração em TAGs dissaturados (aproximadamente 48%) e menor em trissaturados (menos de 2%). No segundo estágio do fracionamento as T_c foram 8, 10 e 12 °C e as frações correspondentes foram submetidas às mesmas análises do primeiro, com a adição do termograma de fusão (DSC), composição em ácidos graxos (CG), índice de iodo e de saponificação calculados. As três estearinas obtidas no segundo fracionamento apresentam aplicabilidade como equivalentes de manteiga de cacau, mas a fração obtida a 12°C foi a que obteve os resultados mais promissores para atuar como CBI, contendo aproximadamente 74% de dissaturados.

Palavras-chave: HOSO. CATH. Interesterificação. Acetona. Fracionamento. CBI.

ABSTRACT

Ingredients like vegetable oils and fats are constituents of several foodstuffs and add structural, sensorial and nutritional values to them. Chocolate is the classic example of food in which the characteristics of the fat used in its formulation impact directly on the quality of the final product. The effects of seasonal disturbances in the quality of cocoa butter compromise the production of chocolates. The addition of alternative fats, obtained by industrial processes able to modify, normalize or customize the chemical and physical properties of natural lipid systems enhances the standardization and commercialization of products. The chemical interesterification of fats rich in stearic acid generates high melting point lipid bases, an alternative to partial hydrogenated fats to be used in formulation of "zero-trans" products. This research considered the development of health-friendly lipid bases rich on triacylglycerols (TAGs) formed by stearic/oleic/stearic acids (StOSt/StStO/OStSt) and able to act as CBI in chocolates. These bases were obtained by chemical interesterification of a mixture of FHCO (fully hydrogenated canola oil) and HOSO (high oleic sunflower oil) at a 55:45 mass proportion, followed by a two-stages fractionation with acetone. The first fractionation stage was conducted at crystallization temperatures, T_c , of 12, 14, 26, 18, 20, 22, 25, 28 and 36°C and the olein/stearin fractions were quantified in terms of TAG's composition (gas chromatography), solid fat profile (NMR), thermal behavior (DSC) and consistency (penetrometer). The olein fraction obtained at 25°C showed the highest concentration in disaturated TAGs (approximately 48%) and lesser in trisaturated (less than 2%) and was selected for the second fractionation. The temperatures T_c of the second fractionation were 8, 10 and 12°C and the olein/stearin fraction were submitted to the same types of analyses as in the first fractionation, as well as the determination of the melting profile (via DSC), the composition in fatty acids and calculations of the Iodine and the Saponification Indexes. All three stearin fractions obtained by the second fractionation were suitable to function as CBE (cocoa butter equivalent) and the stearin formed at T_c of 12°C showed characteristics of a CBI (cocoa butter equivalent), containing approximately 74% of disaturated.

Key-words: HOSO. FHCO. Interesterification. Fractionation. Acetone. CBI.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
2.1	LIPÍDIOS - ÓLEOS E GORDURAS	9
2.2	CRISTALIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS	13
2.3	POLIMORFISMO	14
2.4	MICROESTRUTURA	18
2.5	CONSISTÊNCIA	19
2.6	CHOCOLATES	20
2.7	MANTEIGA DE CACAU E SUAS LIMITAÇÕES	22
2.8	OUTRAS GORDURAS UTILIZADAS EM CHOCOLATES	23
2.8.1	Melhoradores da manteiga de cacau (CBIs)	25
2.8.2	Processo para obtenção de CBIs	25
3	PROGRAMAÇÃO DOS ENSAIOS	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1	MATERIAIS	29
4.2	INSTRUMENTAÇÃO PARA A INTERESTERIFICAÇÃO E FRACIONAMENTO	29
4.3	MÉTODOS	31
4.3.1	Método para as reações de interesterificação química	31
4.3.2	Método para o fracionamento térmico por solvente	31
4.3.3	Método de filtração	31
4.4	TÉCNICAS ANALÍTICAS	32
4.4.1	Composição em ácidos graxos	32
4.4.2	Índice de iodo, I.I.	32
4.4.3	Índice de saponificação, I.S.	33
4.4.4	Composição em TAGs	33
4.4.5	Conteúdo de gordura sólida (CGS)	33
4.4.6	Conteúdo de gordura sólida para gorduras especiais (CGS)	34
4.4.7	Ponto de fusão	34
4.4.8	Consistência	34
4.4.9	Comportamento térmico de cristalização e fusão (DSC)	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
5.1	INTERESTERIFICAÇÃO QUÍMICA	36
5.1.1	Composição em ácidos graxos	36
5.1.2	Composição em triacilgliceróis	38

5.1.3	Consistência	40
5.1.4	Comportamento térmico de fusão e de cristalização via DSC.....	41
5.1.5	Conteúdo de gordura sólida	43
5.1.6	Ponto de fusão.....	44
5.2	PRIMEIRO FRACIONAMENTO POR SOLVENTE.....	44
5.2.1	Composição em TAGs: 1° fracionamento	45
5.2.2	Comportamento térmico de cristalização via DSC: 1° fracionamento.....	47
5.2.3	Conteúdo de gordura sólida (CGS): 1° fracionamento.....	49
5.2.4	Ponto de fusão: 1° fracionamento	51
5.2.5	Composição em ácidos graxos das frações obtidas a 25°C	51
5.3	SEGUNDO FRACIONAMENTO POR SOLVENTE.....	53
5.3.1	Composição em ácidos graxos	53
5.3.2	Composição em TAGs: 2° fracionamento	54
5.3.3	Comportamento térmico de cristalização e fusão via DSC: 2° fracionamento	56
5.3.4	Conteúdo de gordura sólida: 2° fracionamento.....	58
5.3.5	Ponto de fusão.....	60
6	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

A adição de óleos e gorduras na formulação de alguns alimentos é fundamental para ressaltar as características estruturais, sensoriais e nutritivas de produtos processados, como *shortenings*, recheios de biscoito, maionese, massas, chocolates, sorvetes, margarinas e *spreads*. As aplicações de óleos e gordura em alimentos, porém, estão condicionadas às oscilações de safra e às condições da economia da região de cultivo. Associado a essa limitação, também há um apelo crescente por parte dos consumidores pelo desenvolvimento de produtos que ofereçam aspectos nutricionais mais saudáveis e adequados à saúde humana (OLIVEIRA, 2016).

Em 2003 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou as Resoluções 359 e 360 estipulando que as indústrias de alimentos deveriam declarar nos rótulos dos produtos o teor de gordura insaturada do tipo *trans*. Pesquisas mostram que o risco de desenvolvimento de doenças cardíacas está associado, dentre outras causas, ao elevado consumo de gordura *trans* e de ácidos graxos saturados. Estes ingredientes, porém, conferem a funcionalidade de gorduras, intervindo positivamente no aspecto e na consistência dos alimentos. Uma substituição direta das gorduras saturadas e/ou *trans* por óleos/gorduras vegetais *in natura*, que não estejam associados aos problemas cardíacos, é inviável ou limitada por não possuir características padronizadas para viabilizar a aplicação em alimentos sólidos (HUNTER, 2006).

Atributos como *snap*, brilho, derretimento, durabilidade e estabilidade térmica durante o armazenamento são as principais características que determinam a qualidade de chocolates. Estas propriedades são altamente dependentes da composição química, devido às propriedades físicas dos componentes lipídicos, incluindo comportamentos de cristalização e fusão, polimorfismo, grau de compatibilidade entre os triacilgliceróis (TAGs) da gordura e da estrutura final da rede cristalina de gordura (AWAD; MARANGONI, 2006).

Neste contexto, a aplicação de gorduras alternativas em alimentos, sobretudo em chocolates, com o objetivo de adequar a formulação às legislações pertinentes e manter as propriedades físico-químicas e sensoriais dos produtos, apresenta grande potencial tecnológico. Sabe-se que dentre os componentes da manteiga de cacau o triacilglicerol StOSt, formado por dois ácidos esteáricos e um oleico, nas posições *sn-1*, *sn-3* e *sn-2*, respectivamente, confere maior resistência ao *fat bloom* do que os TAGs POP e POSt que também são encontrados nela (NORBERG, 2006; SATO, 2001).

Devido a essas propriedades um sistema concentrado em StOSt pode ser classificado como um melhorador da manteiga de cacau, conhecido pela sigla CBI (*Cocoa Butter Improver*). A literatura necessita de estudos de aplicações de CBIs em chocolates, mas recentemente Oliveira (2016) obteve bons resultados na adição destes sistemas lipídicos em manteiga de cacau.

O processo de obtenção da CBI estudado por Oliveira (2016), demanda elevado tempo de fracionamento a seco e é conduzido à alta temperatura, o que industrialmente implica em maior gasto energético e uma lentidão de processos. Portanto, o estudo de obtenção da CBI com solvente pode ser economicamente mais viável, além de mais efetivo na separação dos componentes lipídicos.

O presente trabalho visa otimizar a obtenção de CBIs ricas em StOSt por meio do fracionamento em duplo estágio com acetona e avaliar a funcionalidade destas bases como CBIs em chocolates comerciais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LIPÍDIOS - ÓLEOS E GORDURAS

Os lipídios são compostos solúveis em solventes orgânicos e pouco solúveis em água. Esta classe de compostos inclui os óleos e gorduras que são amplamente utilizados como matéria-prima de alimentos processados (BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009). A distinção entre "óleos" e "gorduras" está associada ao seu estado físico em temperatura ambiente, chamando de óleos os líquidos e gorduras os semissólidos (MARANGONI; WESDORP, 2013). Os triacilgliceróis (TAGs) constituem a maior parcela da composição de compostos lipídicos de origens animal ou vegetal (cerca de 96 a 98%), além dos chamados componentes minoritários, que incluem fosfolipídios, glicolipídios, ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis, entre outros (GUPTA, 2008).

Os TAGs são formados pela molécula de glicerol associadas a três ácidos graxos esterificados aos três grupos alcoólicos em posições conhecidas como *sn-1*, *sn-2* ou *sn-3*, conforme a Figura 2.1, sendo que cada ácido graxo pode estar em diferentes posições na molécula. Os ácidos graxos que constituem o TAG podem ser iguais ou diferentes, de cadeia curta (2-4 carbonos), média (6-10 carbonos) ou longa (maior que 12 carbonos), conter insaturações e ligações *cis* ou *trans*. A grande diversidade de combinações possíveis está diretamente relacionada às variações nas propriedades físicas de produtos de base lipídica, incluindo termograma de fusão e cristalização, consistência, polimorfismo, microestrutura e empacotamento cristalino (CURI et al., 2002).

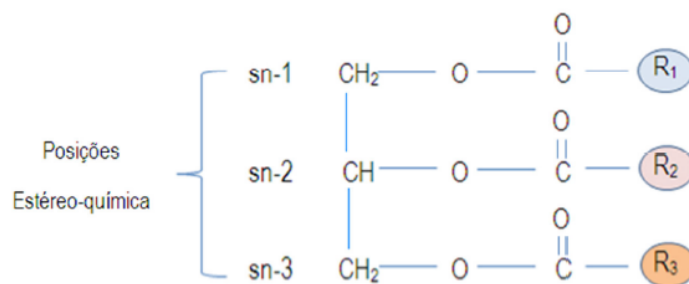


Figura 2.1 - Molécula de triacilglicerol, onde R_1 , R_2 e R_3 representam a cadeia alquílica.
Fonte: Adaptado de CURI et al. (2002).

De acordo com a natureza dos ácidos graxos presentes na molécula, os TAGs são classificados como: monoácidos (todos os três ácidos graxos ligados à molécula de glicerol são iguais), em diácidos e triácidos (dois e três tipos de ácidos graxos diferentes,

respectivamente), trissaturados (S_3) (contém somente ácidos graxos saturados), dissaturados (SSU ou SUS), monossaturados (SUU) e triinsaturados (UUU) (contém somente ácidos graxos insaturados) (CURI et al., 2002).

As Tabelas 2.1 e 2.2 apresentam os principais ácidos graxos e TAGs encontrados em lipídios, com seus respectivos pontos de fusão e suas notações taquigráficas. A classificação dos triacilgliceróis em regiões de liquidez é um indicativo da consistência destes em determinadas faixas de temperatura. Os TAGs podem ser separados em quatro zonas de liquidez que estão relacionadas aos seus estados físicos em temperaturas frias, ambiente, corporal e mais elevadas (Tabela 2.2). Os triacilgliceróis enquadrados na zona de temperatura refrigerada apresentam baixo ponto de fusão, permanecendo líquidos em ambientes frios. Os TAGs classificados na região de liquidez 2 apenas são líquidos em temperatura ambiente ou superior, enquanto que os monoinsaturados da região 3 derretem em temperatura próxima a corporal, conferindo um efeito refrescante durante a degustação. Os triacilgliceróis de elevados pontos de fusão mantêm a plasticidade até atingir temperaturas de fusão (O'BRIEN, 2004).

As gorduras e óleos são compostos por múltiplos triacilgliceróis, que podem estar em diferentes zonas de liquidez, e a proporção de cada componente determinará o comportamento de fusão da mistura. Portanto, a predominância de triacilgliceróis de uma das zonas determina as características de liquidez do produto (O'BRIEN, 2004).

Tabela 2.1- Ponto de fusão e notações taquigráficas dos principais ácidos graxos.

Ácido Graxo	Representação	Notação	Ligação Dupla	T _{fusão} (°C)
Butírico	B	C4:0	0	-8,0
Capróico	Co	C6:0	0	-3,4
Caprílico	Ci	C8:0	0	16,7
Cáprico	C	C10:0	0	31,6
Láurico	La	C12:0	0	44,2
Mirístico	M	C14:0	0	54,4
Palmítico	P	C16:0	0	62,9
Palmitoléico	Po	C16:1	1 <i>cis</i>	45,0
Esteárico	St	C18:0	0	69,6
Oléico	O	C18:1	1 <i>cis</i>	16,0
Elaídico	El	C18:1	1 <i>trans</i>	43,7
Linoléico	L	C18:2	2 <i>cis, cis</i>	-7,0
Linolênico	Ln	C18:3	3 <i>cis, cis, cis</i>	-13,0
Araquídico	Ar	C20:0	0	75,3
Behênico	Be	C22:0	0	79,9
Erúico	Er	C22:1	1 <i>cis</i>	33,5
Lignocérico	Lg	C24:0	0	84,2

Fonte: O'BRIEN, 2004.

Tabela 2.2 - Classificação dos triacilgliceróis de acordo com a consistência. NC representa o número de carbonos.

NC	Triacilgliceróis	Ponto de fusão (°C)
Região de liquidez 1: Temperatura fria		
54	LLL	-13,3
54	OLL	-6,7
52	PLL	-5,6
52	PLO	-2,8
54	OOL	-1,1
54	StLL	1,1
Região de liquidez 2: Temperatura ambiente		
54	OOO	5,6
54	StLO	6,1
52	POO	15,6
54	StOO	22,8
50	PLP	27,2
Região de liquidez 3: Temperatura corporal (Monoinsaturados)		
52	StLP	30,0
54	StLSt	32,8
50	POP	35,0
52	POSt	37,8
54	StOSt	41,7
Região de liquidez 4: Alta temperatura (Trissaturados)		
48	PPP	56,1
50	StPP	60,0
52	StStP	61,1
54	StStSt	65,0
62	BeOBe	52,0

P: ácido palmítico; St: ácido esteárico; O: ácido oléico; L: ácido linoléico; Be: ácido behênico.
 Fonte: O'BRIEN, 2004; SATO, 2001.

2.2 CRISTALIZAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS

O comportamento de cristalização de óleos e gorduras constitui um fator importante na caracterização e estabilidade da estrutura, textura e qualidade de produtos de base lipídica, não apenas no processamento, mas também durante a distribuição e estocagem. A estrutura das redes cristalinas formadas depende da composição da matriz lipídica, do meio e das condições de processo (velocidade de agitação, taxa de resfriamento e temperatura utilizada), podendo originar conformações com diferentes propriedades físico-químicas, como faixa de temperatura de fusão e velocidade de cristalização, em decorrência de alterações destes fatores (STAPLEY; HIMAVAN; STAROV, 2006).

O controle do processo de cristalização de lipídios permite estruturar a fase cristalina de acordo com número de partículas, distribuição de tamanhos, polimorfismo e dispersão (HARTEL; METIN, 2005). Logo, através do conhecimento dos fundamentos da cristalização das gorduras é possível otimizar as condições de processo e a sua aplicabilidade em produtos alimentícios.

A cristalização dos lipídios ocorre em duas etapas, chamadas de nucleação e crescimento, que se desenvolvem quase simultaneamente, porém a diferentes taxas. Primeiramente formam-se núcleos estáveis através do resfriamento e consequente supersaturação do meio. Os núcleos formados crescem e se desenvolvem em cristais, formando a rede cristalina (ROUSSEAU; SONWAI, 2010; ULRICH; SZEPE; CHALEEPA, 2010).

A nucleação é uma das etapas mais importantes no controle da cristalização. Na nucleação primária, os núcleos podem ser formados a partir da fase líquida supersaturada e homogênea, sob uma temperatura estabelecida e em uma região metaestável, sem a adição de partículas para induzir a cristalização. A nucleação pode também ser catalisada pela adição de partículas ou ‘sementes’ à mistura lipídica, processo chamado nucleação heterogênea. As moléculas se agrupam de maneira repetitiva em agregados que se dissolvem na mistura líquida até a geração de um núcleo estável (MARANGONI; WESDORP, 2013). Com o início da nucleação, há a liberação de energia com a diminuição de entalpia de cristalização e assim as moléculas mais ordenadas assumem um estado de menor energia livre de Gibbs (HARTEL; METIN, 2005).

O crescimento dos cristais ocorre após ou simultaneamente à fase de nucleação. Nesta etapa outras moléculas de TAG se deslocam da fase líquida e se incorporam à rede cristalina pré-existente. O crescimento depende do grau de super-resfriamento, da taxa de difusão molecular e do tempo necessário para o encaixe dessas moléculas na estrutura em

crescimento. O encerramento desta etapa ocorre quando o sistema entra em equilíbrio isto é, quando não há mais uma diferença de potencial químico indispensável para a cristalização. Como a força motriz necessária para o crescimento do cristal é relativamente pequena em relação à da nucleação, esta é a etapa que geralmente controla o processo de cristalização (MARANGONI, 2005).

O crescimento dos cristais ocorre lentamente, principalmente em gorduras multicomponentes, devido à competição entre moléculas semelhantes pelo mesmo sítio ativo da rede cristalina (HARTEL; METIN, 2005; MARANGONI, 2005). Em sistemas com elevada supersaturação a viscosidade pode ter um efeito significativo sobre a taxa de crescimento devido à diminuição da difusão molecular e da dissipação do calor latente de cristalização da face do cristal em crescimento. A taxa de crescimento cristalino diminui com o decréscimo da temperatura e com o aumento da viscosidade (MARANGONI, 2005).

Durante os estágios iniciais do processamento de alimentos, as velocidades relativas de nucleação e de crescimento cristalino determinam a distribuição, forma e tamanho dos cristais, parâmetros associados à consistência e à textura. Fenômenos pós-cristalização podem ocorrer no produto estocado alterando consideravelmente as características e a estabilidade dos alimentos, tais como transições polimórficas para fases termodinamicamente mais estáveis, formação de novos cristais e crescimento cristalino, migração de óleo ou de pequenos cristais. As transições polimórficas ocorrem principalmente nos estágios iniciais do processamento (HIMAWAN; STAROV; STAPLEY, 2006). Portanto, o controle da cristalização e das transições polimórficas em gorduras é fundamental para que a indústria processe e produza alimentos estáveis.

2.3 POLIMORFISMO

Polimorfos são cristais de gordura de mesma composição química, mas que apresentam diferentes formas espaciais. Estas estruturas cristalinas tem grande impacto sobre propriedades físicas das gorduras como consistência e temperatura de fusão, que são fundamentais para o processamento e armazenamento de produtos alimentícios. Por este motivo, monitorar e modificar o polimorfismo de gorduras é uma estratégia indispensável no desenvolvimento e aperfeiçoamento de produtos que contêm em sua formulação uma matriz lipídica (MARANGONI; WESDORP, 2013).

Algumas características da cristalização lipídica podem ser inferidas pelo conhecimento da estrutura cristalina e do hábito cristalino da gordura. A transformação

polimórfica dos cristais está relacionada a diversos fatores, tais como: composição da molécula de TAG, composição da matriz lipídica, distribuição dos ácidos graxos, do grau de pureza da matriz lipídica e das condições de cristalização (taxa de resfriamento, temperatura, agitação e *seeding*) (MARANGONI; WESDORP, 2013). Desta forma, o polimorfismo dos lipídios interfere no termograma de fusão e cristalização, na morfologia, no tamanho e na agregação cristalina, e, conseqüentemente nas propriedades físicas macroscópicas dos alimentos (HARTEL; METIN, 2005; SATO, 2001).

As formas polimórficas podem ser identificadas pela técnica de difração de Raios-X, baseada na distância entre grupos alquila na molécula do triacilglicerol (*short spacings* - SS) distinta para cada polimorfismo e cuja relevância foi apontada em 1934 em estudos publicados por Clarkson e Malkin (HARTEL; METIN, 2005; MARANGONI; WESDORP, 2013).

Em geral, os lipídios de origem animal ou vegetal apresentam formas polimórficas chamadas de α , β' e β , com estabilidade, faixa de fusão e densidade diferentes (Figura 2.2). Os cristais do polimorfo α são caracterizados pelo empacotamento hexagonal e são pouco estáveis; a estrutura formada por cristais β' apresenta empacotamento ortorrômbico perpendicular e tem estabilidade intermediária. O polimorfo β é a forma mais estável e apresenta empacotamento triclinico paralelo, suas cadeias são planas e paralelas, e conseqüentemente possuem maior faixa de fusão e consistência (MARTINI; AWAD; MARANGONI, 2006). A Figura 2.2B ilustra o arranjo tridimensional dos polimorfos α , β' e β .

A diferenciação dos polimórficos é feito pela identificação dos *short spacings* característicos, sendo que os cristais α e β apresentam um único pico de difração a 4,15 Å e 4,6 Å, respectivamente (MARANGONI; WESDORP, 2013). O polimorfo β' pode ter dois picos em 3,8 e 4,2 Å ou três em 4,27, 3,97 e 3,71 Å (TIMMS, 1984).

A transformação polimórfica sólido-sólido ocorre na direção da forma mais estável e é uma transição irreversível ($\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$), conforme Figura 2.2A (MARANGONI; WESDORP, 2013). Além disso, o polimorfo também pode ser obtido de forma direta a partir da mistura fundida (MARANGONI, 2005).

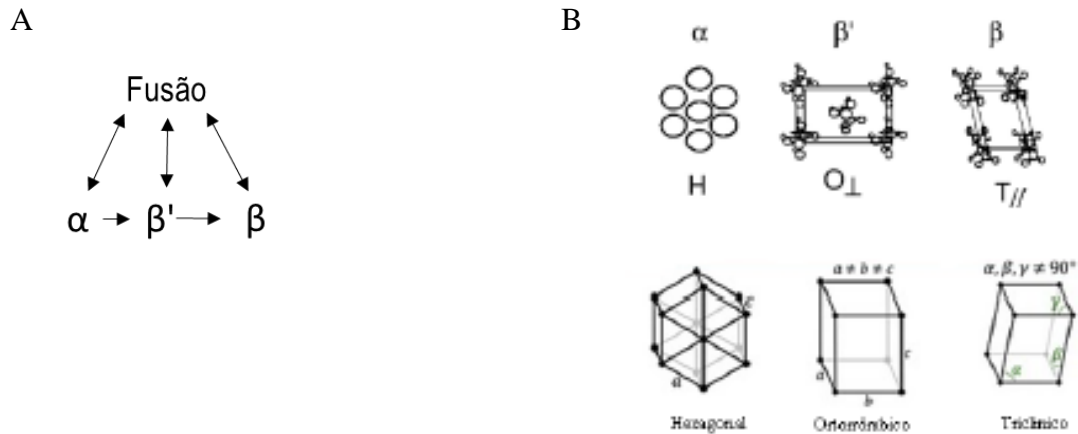


Figura 2.2 - A) Dinâmica de cristalização e recristalização polimórfica de gorduras.

B) Arranjo tridimensional dos polimorfos.

Fonte: A) Adaptado de SATO; UENO (2001). B) Adaptado de MARTINI; AWAD; MARANGONI (2006).

A literatura menciona seis formas polimórficas para a manteiga de cacau. Na literatura científica, os seis polimorfos da manteiga de cacau são comumente chamados através de numeração romana, na qual as formas I, II, III, IV, V e VI correspondem respectivamente a γ , α , β'_2 , β'_1 , β_2 e β_1 , conforme nomenclatura atual (MCGAULEY; MARANGONI, 2002).

As formas I e II são obtidas pelo resfriamento rápido a uma baixa temperatura, são muito instáveis, e a forma I apresenta as menores temperaturas de fusão. O polimorfo II pode ser obtido a partir da cristalização da gordura líquida, ou da transformação sólido-sólido da forma I. Da mesma maneira que a forma II, os polimorfos III, IV e V podem ser formar pela cristalização da fase líquida ou por transformações sólido-sólido de formas menos estáveis. O polimorfo V é o que proporciona características adequadas para a moldagem e contração do chocolate, aparência brilhante, com bom *snap*, fusão em temperatura corpórea e é mais resistente ao *fat bloom*. A forma polimórfica V, portanto, é a desejada em chocolates comerciais de boa qualidade (BECKETT, 2000). A forma VI é formada a partir da transformação no estado sólido da forma V, apresenta temperatura de fusão de aproximadamente 36°C, cristais mais estáveis e normalmente é encontrada em chocolates com defeito de textura como o *fat bloom*. Mesmo que o chocolate contenha a forma V em seus cristais, após longo tempo de armazenamento estes podem se transformar em polimorfos VI. Acredita-se que esta transformação polimórfica seja a principal causa de surgimento do *fat bloom*, apesar do mecanismo completo de formação não ser ainda totalmente conhecido (LOISEL et al., 1998; TALBOT, 1999). A Figura 2.3 ilustra as transformações polimórficas da manteiga de cacau.

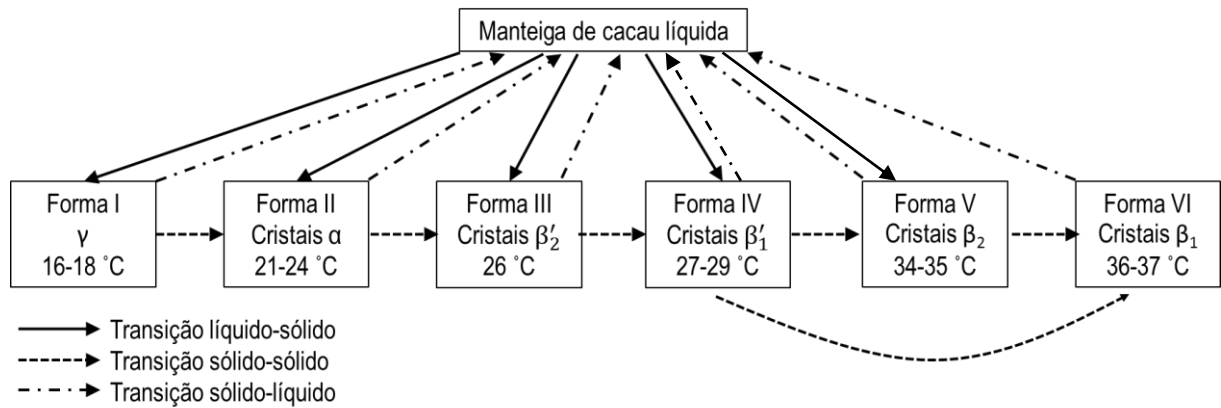


Figura 2.3 - Transições polimórficas na manteiga de cacau.
 Fonte: Adaptado de TIMMS (1984) e TIMMS (2003).

O comportamento do polimorfismo da manteiga de cacau pode ser melhor compreendido através do conhecimento dos modelos estruturais dos triacilgliceróis predominantes na composição, o POP, o StOSt e o POSt.

Segundo Arishima e Sato (1989) o TAG StOSt possui cinco formas polimórficas (α , γ , pseudo- β' , β_2 e β_1) e o POP apresenta seis formas polimórficas (α , γ , pseudo- β'_1 , pseudo- β'_2 , β_2 e β_1). Em outro estudo, foram encontradas apenas quatro formas polimórficas para o POSt (α , δ , pseudo- β' e β) (ARISHIMA; SAGI; MORI; SATO, 1991). Observa-se que o polimorfismo pseudo- β' atualmente é chamado por β' , logo é o mesmo polimorfo.

A morfologia dos cristais β_2 e β_1 no StOSt e POSt apresentam a mesma distância interlamelar (*long spacing*) (ARISHIMA; SATO, 1989). Os TAGs StOSt, POSt e POP possuem empacotamento duplo das cadeias nas sua forma α e também na forma β' do POP. O empacotamento em cadeias triplas ocorre nas formas γ , β' para StOSt e o POSt e na forma β dos três TAGs dissaturados avaliados (YANO et al., 1993). A Figura 2.4 ilustra o polimorfismo do POP e do StOSt em uma transformação sólido-sólido.

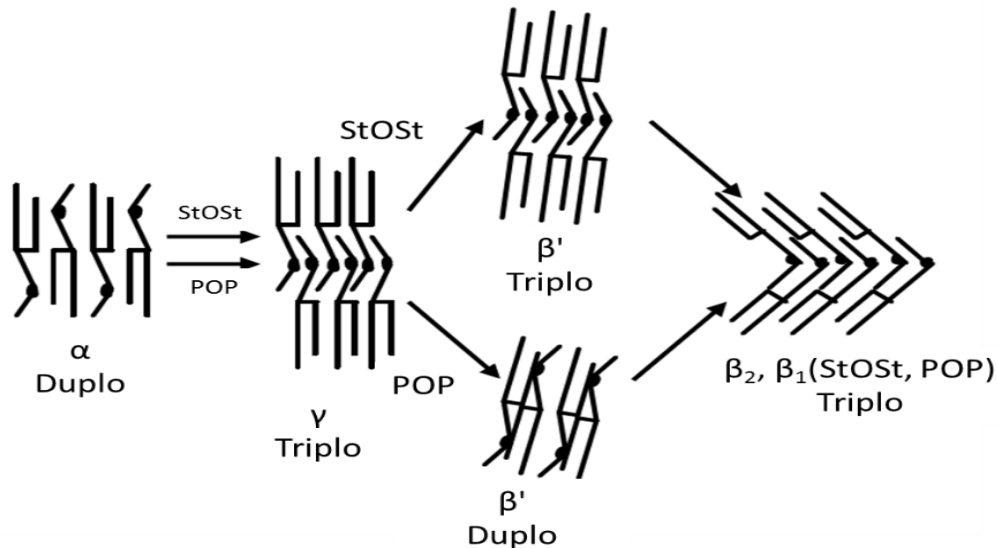


Figura 2.4 - Modelos de polimorfos de POP e StOSt em uma transformação sólido-sólido.
Fonte: Adaptado de YANO et al. (1993).

Portanto, o polimorfismo da manteiga de cacau é dependente, além das condições de processo, também do arranjo polimórfico de cada componente e de suas proporções.

2.4 MICROESTRUTURA

As propriedades físicas macroscópicas dos produtos estão relacionadas com a configuração estrutural da rede cristalina e também confere características sensoriais. Entre estas pode-se citar o *snap, fat bloom* e aceitação sensorial do chocolate e a espalhabilidade em margarinas e *spreads* (AWAD; MARANGONI, 2006). As condições de processo e os diferentes níveis estruturais que se formam durante a cristalização afetam as propriedades reológicas (NARINE; MARANGONI, 2005).

A rede cristalina é formada após a fusão, iniciando pela cristalização de moléculas de TAGs na ordem de submicrômetros, chamados cristalitos. Estes se agregam formando estruturas na ordem de 1 a 10 micrômetros, até a formação de *clusters* de grandes dimensões, originando uma rede cristalina tridimensional com microestruturas na ordem de 50 a 140 micrômetros (NARINE; MARANGONI, 2005).

A morfologia cristalina apresentada por lipídios pode ocorrer na forma de agulhas, discos ou esferulitos, em uma, duas ou três dimensões, respectivamente. Esta diferenciação está relacionada aos diferentes polimorfos presentes nos lipídios. Por este motivo, os cristais β' estão frequentemente na forma de esferulitos e os cristais β são mais associados ao formato de discos (HARTEL, 2001). A microscopia de luz polarizada e microscopia eletrônica de

varredura são as principais técnicas analíticas para visualizar a microestrutura (TANG; MARANGONI, 2006).

2.5 CONSISTÊNCIA

A consistência reflete as propriedades mecânicas das gorduras (DEMAN, 1983). Características como teor de sólidos e tamanhos dos cristais afetam diretamente a consistência, de forma que teores de sólidos mais altos e cristais menores estão relacionados à maior consistência (O'BRIEN, 2004).

Haighton (1959) descreveu um método para avaliação da consistência que utiliza como parâmetro o *yield value*, correspondente à tensão absorvida antes da deformação permanente. A relação expressa por Haighton (1959) é mostrada na Equação 2.1.

$$C = \frac{K \cdot W}{p^{1,6}} \quad (2.1)$$

Onde, C é o *yield value*, em gf/cm², K é o fator que depende do ângulo do cone (corresponde a 4700, para o cone de 45°), W é a força de compressão, em gf, e p é a profundidade de penetração, em mm/10.

De acordo com a classificação feita por Haighton (1959), as gorduras são qualificadas conforme sua dureza e espalhabilidade em determinada temperatura (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 - Classificação de produtos gordurosos segundo *yield value*.

<i>Yield value</i> (gf/cm ²)	Consistência
50 – 100	Muito macia, não espalhável.
100 – 200	Macia e espalhável.
200 – 800	Plástica e espalhável.
800 – 1000	Dura, satisfatoriamente espalhável.
1000 – 1500	Muito dura, limite de espalhabilidade.
>1500	Muito dura.

Fonte: HAIGHTON (1959).

Em chocolates, a consistência é medida pela resistência à ruptura, chamada *snap*. Esta análise pode ser utilizada como um indicativo da ocorrência de *fat bloom* nos chocolates, uma

vez que o defeito implica em formas irregulares nos cristais, com variação de tamanho e consequentemente menor resistência à ruptura (SCHENK; PESCHAR, 2004).

2.6 CHOCOLATES

Segundo Awad e Marangoni (2006), chocolate é uma dispersão do pó de cacau, açúcar, aditivos e sólidos do leite em uma fase contínua de gordura, que é o componente de maior custo. Uma variedade de gorduras pode ser usada na fabricação de chocolates, incluindo manteiga de cacau, gordura do leite, óleo de palma e outros substitutos (AWAD; MARANGONI, 2006).

A RDC n° 264 de 22 de setembro de 2005, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), define que “chocolate é o produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao* L.), massa (ou liquor) de cacau, cacau em pó e ou manteiga de cacau, com outros ingredientes, contendo, no mínimo, 25% (g/100 g) de sólidos totais de cacau” (ANVISA, 2005c).

A qualidade do chocolate pode ser atribuída de acordo com: *snap*, brilho, sensação na boca, durabilidade e estabilidade durante o armazenamento. Estas características estão relacionadas com a composição química, pois as propriedades físicas dos ingredientes de gordura, como comportamentos de cristalização e fusão, polimorfismo, grau de compatibilidade entre os TAGs da gordura e da estrutura final da rede de cristalina de gordura influencia, bem como suas proporções, conferem propriedades específicas à matriz lipídica. Portanto, os ingredientes de gordura no chocolate exibem comportamentos complexos e, consequentemente, a compreensão das propriedades físicas destas gorduras e suas interações são necessárias para controlar as propriedades funcionais e parâmetros de qualidade do chocolate (AWAD; MARANGONI, 2006).

O *fat bloom* é o principal defeito em chocolates, que no seu estágio inicial, é caracterizado pela perda de brilho na superfície do chocolate que com o tempo aumenta apresentando um aspecto esbranquiçado, que pode ser uniforme ou não e em diferentes tons (BRIONES; AGUILERA, 2005; LONCHAMPT; HARTEL, 2004). A Figura 2.5 compara o aspecto de chocolates com e sem *fat bloom*. O *fat bloom*, entretanto, não é apenas um fenômeno superficial, pois os cristais adquirem formas irregulares, alterando o sabor e tornando o chocolate indesejável sensorialmente ao consumidor (HODGE; ROUSSEAU, 2002). Desta forma, o controle dos parâmetros que podem induzir ou aumentar a formação de *fat bloom* é fundamental para evitar perda de qualidade em decorrência deste defeito.



Figura 2.5 - Chocolate sem e com *fat bloom*.
Fonte: ALANDER et al. (2007).

Existem várias hipóteses sobre o modo como o *fat bloom* se desenvolve. Alguns autores descrevem que a formação do *fat bloom* é o resultado da temperagem incorreta da manteiga de cacau, da transição polimórfica da forma V para a VI, da separação de fases, da ação da capilaridade e da migração por flutuação de temperatura (AGUILERA; MICHEL; MAYOR, 2004; BECKETT, 2000; BRICKNELL; HARTEL, 1998). Ao se discutir as razões para a formação do *fat bloom*, é importante ter em mente que quando a manteiga de cacau cristaliza, podem existir cristais com formas polimórficas estáveis e instáveis. Portanto, mesmo após o processo de temperagem, as modificações polimórficas continuam no armazenamento, pois cristais instáveis sofrerão transformações até ficarem termodinamicamente estáveis.

O desenvolvimento do *fat bloom* durante o armazenamento pode ocorrer devido à problemas de flutuação de temperatura (do ambiente ou dentro das câmaras de armazenamento). Essas alterações podem promover dois tipos de *fat bloom*. O primeiro ocorre quando alguns cristais se fundem, e depois se recristalizam, porém de forma mais lenta, uma vez que a taxa de resfriamento é diferente daquela utilizada na temperagem, produzindo cristais maiores e menos compactos. Como consequência, além destes cristais se projetarem em direção à superfície do chocolate, podem deslocar ou desalojar a manteiga de cacau líquida ou semi-sólida, forçando sua saída pelos poros até à superfície. O segundo tipo de *fat bloom* ocorre quando os cristais sofrem uma fusão incipiente ao invés de se fundirem completamente. Com isso os componentes da manteiga de cacau que estão parcialmente fundidos migram para a superfície. Quando a gordura semi-sólida vence a barreira da superfície, aglomera-se aos poucos, e durante o resfriamento ela aparece como manchas ou pontos (BASTIDA-RODRÍGUEZ, 2013).

A ocorrência de separação de fases e/ou de processos de recristalização também são indicados como causas possíveis de desenvolvimento de *fat bloom*. Somado a isso, a transição

polimórfica pode ocorrer e contribuir para transportar a gordura líquida ou semi-sólida pelos poros do chocolate até a superfície. Esse mecanismo aconteceria porque na transição polimórfica para as formas mais estáveis há uma compactação ou aumento da densidade dos cristais (ARISHIMA et al., 1995; SEGUINE, 1991). Como consequência, pode ocorrer um deslocamento mecânico e uma diferença de pressão forçando a migração da gordura ou do óleo. Como a transição polimórfica está associada aos dois mecanismos, ela é o fator determinante da formação de *fat bloom*.

A partir do conhecimento das modificações ocasionadas em produtos com *fat bloom* pode-se utilizar técnicas analíticas para identificar a ocorrência ou ausência deste defeito.

A tensão de ruptura pode indicar alterações estruturais quantificadas indiretamente por meio da avaliação da resistência mecânica da amostra com a tensão de ruptura. O princípio desta avaliação baseia-se na transição de cristais da forma V para a VI, implicando em alterações na rede cristalina, tornando-a mais compacta e quebradiça, além de aumentar a temperatura de fusão do chocolate para valores acima da temperatura corporal (AWAD; MARANGONI, 2006). Logo, o estudo do comportamento de fusão por DSC também pode ser um indicativo do polimorfo predominante, pois amostras com *fat bloom* normalmente apresentam faixa de fusão superior a de amostras recém-processadas (AFOAKWA et al., 2008). A determinação direta do hábito polimórfico preferencial da estrutura cristalina lipídica por difração de Raios-X permite a confirmação da transição dos cristais comum em amostras com *fat bloom* (CEBULA; ZIEGLEDER, 1993).

2.7 MANTEIGA DE CACAU E SUAS LIMITAÇÕES

A manteiga de cacau, o componente fundamental na formulação do chocolate, apresenta elevado custo, e é obtida por meio da prensagem mecânica das amêndoas de cacau fermentadas, secas e torradas. Os atributos de qualidade do chocolate, como dureza, *snap*, brilho, fusão completa e rápida à temperatura corporal, desprendimento de aroma e sabor durante a degustação, são proporcionados pela fase gordurosa (LUCCAS, 2001; MIQUEL et al., 2001).

A composição em TAGs da manteiga de cacau depende, entre outros fatores, da espécie do cacau, da região geográfica de cultivo e da sazonalidade (SHUKLA, 2006). Entretanto, a manteiga de cacau de boa qualidade é relativamente uniforme, apresentando mais de 75% de triacilgliceróis simétricos (predominantemente POSt, StOSt e POP) e vestígios de TAGs assimétricos (PPO, PStO e StStO) (LONCHAMPT; HARTEL, 2004;

SHUKLA, 2006). A manteiga produzida com o cacau da Bahia (Brasil) apresenta menor conteúdo de gordura sólida a 25 °C, e, portanto, é mais macia do que as provenientes de outros países (RIBEIRO et al., 2012).

A fusão efetiva da manteiga de cacau se situa entre 32 e 35 °C e a manteiga possui 20% de TAGs no estado líquido à temperatura ambiente (SHUKLA, 2006). Como mencionado, o polimorfismo desta gordura é complexo, apresentando seis possíveis polimorfos dependendo das condições de pré-cristalização (temperagem), composição e armazenamento (CHAPMAN, 1957).

Devido à variabilidade de composição e de custos, misturas de manteiga de cacau de diferentes origens são comumente empregadas para adequar a gordura à aplicação em chocolates. Além disso, também podem ser utilizadas gorduras provenientes de outras fontes vegetais capazes de conferir características químicas e físicas similares às da manteiga de cacau; ou ainda, adicionar gorduras desenvolvidas especificamente para a aplicação em alimentos.

2.8 OUTRAS GORDURAS UTILIZADAS EM CHOCOLATES

A manteiga de cacau é um componente extremamente importante na formulação de chocolate. No entanto, a incerteza histórica de seu fornecimento, volatilidade de seus preços e a variabilidade de composição acaba forçando a busca por outras gorduras alternativas, com o objetivo de obter maior qualidade nos produtos com a mínima alteração de suas características (WANG et al., 2010). Neste contexto, as gorduras alternativas da manteiga de cacau de origens naturais chamadas substitutas de manteiga de cacau são classificadas conforme suas características e composição, sendo denominadas *Cocoa Butter Substitute* - CBS, *Cocoa Butter Replacers* - CBR, *Cocoa Butter Equivalents* - CBE e *Cocoa Butter Improvers* - CBI (HARTEL, 2004; JAHURUL et al., 2013; LONCHAMPT; BELITZ; GROSCH; SCHIEBERLE, 2009).

A legislação brasileira atual, por meio da Resolução RDC 264 de 2005, da ANVISA, permite a substituição parcial da manteiga de cacau por gorduras alternativas na fabricação de chocolate, desde que o chocolate final contenha no mínimo 25% em massa de sólidos totais de cacau. No Brasil os fabricantes de gorduras e de chocolates podem substituir parcialmente a manteiga de cacau por qualquer tipo de gordura alternativa, que são escolhidas por suas propriedades e menor custo (ANVISA, 2005c).

As CBEs, gorduras equivalentes à manteiga de cacau, têm como característica uma boa compatibilidade com a manteiga de cacau pois apresentam perfis de fusão, tamanho molecular e polimorfismo semelhantes (MING, 2008; SPANGENBERG; DIONISI, 2001). Estas gorduras podem ser compostas por gorduras não-laúricas e não-hidrogenadas adicionadas de frações concentradas de TAGs dissaturados simétricos, com ácido oleico na posição *sn-2*. Por conter composição semelhante à manteiga de cacau, as CBEs também necessitam de temperagem (QUAST et al., 2011). A qualidade e a composição padronizada de uma CBE mantém a qualidade do chocolate por mais tempo. Desta maneira, o aspecto e a vida útil (isenta de *fat bloom*) de massa de chocolate que contém CBEs se assemelham e as vezes até superam produtos formulados apenas com manteiga de cacau (LIPP; ANKLAM, 1998; SMITH, 2001). A vantagem em utilizar CBE fica evidenciada, sobretudo, em chocolates amargos que são mais propensos a desenvolver *fat bloom* (WILSON, 1999).

Gorduras alternativas substitutas da manteiga de cacau podem ser de origem não láurica (CBR's, *cocoa butter replacers*) ou láurica (CBSs, *cocoa butter substitutes*). As CBR's podem ser produzidas por hidrogenação e/ou fracionamento. Porém se a hidrogenação for parcial, as gorduras formadas apresentam alto conteúdo de ácidos graxos do tipo *trans* e as estruturas dos TAG's são diferentes das encontradas na manteiga de cacau, permanecendo estáveis na forma β' , apesar da semelhança em ácidos graxos (SMITH, 2001). As CBRs apresentam compatibilidade com a manteiga de cacau, mas a formulação da mistura lipídica deve ser limitada a no máximo 30% na matriz gordurosa (PANTZARIS; BASIRON, 2002). A aplicação de CBR's também pode possibilitar a formulação de produtos mais resistentes ao calor e ao *fat bloom*. Além disso, este grupo de gorduras não confere sabor ceroso aos produtos, são de baixo custo e não necessitam de temperagem (AAK, 2011).

As CBSs são constituídas por frações láuricas macias ou por óleos líquidos parcialmente hidrogenados e não apresentam compatibilidade com a manteiga de cacau (SMITH, 2001). Esta característica implica na formação de *fat bloom* e/ou amolecimento do produto final, devido à formação de misturas eutéticas (LONCHAMPT; HARTEL, 2004; WILLIAMS; RANSOM-PAINTER; HARTEL, 1997). Entretanto, a substituição total da manteiga de cacau por CBSs pode promover resistência ao *fat bloom* e melhorar as propriedades tecnológicas do chocolate, além de não necessitar de temperagem. Muitos países, contudo, não permitem a substituição total, pois esta confere perda no sabor característico do chocolate (LONCHAMPT; HARTEL, 2004).

2.8.1 Melhoradores da manteiga de cacau (CBIs)

As CBIs se assemelham às CBEs, e também são melhoradores da manteiga de cacau. Elas possuem maior teor de sólidos que a CBE, o que confere maior dureza à gordura, e por isso é utilizada para melhorar manteigas de cacau muito macias (que apresentam baixo teor de sólidos) (LIPP; ANKLAM, 1998).

Estas gorduras são feitas utilizando gorduras vegetais e apresentam temperaturas de fusão mais altas do que o da manteiga de cacau, aumentando a resistência ao calor de produtos aos quais são aplicadas. Da mesma forma que a manteiga de cacau, os CBIs apresentam mais de 70% de sua composição de triacilgliceróis simétricos monoinsaturados, majoritariamente em StOSt, e também necessitam de temperagem para que a cristalização ocorra no polimorfismo desejado. A substituição da maior porção de manteiga de cacau por CBI em chocolates eleva sua resistência *ao fat bloom*, porém em alguns países esta substituição é limitada legalmente e pode causar alterações nas propriedades sensoriais do chocolate, promovendo a sensação de cerosidade que é indesejada nestes alimentos (JUUL, 2011).

2.8.2 Processo para obtenção de CBIs

Há diversas limitações quanto a aplicação de óleos e gorduras vegetais *in natura* em alimentos industrializados, tais como variabilidade de sua composição, acessibilidade e custo. Desta forma, modificações físicas e químicas aplicadas em gorduras obtidas de fontes confiáveis viabilizam sua aplicação industrial, uma vez que é possível padronizar sua composição (OLIVEIRA, 2016).

Uma maneira de conseguir gorduras com um desempenho funcional desejado é explorar a combinação de matérias-primas, atentando-se à sua composição e escolher criteriosamente as tecnologias de modificação de gordura, tais como reações de interesterificação química e o processo de fracionamento por solvente (OLIVEIRA, 2016).

A interesterificação é amplamente utilizada pela indústria com o objetivo de alterar as propriedades físicas de óleos e gorduras naturais (SENANAYAKE; SHAHIDI, 2005). Segundo Rozendaal e Macrae (1997) a interesterificação química de uma mistura equimolar de TAGs monoácidos (AAA e BBB) resulta em uma mistura lipídica formada por seis combinações possíveis de TAGs: 12,5 % de cada um dos compostos puros (AAA e BBB), 37,5% de A₂B e 37,5% AB₂, destes 2/3 são TAGs randomizados simétricos e 1/3 não

simétrico. A reação química é promovida por um catalisador que desencadeia a randomização dos ácidos graxos ligados às moléculas de glicerol, alterando estatisticamente a composição em triacilgliceróis da gordura e a posição dos ácidos graxos. Entretanto, o nível de insaturação é mantido constante e não ocorre isomerização *cis-trans* (ROUSSEAU; MARANGONI, 2002; XU et al., 2006).

O fracionamento de gorduras tem como fundamento científico diferenças de temperatura de cristalização e de solubilidade dos cristais na fase líquida de diversas composições. O conhecimento destas características é utilizado para separar frações lipídicas com propriedades específicas para aplicação em outras matrizes gordurosas que precisam ter seu comportamento adequado. A técnica consiste na cristalização parcial dos TAGs (KELLENS et al., 2007; TIMMS, 1997). Após o fracionamento, os triacilgliceróis de um óleo ou gordura são separados fisicamente de maneira a se obter uma fração com baixa temperatura de fusão (oleína) e outra com alta (estearina) (DUIJN; DUMELIN; TRAUTWEIN, 2006; ILLINGWORTH, 2002; KELLENS et al., 2007).

O método de fracionamento por solvente consiste em utilizar acetona ou hexano para aperfeiçoar a separação dos TAGs. Este processo pode ser feito com taxas de resfriamento mais altas e sob baixas temperaturas de cristalização, devido à rapidez da nucleação e do crescimento cristalino. A quantidade de óleo retida na fase estearina é reduzida, em comparação ao processo convencional, pois a diminuição da viscosidade promovida pela diluição da gordura no solvente melhora a transferência de calor e a eficiência de separação das fases (TIMMS, 1997). A escolha do solvente requer uma avaliação a fim de selecionar aquele que propicia a seletividade da classe almejada. A acetona apresenta maior seletividade aos triacilgliceróis simétricos dissaturados em relação aos não simétricos dissaturados (HASHIMOTO et al., 2001).

O comportamento de fase dos TAGs, evidenciado pelos termogramas de fusão e de cristalização da gordura e por seu polimorfismo nos estados líquido e sólido, auxilia na determinação de condições para otimização do fracionamento. O resfriamento empregado afeta o polimorfismo preferencial dos cristais, dos quais a forma α predomina a altas taxas de resfriamento, formando cristais muito pequenos (CALLIAUW et al., 2007).

A eficiência de separação das frações e o rendimento dependem de um bom controle dos pontos críticos de processo. A temperatura inicial deve ser ajustada de modo que garanta a fusão completa do óleo. Além disso, o controle da taxa de resfriamento e do tempo de retenção também são importantes na obtenção de cristais de tamanhos e polimorfismo ideais. A agitação precisa ser menor (5-15 rpm) de forma que não ocorra o rompimento dos cristais.

Além disso, a temperatura final de cristalização e a da filtração dos cristais precisam ser adequadas (GUPTA, 2008). A eficiência da filtração é em função das propriedades dos cristais, como dimensões esféricas uniformes, polimorfos β' , tamanhos de 0,1 mm de diâmetro e consistência não macia (CALLIAUW et al., 2007; KELLENS et al., 2007; ZALIHA et al., 2004). Em sua pesquisa, Mamat et al. (2005) verificaram que em misturas com óleo de palma e óleo de girassol, o fracionamento sob menor temperatura de cristalização (15 °C) formou uma oleína, com menor teor de TAGs monoinsaturados e maior quantidade em di- e poliinsaturados. Além disso, a qualidade e a pureza da matéria-prima, o projeto do cristalizador e os sistemas de separação devem ser avaliados no processo de fracionamento (DORSA, 2004).

3 PROGRAMAÇÃO DOS ENSAIOS

Os experimentos realizados nesta pesquisa foram conduzidos conforme o fluxograma apresentado na Figura 3.1.

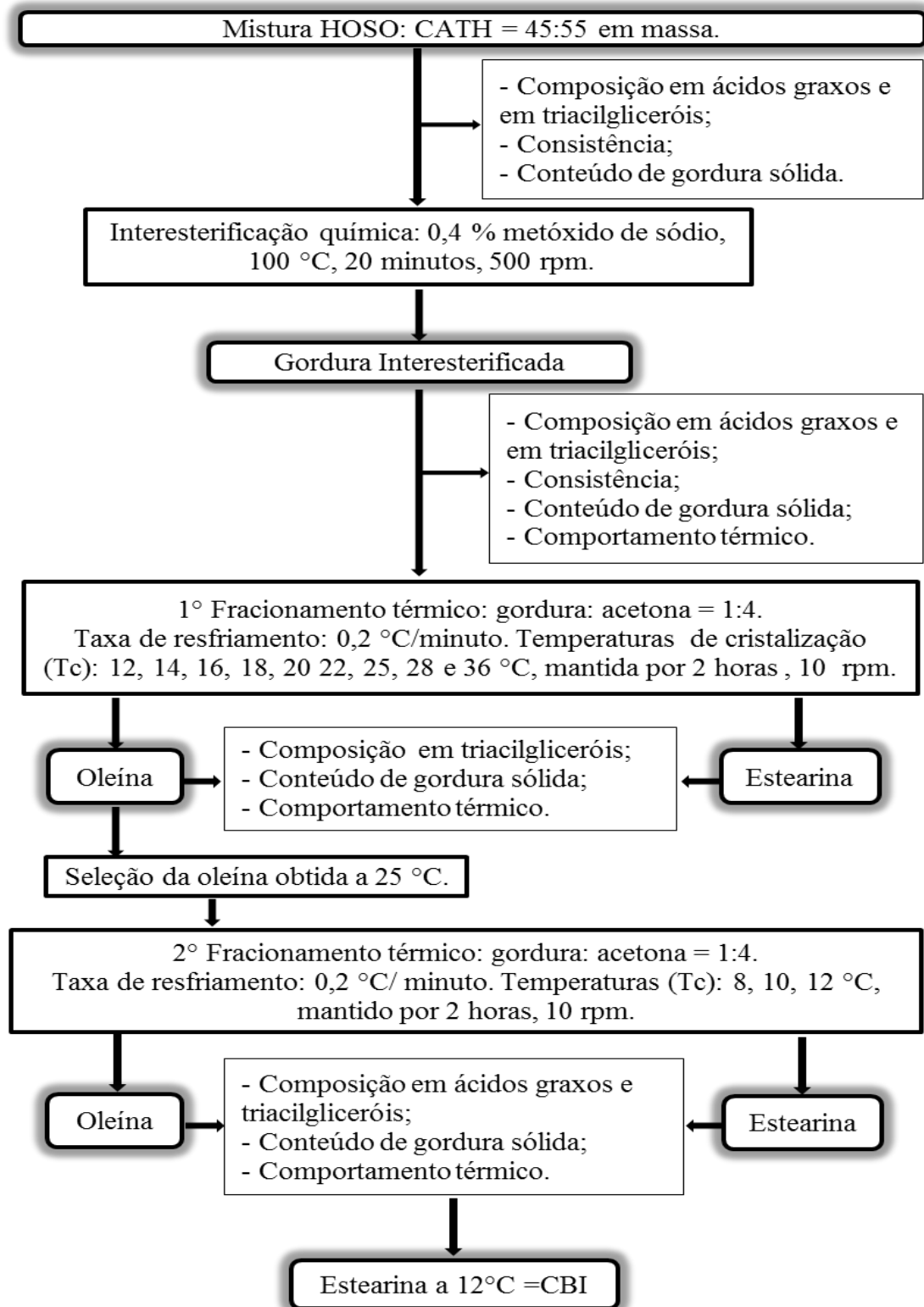


Figura 3.1 - Fluxograma dos ensaios e caracterização físico-química.
Fonte: Da autora

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

Para a interesterificação química:

- HOSO - óleo de girassol alto oleico doado pela Cargill Agrícola S/A, Mairinque, SP, Brasil;
- CATH - óleo de canola totalmente hidrogenado produzido pela Sina Indústria de Alimentos Ltda, Pirapozinho, SP, Brasil;
- Metóxido de sódio – catalisador da reação, procedente da empresa Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha.

Para os fracionamentos térmicos e comparação com o produto obtido:

- Acetona P.A. da marca Êxodo Científica procedente da empresa Elias e Alexandria indústria e comércio de equipamentos e suprimentos para laboratório Ltda, Hortolândia, SP, Brasil;
- Manteiga de cacau doada pela Barry Callebaut Ltda, São Paulo, SP, Brasil.

4.2 INSTRUMENTAÇÃO PARA A INTERESTERIFICAÇÃO E FRACIONAMENTO

Na reação de interesterificação química (CIE) foi utilizado o aparato instrumental mostrado na Figura 4.1, que também foi usado no processo de fracionamento. O sistema é composto por um reator de vidro com parede dupla, modular e com capacidade de 3000mL, projetado para o estudo de reações químicas e também processos de mistura pela empresa HEL Group (Borehamwod, Inglaterra), modelo AutoLAB Flex. A agitação foi feita com um impelidor tipo hélice nas reações de CIE e com outro do tipo pá “superfície raspada”, para o fracionamento térmico. Os impelidores foram conectados a um agitador de alto torque, RZR 2102 (Heidolph Instruments, Schwabach, Alemanha), que possui sistemas de controle para agitação de alta e baixa rotação. Um banho termostático da marca Julabo Labortechnik GmbH, modelo F25 (Selbach, Alemanha), com programador de temperatura na faixa de 5 a 100°C e resolução de 0,01°C é acoplado para alimentar a camisa do reator. Outro banho termostático da marca Julabo Labortechnik GmbH, modelo FP50 (Selbach, Alemanha) mantido a 10°C foi

acoplado a um tubo condensador de serpentina (Graham) com recirculação de água, instalado na tampa do reator para assegurar a condensação da acetona durante o fracionamento por solvente. O controle de temperatura dos processos foi feito por meio de dois termopares, sendo que o primeiro faz leituras *online* da temperatura do produto e o segundo, externo ao reator, mede a temperatura da água circulante no sistema ‘banho-reator’.

No final do fracionamento, após o período de cristalização isotérmica, as oleínas e estearinas formadas foram filtradas utilizando um filtro encamisado (Seitz Enzinger Noll Maschinenbau AG, Mannheim, Alemanha) acoplado a um banho termostático da marca Julabo Labortecnic GmbH, modelo FP50 (Selbach, Alemanha) mantido na mesma temperatura de cristalização. Abaixo do filtro foi colocado um kitassato de vidro conectado a uma bomba da Primatec com vácuo máximo de 760 mmHg. Após a filtração a acetona foi recuperada utilizando um rotoevaporador acoplado a um condensador, por onde passa água fria do banho, e a um banho-maria que aquece a amostra contendo acetona.



Figura 4.1 - Sistema usado no fracionamento e interesterificação de óleos e gorduras e recuperação do solvente.

Fonte: Da autora.

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Método para as reações de interesterificação química

A CBI com alto teor de StOSt foi preparada por interesterificação química de uma mistura contendo a proporção 55:45 de CATH:HOSO conforme otimização feita por Oliveira (2016), seguida de fracionamentos. A mistura de HOSO (óleo de girassol alto oleico) com CATH (óleo de canola totalmente hidrogenado) foi fundida a 80°C, alimentada no reator e, então, aquecida a 100°C, condição em que permaneceu durante 10 minutos para permitir a remoção do ar incorporado durante a agitação. Após esta etapa, o catalisador metóxido de sódio foi adicionado em uma quantidade correspondente a 0,4% (m/m) em relação à mistura lipídica. A reação ocorreu por 20 minutos sob agitação constante de 500 rpm e foi neutralizada pela adição de água destilada ao final deste processo (GRIMALDI; GONÇALVES; ANDO, 2005; RIBEIRO et al., 2009). Em seguida, a gordura foi lavada com água destilada a 80°C para a retirada de sabões formados e seca a 100°C sob vácuo (RIBEIRO et al., 2009).

4.3.2 Método para o fracionamento térmico por solvente

A gordura produzida por interesterificação foi fracionada em duas etapas sequenciais, utilizando acetona como solvente. Inicialmente, a gordura fundida foi misturada com acetona em uma proporção de 1:4 (m/v), respectivamente, e vertida no reator pré-aquecido a 45°C. Então, a mistura foi homogeneizada a 10 rpm durante 30 minutos para a destruição completa da memória cristalina. Após esta etapa a amostra foi submetida ao resfriamento controlado a uma taxa de 0,2°C/min até atingir a temperatura de cristalização (T_c) (HASHIMOTO et al., 2001). No primeiro estágio do fracionamento as T_c avaliadas foram 12, 14, 16, 18, 20, 22, 25, 28 e 36 °C, e o tempo de cristalização em cada uma delas foi de 2 horas. As T_c para o segundo estágio do fracionamento foram 8, 10 e 12°C.

4.3.3 Método de filtração

Após o fracionamento, a amostra cristalizada foi retirada do reator e vertida imediatamente no filtro de aço inox encamisado, no qual foi mantida na mesma temperatura da cristalização durante a filtração. A estearina ficou retida em um filtro de papel, enquanto

que a oleína foi coletada no kitassato. As amostras foram filtradas durante 10 min e o tamanho da torta é variável, dependendo do rendimento do processo e do tamanho dos cristais. A estearina presente na torta foi lavada com acetona resfriada dois graus abaixo da temperatura de cristalização da amostra de forma a garantir o arraste de pequenas quantidades de oleína ocluídas na massa de cristais.

4.4 TÉCNICAS ANALÍTICAS

4.4.1 Composição em ácidos graxos

A análise de composição em ácidos graxos foi feita em cromatógrafo em fase gasosa com coluna capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System, EUA), após esterificação utilizando o método de Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram separados de acordo com o método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009) em coluna DB – 23 Agilent (EUA) (50% cianopropilmetilpolisiloxano), com comprimento de 60 m, diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,25 μm . A análise foi realizada com a temperatura do forno de 110°C durante 5 min, seguida de aquecimento de 110°C a 215°C com taxa de 5°C/min, permanecendo a 215°C durante 24 min; a temperatura do detector foi de 280°C; a temperatura do injetor foi de 250°C; o gás de arraste foi hélio; a razão *split* foi de 1:50; o volume injetado foi 1,0 μL . A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos.

4.4.2 Índice de iodo, I.I.

O índice de iodo pode ser calculado através da composição em ácidos graxos pelo método Cd 1c-85 (AOCS, 2009), conforme a equação:

$$I.I. = (\% C16:1 * 0,95) + (\% C18:1 * 0,860) + (\% C18:2 * 1,732) + (\% C18:3 * 2,616) \quad (4.1)$$

4.4.3 Índice de saponificação, I.S.

O índice de saponificação pode ser calculado a partir da composição em ácidos graxos, utilizando a massa molar média ($MM_{\text{média}}$) dos ácidos graxos segundo o método Cd 3a-94 (AOCS, 2009), conforme a equação abaixo. O valor do índice corresponde ao número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar 1g de óleo ou gordura.

$$I.S. = \frac{56000}{MM_{\text{média}}} + 12,67 \quad (4.2)$$

4.4.4 Composição em TAGs

As composições de triacilgliceróis foram obtidas segundo o método AOCS Ce 5-86 (2009), em cromatógrafo gasoso capilar (CGC Agilent 6850 Series Gc System). A coluna capilar utilizada foi DB-17 HT Agilent Catalog: 122-1811 (50% *fenil-metilpolisiloxano*), com dimensões de 15 m, Ø int: 0,25 mm e 0,15 µm filme. *Split* 1:50. As condições de operação do cromatógrafo foram: fluxo na coluna de 1,0 mL/min.; velocidade linear de 40 cm/seg; temperatura do detector de 375°C; temperatura do injetor de 360°C; aquecimento do forno de 280 a 340°C com taxa de 2°C/min, permanecendo a 340°C por 40 minutos; gás de arraste foi o hélio; volume injetado de 1,0 µL, *split* com razão 1:100; concentração da amostra de 10 mg/mL tetrahydrofurano. Os grupos de triacilgliceróis (TAGs) foram identificados segundo o método descrito por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995).

4.4.5 Conteúdo de gordura sólida (CGS)

A mistura antes e após a interesterificação química foi fundida e homogeneizada em forno de micro-ondas a temperatura de 80°C ou superior, e colocada em banho termostático seco com controle de temperatura pelo sistema Peltier Tcon 2000 (Duratech, EUA) e submetida à temperagem segundo o Método AOCS Cd 16b- 93: método direto I, leitura das amostras em série (AOCS, 2009). As leituras do teor de sólidos foram feitas em intervalos de 30 min, nas temperaturas de 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 °C, em Ressonância Magnética Nuclear pulsante de baixa resolução (RMN), Bruker pc120 Minispec (Silberstreifen, Alemanha).

4.4.6 Conteúdo de gordura sólida para gorduras especiais (CGS)

O CGS da blenda rica em StOSt foi determinado por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) pulsante de baixa resolução, Bruker pc120 Minispec (Alemanha) utilizando banhos secos de alta precisão (0 – 70°C) Tcon 2000 (Duratech, EUA) para acondicionamento das amostras nas temperaturas de leitura. A temperagem da blenda rica em StOSt foi feita conforme a sequência: fusão em micro-ondas à 80°C ou superior, 5 min à 60°C, 90 ± 5 min à 0°C, 40 ± 5 h à 26°C, 90 ± 5 min à 0°C e posteriormente 60 ± 5 min à cada temperatura de leitura (10, 20, 25, 30, 35, 40°C ou até fusão completa da amostra), seguindo o método AOCS Cd 16b-93: método direto II, leitura das amostras em série (AOCS, 2009).

4.4.7 Ponto de fusão

O ponto de fusão das gorduras é calculado pelas curvas de sólidos e corresponde a um valor de temperatura dentro da faixa de fusão da mistura lipídica. Segundo Karabulut, Turan e Ergin (2004) o ponto de fusão efetivo da mistura lipídica é a temperatura correspondente a 4% de sólidos.

4.4.8 Consistência

A consistência da amostra interesterificada foi determinada utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), controlado por microcomputador. As amostras antes e após a interesterificação química foram fundidas a 80°C em forno microondas, para a fusão completa dos cristais, e acondicionadas em béqueres de 50 mL. O condicionamento das amostras foi efetuado em incubadora, por 24 horas a 5°C para a cristalização e posteriormente permaneceu o mesmo período na temperatura de teste, 40°C. Na análise foram utilizados os *probes de cone* de acrílico truncados de ângulos de 45°. Os ensaios foram realizados nas seguintes condições: distância de penetração de 10 mm; velocidade de 2 mm/s; tempo de 5 s (RODRIGUES; GIOIELLI; ANTON, 2003). A força de compressão em (gf) obtida no experimento foi utilizada para o cálculo do *yield value*, conforme Haighton (1959), segundo a Equação 2.1.

4.4.9 Comportamento térmico de cristalização e fusão (DSC)

As análises térmicas das amostras interesterificada e fracionadas foram realizadas por calorimetria diferencial de varredura, no equipamento DSC Q2000 (TA Instruments, EUA) acoplado a um sistema de refrigeração, conforme o método AOCS Cj 1-94 (AOCS, 2009). O preparo das amostras consiste em pesar entre 8 e 10 mg em placas de alumínio. Uma placa de alumínio, vazia e selada hermeticamente é utilizada como referência para a obtenção de uma linha base. As condições de análise foram: amostras mantidas a 80°C por 10min, em seguida, submetidas a um resfriamento a uma taxa de 10°C/min até -60 °C e mantidas nesta temperatura por 30 minutos; após este ciclo, as amostras foram submetidas a um processo de fusão de -60 °C a 80 °C a uma taxa de 5°C/min. O *software* TA *Universal Analysis* 2000 foi utilizado para a obtenção das curvas térmicas e para definir os parâmetros de avaliação: temperatura *onset* de cristalização e fusão (T_O), temperatura de pico de cristalização e fusão (T_P), entalpia de cristalização e fusão (ΔH), temperatura final de cristalização e fusão (T_{final}) e intensidade do pico de cristalização e fusão (I).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 INTERESTERIFICAÇÃO QUÍMICA

A mistura 55:45 de CATH e HOSO foi interesterificada quimicamente e caracterizada em relação à composição em ácidos graxos, triacilgliceróis, consistência, comportamento térmico e conteúdo de gordura sólida. Esta proporção foi empregada devido à otimização da interesterificação de CATH e HOSO determinado por Oliveira (2016). Estas matérias-primas são teoricamente mais propensas à formação de TAGs StOSt/StStO/OStSt devido ao alto teor de ácidos graxos esteárico e oleico contido no CATH e no HOSO, respectivamente.

5.1.1 Composição em ácidos graxos

A mistura 55:45 foi analisada em função da composição em ácidos graxos antes e após a interesterificação química. Observou-se que não ocorre modificação na natureza dos ácidos graxos durante a reação, confirmando que as alterações se limitam apenas a mudanças na posição destes componentes nas moléculas de triacilgliceróis.

A Tabela 5.1 contém as composições em cada ácido graxo quantificado por cromatografia gasosa das matérias-primas e da gordura interesterificada, bem como seus índices de iodo e de saponificação. Os resultados são a média de duas repetições. O HOSO e o CATH apresentaram composição coerente aos encontrados na literatura (O'BRIEN, 2004). O HOSO é constituído predominantemente por ácidos graxos insaturados, sobretudo o ácido oleico (C18:1) com aproximadamente 80%. O CATH possui ácidos graxos saturados em maior proporção e o ácido esteárico (C18:0) o predominante com mais de 90% da composição. A mistura 55:45 de CATH e HOSO apresenta majoritariamente ácidos graxos esteárico (50,95%) e oleico (36,42%).

Os índices de iodo e de saponificação são considerados parâmetros indiretos relacionados à composição em ácidos graxos de óleos e gorduras e foram calculados a partir desta conforme a metodologia da AOCS (2009). O índice de iodo é a medida do número médio de duplas ligações, ou seja, do grau de insaturação da amostra e é expresso em gramas de iodo absorvido por 100g de amostra. O índice de saponificação refere-se à quantidade de base necessária para saponificar definida quantidade de óleo ou gordura. Este parâmetro é expresso em mg de hidróxido de potássio necessário para saponificar 1 g de óleo ou gordura e é inversamente proporcional à massa molar média dos ácidos graxos esterificados ao glicerol.

O índice de iodo mais elevado do HOSO está relacionado ao maior teor de ácidos graxos insaturados em relação à CATH e à amostra interesterificada. O índice de saponificação semelhante é devido à similaridade das massas molares médias dos ácidos graxos, predominando ácidos graxos com 18 carbonos.

Tabela 5.1. Composição em ácidos graxos das matérias-primas e da amostra interesterificada.

Composição em ácidos graxos (%)				
Número de carbonos	CATH	Mistura 55:45	Inter 55:45	HOSO
C10:0	0,01	0,01	0,00	0,00
C12:0	0,02	0,04	0,07	0,06
C14:0	0,08	0,07	0,11	0,07
C15:0	0,03	0,02	0,00	0,01
C16:0	5,19	4,60	4,79	3,88
C16:1	0,00	0,05	0,05	0,11
C17:0	0,28	0,16	0,18	0,02
C17:1	0,00	0,02	0,00	0,04
C18:0	91,32	51,54	50,95	2,92
C18:1	0,13	36,24	36,42	80,36
C18:2	0,03	4,76	4,74	10,55
C18:3	0,16	0,18	0,20	0,21
C20:0	1,95	1,20	1,23	0,27
C20:1	0,00	0,14	0,14	0,30
C22:0	0,47	0,67	0,74	0,90
C24:0	0,32	0,32	0,39	0,30
Σ saturados	99,68	58,62	58,45	8,43
Σ insaturados	0,32	41,38	41,55	91,57
Índice de iodo	0,58	39,94	40,10	88,04
Índice de saponificação	210,21	210,79	210,77	211,50

Fonte: Da autora.

A Figura 5.1 mostra graficamente a modificação da composição em ácidos graxos da mistura em relação às matérias-primas puras. Observa-se que a amostra interesterificada apresenta composição semelhante à proporção 55:45 de CATH e HOSO. Este resultado é semelhante ao obtido por Oliveira (2016) (49,5% de ácido esteárico e 37,3% de ácido oleico), evidenciando que não há diferença significativa nas matérias-primas utilizadas no presente ensaio em relação ao estudo anterior e, conseqüentemente a amostra interesterificada também é semelhante.

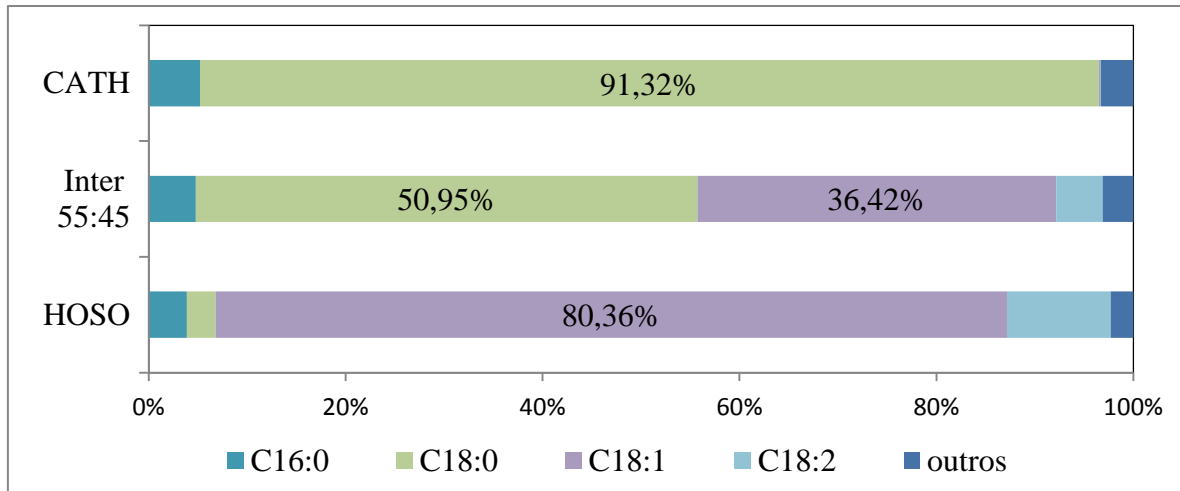


Figura 5.1 - Composição em ácidos graxos das matérias-primas e da amostra interesterificada.
Fonte: Da autora.

5.1.2 Composição em triacilgliceróis

Diferentemente da composição em ácidos graxos, a composição em triacilgliceróis é modificada durante a interesterificação química. A Tabela 5.2 apresenta os valores percentuais dos triacilgliceróis quantificados pela cromatografia gasosa. Os resultados são a média de duas repetições. Os valores confirmam a modificação de TAGs, formando os novos compostos StOSt/StStO/OStSt que não estavam presentes na composição original da mistura e aumentando o teor de outros dissaturados como o POSt/PStO, que também é constituinte de gorduras alternativas à manteiga de cacau. A Figura 5.2 mostra a composição por classes dos principais triacilgliceróis e a alteração dos mesmos após a interesterificação. Observa-se que os valores apresentados são semelhantes aos obtidos por Oliveira (2016) em seu estudo da interesterificação das mesmas matérias-primas, evidenciando a reprodutibilidade do processo utilizando o método de interesterificação química descrito por Grimaldi (2005). A composição da matéria-prima condiz com o previsto pela literatura (O'BRIEN, 2009).

Tabela 5.2 - Composição em triacilgliceróis das matérias-primas e da amostra interesterificada.

Composição em TAG (%)					
Notação	TAGs	CATH	Mistura 55:45	Inter 55:45	HOSO
C50:0	PPSt	2,01	1,10	0,00	0,00
C52:0	PStSt	19,24	10,58	5,28	0,00
C52:1	POSt/PStO	0,88	0,91	8,40	0,94
C52:2	POO	0,00	6,26	3,23	13,91
C52:3	POL	0,00	1,04	1,19	2,30
C54:0	StStSt	75,63	41,60	14,15	0,00
C54:1	StOSt/StStO/OStSt	0,00	0,00	31,49	0,00
C54:2	StOO	0,00	2,45	22,28	5,44
C54:3	OOO	0,00	30,74	8,31	68,30
C54:4	OOL	0,00	2,77	4,00	6,15
C54:5	OLL	0,00	1,33	1,66	2,95
C56:0	StStA	2,24	1,23	0,00	0,00

Fonte: Da autora.

Os teores de S_3 e U_3 foi reduzido com a interesterificação química enquanto que os de S_2U e SU_2 aumentaram o que demonstra a efetividade da randomização dos ácidos graxos presentes durante a reação química.

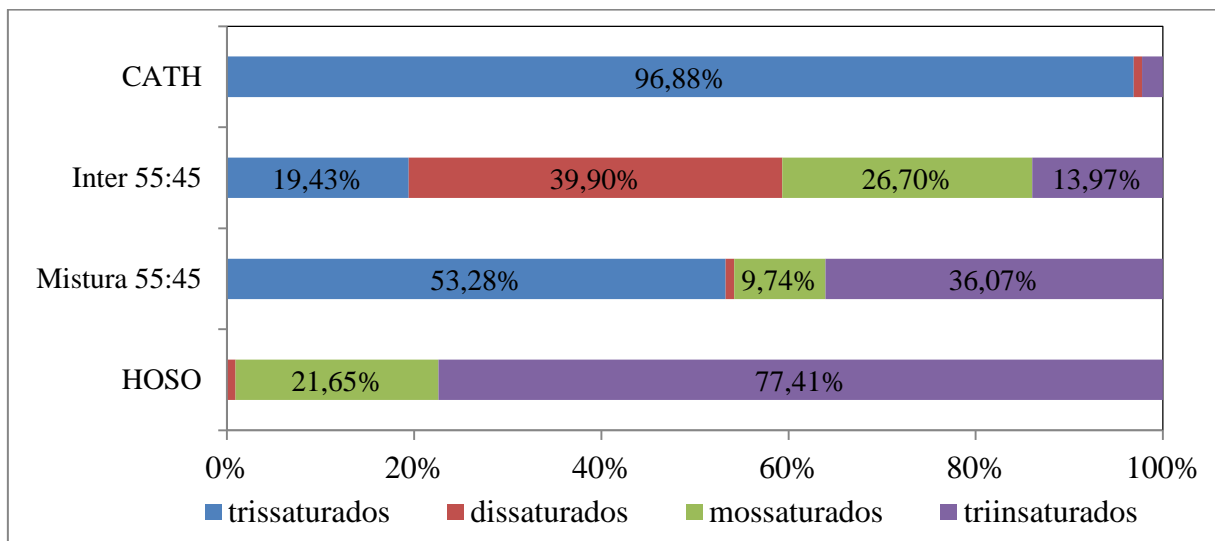


Figura 5.2 - Composição em classes de triacilgliceróis nas matérias-primas e da mistura 55:45 de CATH e HOSO antes e após a interesterificação.

Fonte: Da autora.

Segundo O'Brien (2009) os triacilgliceróis StOSt e POSt são adequados à formulação de *Cocoa Butter Equivalents* (CBE), *confectionary fats*, *toffee* e trufas por se fundirem em temperatura corporal e proporcionarem aos alimentos propriedades funcionais como estruturação e bloqueio à umidade. Além disso, o TAG StOSt é conhecido por apresentar boa compatibilidade com chocolates e aumentar a resistência ao *fat bloom* causado pela migração

do óleo (TIMMS, 2003). Apesar disso, a composição da gordura interesterificada ainda não é adequada para atuar como CBI ou CBE na aplicação em chocolates por possuir elevado teor de triessaturados e triinsaturados, além do baixo teor de dissaturados em relação a esse tipo de gorduras. Por esse motivo, é necessário um processo de separação para concentrar a gordura em dissaturados. O fracionamento térmico por solvente o método escolhido para este objetivo no trabalho.

5.1.3 Consistência

A consistência da gordura também é modificada com a interesterificação química devido à diferença no ponto de fusão dos TAGs formados e a modificação na proporção dos mesmos. Além da proporção do sistema lipídico, o formato e a distribuição do tamanho de cristais também afetam a consistência da gordura em cada temperatura (O'BRIEN, 2004). Esse parâmetro representa a estruturação de um sistema lipídico e é importante para atributos de funcionalidade do alimento, como firmeza, espalhabilidade, resistência à deformação e moldagem (AWAD; MARANGONI, 2006).

Para avaliar a modificação da consistência da gordura interesterificada foram analisadas amostras antes e após a interesterificação segundo o método descrito por Haighton (1959) e calculado o *yield value* (gf/cm²). Este parâmetro é dividido em faixas de classificação conforme Tabela 2.3. A Figura 5.3 ilustra a modificação na consistência antes e após a interesterificação química por meio do *yield value* calculado pelos valores obtidos na análise de compressão da gordura à 40°C. Os resultados plotados são a média de triplicata.

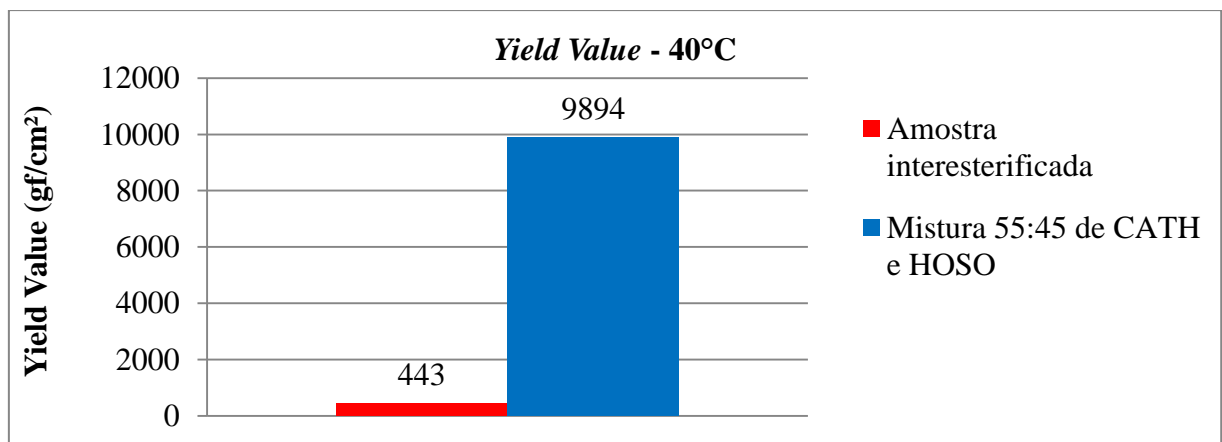


Figura 5.3 - Consistência a 40°C da mistura 55:45 de CATH: HOSO antes e após a interesterificação. Fonte: Da autora.

Observou-se uma modificação acentuada na consistência a 40°C das amostras antes e após a interesterificação química. Antes da reação a amostra apresentou *yield value* correspondente a uma gordura muito dura e após o tratamento, a consistência é de uma gordura plástica e espalhável.

Os valores obtidos apresentam são semelhantes aos valores obtidos por Oliveira (2016). Como a consistência depende da formação da estrutura cristalina durante a cristalização da gordura que é variável dependendo do polimorfo formado e da composição, a análises de microestrutura poderia mostrar a forma e distribuição dos cristais e a difração de raios-X o hábito polimórfico preferencial dos cristais. Essas propriedades mostram como é a estrutura cristalina da gordura, e quanto mais coesos os cristais estiverem, devido a afinidade química e morfológica dos polimorfos maior a dureza do ingrediente (AWAD; MARANGONI, 2006; HARTEL, 2001).

5.1.4 Comportamento térmico de fusão e de cristalização via DSC

A calorimetria diferencial de varredura (DSC) é uma técnica muito aplicada em estudos de comportamentos térmicos de cristalização e de fusão de óleos e gorduras (DANTHINE *et. al.*, 2014). Segundo Zhang *et.al.* (2011) esta técnica também pode ser utilizada para convalidar ou descrever características físico-químicas de gorduras interesterificadas. Os comportamentos térmicos de fusão podem indicar alterações no polimorfismo dos óleos e gorduras, que deve ser verificado por difração de raios-X (MISKIEWICZ; NEBESNY; KACZMAREK, 2013).

Os comportamentos térmicos resultantes da cristalização e da fusão da amostra interesterificada e de uma manteiga de cacau estão apresentados na Figura 5.4 e os parâmetros obtidos dessas curvas estão na Tabela 5.3. A sobreposição das curvas evidencia as diferenças no comportamento de fusão e cristalização proveniente da diferença de composição entre a manteiga de cacau e a gordura interesterificada. Nos perfis de cristalização e de fusão da amostra interesterificada foram identificados dois picos, dos quais o primeiro representa a fração lipídica saturada e de alto ponto de fusão, proveniente do CATH ou de TAGs que mantiveram a saturação após a reação. O segundo pico representa os demais componentes e não apresentou separação por diferenças nas temperaturas de cristalização entre TAGs dissaturados, monossaturados e triinsaturados. Os resultados são referentes à análise de uma amostra para cada Tc das frações.

Tabela 5.3 - Temperatura *onset* de cristalização e fusão (T_o), temperatura final de cristalização e fusão (T_{final}), temperatura do pico de cristalização e fusão (T_p), intensidade do pico de cristalização e fusão (I), e entalpia de cristalização e fusão (ΔH), para as misturas interesterificadas de HOSO e CATH e para a manteiga de cacau (MC).

FUSÃO								
Amostras	T_o (°C)	T final (°C)	T_p (°C)		I (W/g)		ΔH (J/g)	
			Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2
INTER	-22,11	69,45	22,27	51,89	0,23	0,19	51,39	41,85
MC	18,19	37,50	21,62		0,35		33,31	
CRISTALIZAÇÃO								
INTER	38,38	-26,06	36,92	14,66	0,42	0,34	19,04	44,28
MC	15,79	-38,43	11,03		0,56		48,47	

Fonte: Da autora.

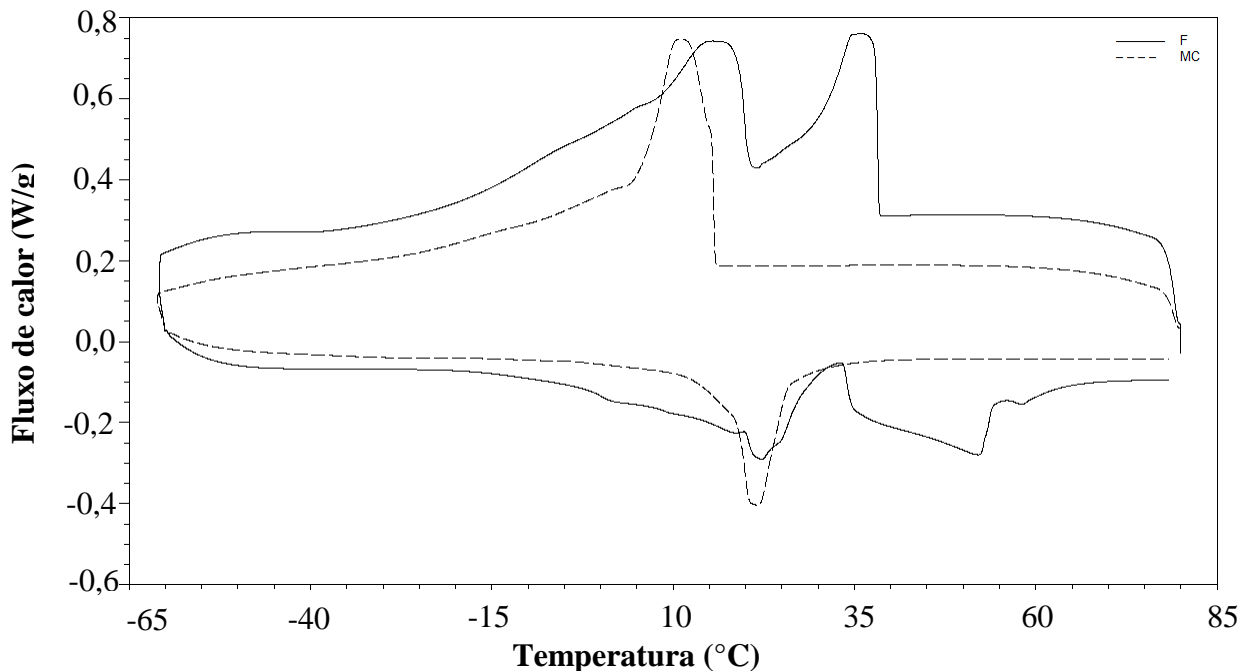


Figura 5.4 - Termograma de cristalização e de fusão da amostra interesterificada (F) e da manteiga de cacau (MC).

Fonte: Da autora.

Os parâmetros obtidos também são semelhantes aos obtidos por Oliveira (2016), confirmando a obtenção de uma gordura com características parecidas para o estudo do fracionamento térmico por solvente. A diferença em relação à pesquisa anterior consiste na identificação de um terceiro pico de cristalização correspondente aos TAGs insaturados remanescentes, que não foi evidenciado na análise do presente estudo.

5.1.5 Conteúdo de gordura sólida

As aplicações de produtos lipídicos na formulação de diversos alimentos pode ser avaliada pela análise da faixa do conteúdo de gordura sólida e das respectivas temperaturas de cristalização ou fusão. Desta forma, a fusão do lipídio entre 27 e 33 °C é desejável para aplicação como gorduras alternativas da manteiga de cacau devido a liberação do sabor e do frescor do produto durante a degustação. A fusão acima de 35 °C confere o residual ceroso e desagradável ao paladar. Valores de CGS medidos em temperaturas abaixo de 25°C indicam a dureza da gordura, e, entre 25 e 30°C caracterizam a estabilidade e a resistência à exsudação (TORBICA; JOVANOVIC; PAJIN, 2006).

Os perfis de CGS da mistura 55:45 de CATH e HOSO antes e após a interesterificação química são apresentados na Figura 5.5. A diferença na forma e nos valores das curvas mostra evidente a modificação no teor de sólidos da amostra e consequentemente na dureza devido à redução dos TAGs S_3 e o incremento na composição em S_2U , SU_2 (Figura 5.2). Os resultados plotados são a média de triplicatas.

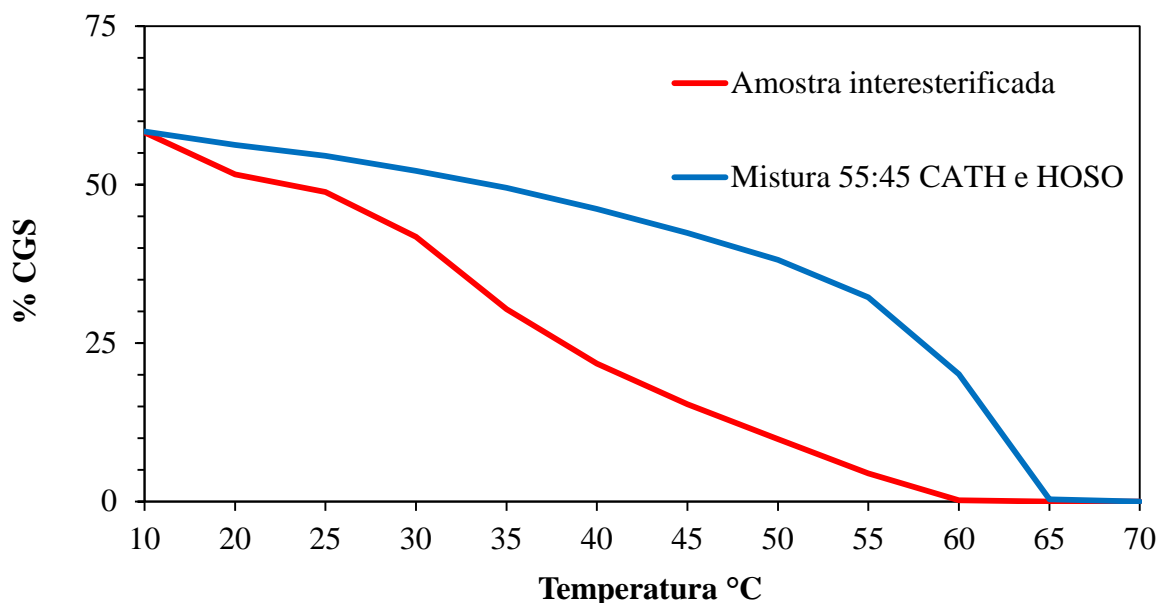


Figura 5.5 - Conteúdo de gordura sólida antes e após a interesterificação.
Fonte: Da autora.

Ambas as curvas correspondem a produtos lipídicos que se fundem em temperaturas muito acima da temperatura corporal, não sendo indicadas, portanto, para aplicação como alternativa de manteiga de cacau. Portanto, faz-se necessário o processo de fracionamento

para a retirada das frações de trissaturados, responsáveis pelo alto teor de sólidos em elevadas temperaturas. A amostra interesterificada é mais adequada para este processo, uma vez que contém menor teor de TAGs S_3 e maior de S_2U , cuja concentração é desejada.

5.1.6 Ponto de fusão

Como os óleos e gorduras são constituídos de uma ampla diversidade de TAGs com pontos de fusão diversos, a gordura funde-se em uma faixa determinada de temperatura. A temperatura de fusão nominal dentro dessa faixa de fusão é correspondente àquela na qual o teor de sólidos é de 4% segundo Karabulut, Turan e Ergin (2004).

A fusão da mistura lipídica 55:45 de CATH e HOSO, determinada a partir da curva de sólidos na temperatura correspondente a 4% de sólidos, ocorreu a $64,1^\circ\text{C}$. A temperatura de fusão da amostra interesterificada foi de $55,5^\circ\text{C}$. Esta variação é derivada da diferença de composição das triacilgliceróis.

A interesterificação reduziu a temperatura de fusão da mistura, devido à redução do percentual de TAGs S_3 , que tem elevado ponto de fusão ($\cong 65^\circ\text{C}$), e a formação de outros com ponto de fusão menor do tipo S_2U e SU_2 ($\cong 40^\circ\text{C}$). Oliveira (2016) observou a ocorrência do polimorfos β e do polimorfo β' antes e após a interesterificação, respectivamente, o que também promove o decréscimo da temperatura de fusão após a reação.

5.2 PRIMEIRO FRACIONAMENTO POR SOLVENTE

Como mencionado anteriormente, o fracionamento térmico com solvente é um método de separação de gorduras baseado na diferença das temperaturas de cristalização dos TAGs e de solubilidade dos cristais na fase líquida. Os produtos deste processo são uma fração oleína (baixo ponto de fusão) e uma fração estearina (alto ponto de fusão).

Sabendo que as gorduras equivalentes de manteiga de cacau são compostas em sua maior parte por TAGs dissaturados simétricos, deseja-se concentrar esses componentes e minimizar os demais. Para isso é necessário remover o máximo de TAGs S_3 , U_3 e SU_2 da blenda.

Logo, o objetivo do primeiro fracionamento térmico por solvente foi o de promover uma separação eficiente dos TAGs trissaturados remanescentes após a interesterificação da mistura 45:55 de HOSO e CATH.

5.2.1 Composição em TAGs: 1º fracionamento

Conforme mencionado no Item 4.32, os ensaios do 1º fracionamento com acetona foi realizado em 9 temperaturas de cristalização/filtração diferentes (de 12,0 a 36,0°C), obtendo-se frações oleína e estearina cuja composição em três conjuntos de triacilgliceróis está listada na Tabela 5.5. A maioria dos valores plotados representam a média de duplicatas, mas em algumas situações, sobretudo as frações a 25°C é a média das triplicatas. Destes os grupos de TAGs apresentados na Tabela 5.5 (dissaturados, trissaturados e StOSt), é desejável obter uma fração com maior concentração em dissaturados, sobretudo o StOSt e seus isômeros, e menor incidência de TAGs trissaturados. Os TAGs dissaturados também são constituintes da manteiga de cacau e de gorduras equivalentes a ela, e por isso são componentes desejáveis na obtenção da blenda. Dentre eles, o StOSt é associado à menor ocorrência do defeito *fat bloom* em chocolates e à maior resistência térmica e, portanto, é o principal TAG de gorduras melhoradoras da manteiga de cacau (CBIs) (JUUL, 2011). Os TAGs trissaturados conferem sensação de cerosidade durante a degustação e por isso é desejável a máxima redução destes compostos.

A Figura 5.6 ilustra o rendimento e a composição das frações oleína e estearina obtidos em cada temperatura de cristalização, representada pelas letras “o” e “e”, respectivamente, seguidas da temperatura correspondente do ensaio. A oleína obtida à temperatura de cristalização 25°C foi considerada a mais apta para o prosseguimento da pesquisa. Portanto, apenas as frações provenientes desta Tc foram analisadas em termos de ácidos graxos. O resultado da análise está apresentado na Tabela 5.8.

Tabela 5.5 - Composição por grupos de TAGs (e seus isômeros): trissaturados (deseja-se reduzir), dissaturados e StOSt (deseja-se concentrar).

Amostras	T(°C)	POP / PPO/ OPP /		PPSt / PStSt / StStSt	StOSt / StStO / OStSt	
		POST / PStO/ OStP /	StOSt StStO / OStSt			
Oleína	o12	12,0		33,12	6,84	19,18
	o14	14,0		28,99	1,85	17,99
	o16	16,0		33,23	1,67	23,10
	o18	18,0		34,14	1,56	25,21
	o20	20,0		39,54	1,69	28,00
	o22	22,0		44,01	2,12	34,99
	o25	25,0		47,76	1,38	38,38
	o28	28,0		45,05	1,95	36,29
	o36	36,0		45,60	4,30	36,74
Estearina	e12	12,0		42,91	26,27	34,85
	e14	14,0		41,39	21,43	33,60
	e16	16,0		36,12	30,15	28,72
	e18	18,0		39,13	18,51	31,81
	e20	20,0		28,32	17,00	21,47
	e22	22,0		24,05	59,50	19,51
	e25	25,0		23,64	59,01	19,54
	e28	28,0		33,02	37,95	27,28
	e36	36,0		17,71	67,72	14,79

Fonte: Da autora.

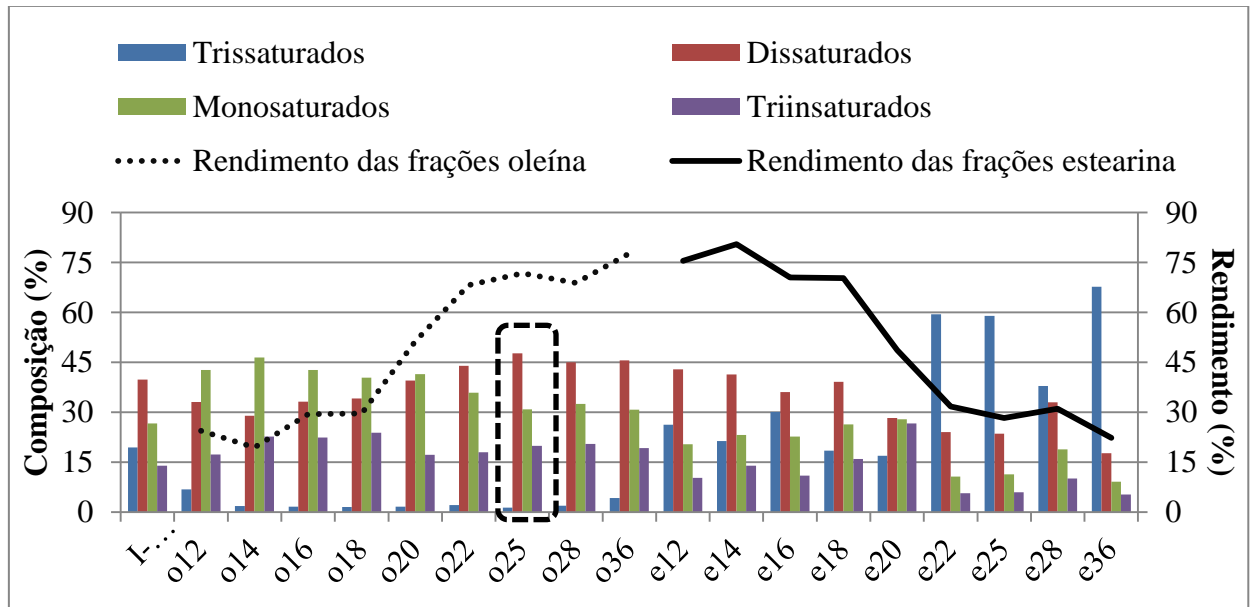


Figura 5.6 - Composição em classe de TAGs e rendimento das frações oleína (o) e estearina (e) do 1º fracionamento da amostra interesterificada (I-55:45).

Fonte: Da autora.

A análise de composição das frações estearina e oleína, associada ao rendimento correspondente evidencia que as oleínas provenientes dos fracionamentos nas temperaturas de cristalização 22, 25 e 28°C foram as que apresentaram menores teores de TAGs trissaturados e maiores concentrações de TAGs de StOSt/StStO/OStSt, além do POSt/PStO, que também é constituinte de CBEs e CBIs. Estas temperaturas apresentaram rendimento semelhante e superiores a 68% (Figura 5.6). Contudo, a oleína obtida a 25°C apresentou maiores teores de TAGs StOSt/POSt e seus isômeros, bem como menor residual em trissaturados (Tabela 5.5). Assim, esta oleína apresenta características mais promissoras para a obtenção de uma blenda com composição semelhante à da manteiga de cacau após o segundo fracionamento.

5.2.2 Comportamento térmico de cristalização via DSC: 1º fracionamento

Os parâmetros do comportamento térmico provenientes do termograma de cristalização das frações oleínas e estearinas do primeiro fracionamento estão apresentados na Tabela 5.6. Os perfis correspondentes estão sobrepostos na Figura 5.7 de forma a facilitar a comparação entre as amostras obtidas sob cada temperatura de cristalização. Em todos os fracionamentos os termogramas apresentaram dois picos nas frações estearina e apenas um pico nas oleínas.

Comparando o termograma de cristalização das frações com o da amostra interesterificada (Figura 5.4) e considerando a composição de ambos, fica evidente que a fração estearina retém a maior parte dos trissaturados de temperaturas de cristalização mais altas e que corresponde ao primeiro pico de cristalização. Nas frações oleína o primeiro pico é deslocado para a esquerda, não apresentando o pico correspondente a compostos com faixa de temperatura mais alta. A ocorrência de apenas um pico com ampla faixa de temperatura é característica de amostras não puras e que neste caso corresponde predominantemente aos TAGs dissaturados, monossaturados e triinsaturados. Os resultados são referentes à análise de uma amostra para cada temperatura de cristalização, T_c , das frações.

Tabela 5.6 - Temperatura *onset* de cristalização (T_o), temperatura final de cristalização (T_{final}), temperatura do pico de cristalização (T_p), intensidade do pico de cristalização (I), e entalpia de cristalização (ΔH), para as frações oriundas do primeiro fracionamento.

CRISTALIZAÇÃO									
Amostras	T_o (°C)	T_{final} (°C)	T_p (°C)		I (W/g)		ΔH (J/g)		
			Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	
ESTEARINA	e12	39,71	-21,02	38,76	16,53	0,61	0,40	25,13	42,14
	e14	40,19	-21,02	38,37	16,76	0,52	0,39	23,91	40,38
	e16	41,13	-20,45	40,70	16,83	0,77	0,30	28,24	37,60
	e18	39,63	-20,59	39,63	17,01	0,87	0,38	29,31	45,28
	e20	40,81	-21,88	40,81	14,30	0,74	0,28	35,16	34,32
	e22	43,83	-14,55	43,83	15,90	1,21	0,17	61,38	19,40
	e25	45,64	-16,28	43,50	11,88	1,25	0,12	60,50	15,35
	e28	44,63	-18,33	41,16	12,62	0,93	0,16	54,66	20,44
	e36	47,22	-14,55	43,27	12,34	1,19	0,09	71,10	11,18
OLEINA	o12	18,52	-38,27		10,19		0,30		53,03
	o14	17,63	-40,72		10,64		0,34		59,00
	o16	18,61	-43,88		12,29		0,36		59,24
	o18	19,29	-36,40		13,63		0,42		63,70
	o20	19,73	-38,99		13,82		0,41		59,09
	o22	21,65	-32,52		16,89		0,54		68,59
	o25	21,02	-33,82		16,11		0,44		60,74
	o28	20,93	-34,31		15,04		0,49		65,52
	o36	21,70	-34,39		16,38		0,50		68,97

Fonte: Da autora.

Ressalta-se que o comportamento térmico das estearinas e das oleínas são semelhantes entre si, sobretudo os correspondentes às temperaturas de cristalização 22, 25 e 28 °C, o que foi destacado em relação à composição. As mesmas também apresentam resultados similares aos obtidos por Oliveira (2016) no fracionamento a seco na temperatura de cristalização de 36°C.

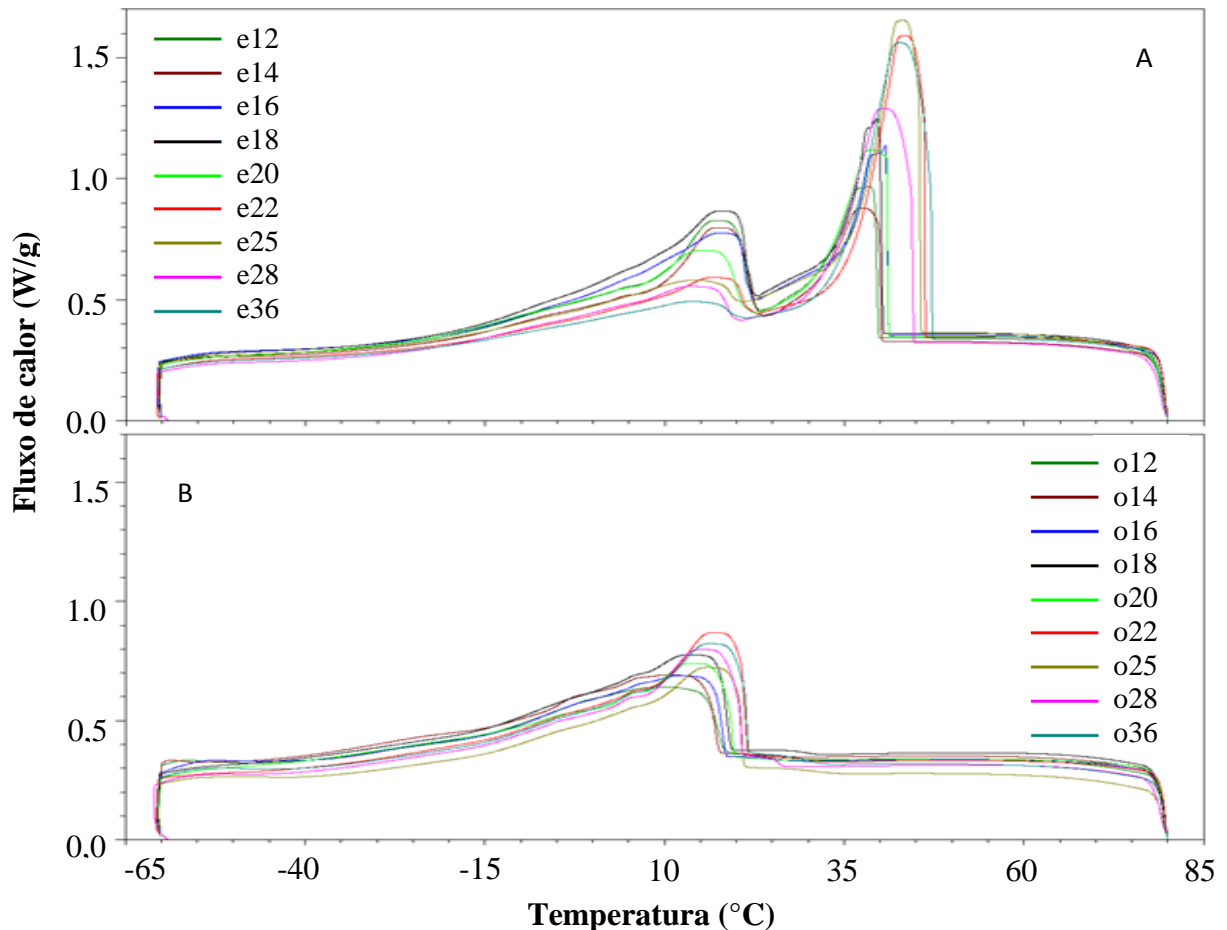


Figura 5.7 - Termograma de cristalização das frações obtidas no primeiro fracionamento. A: frações estearina. B: frações oleína.

Fonte: Da autora.

5.2.3 Conteúdo de gordura sólida (CGS): 1° fracionamento

As frações provenientes do primeiro fracionamento com acetona foram analisadas quanto ao perfil de sólidos pelo Método AOCS Cd 16b- 93: método direto I(AOCS,2009). A Figura 5.8 ilustra os perfis obtidos em função da temperatura de cristalização das frações estearina (A) e oleína (B).

Observa-se que as curvas correspondentes às frações estearina apresentaram elevado conteúdo de gordura sólida em quase todo o campo de temperaturas pesquisado, corroborando com os resultados de composição de TAGs e comportamento térmico de cristalização, sugerindo sua aplicação em formulações de alimentos que requeiram alta resistência térmica, mas não naqueles em que se espera o derretimento na boca, como chocolates. Nas frações oleína foi identificado o comportamento de fusão íngreme abaixo de 20 °C o que indica a baixa resistência térmica da gordura. No entanto, as oleínas obtidas a 22, 25 , 28 e 36 °C apresentaram perfis ligeiramente mais resistentes à temperatura em relação aos demais, o que

confirma o comportamento físico esperado devido à composição maior em TAGs S_2U . Na temperatura corporal, todas as oleínas estão líquidas e, portanto, não são aplicáveis em formulação de alimentos sólidos. Os resultados da análise são a média da triplicata.

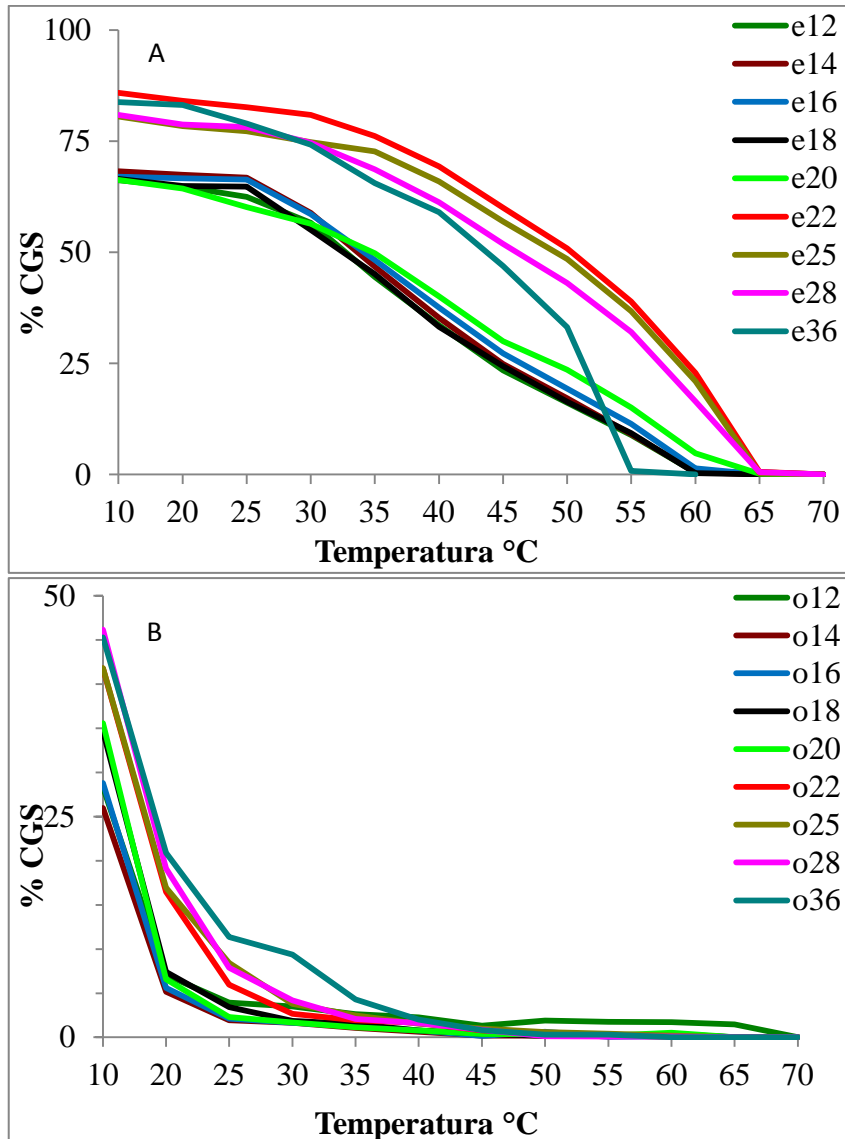


Figura 5.8 - Perfis de sólidos das frações do primeiro fracionamento. A: frações estearina. B: frações oleína.

Fonte: Da autora.

5.2.4 Ponto de fusão: 1º fracionamento

Como mencionado anteriormente, a temperatura de fusão efetiva da mistura lipídica corresponde ao CGS a 4% de sólidos. A partir desta premissa, as temperaturas de fusão das frações estearina e oleína foram calculadas e estão na Tabela 5.7.

Tabela 5.7 - Ponto de fusão das frações do primeiro fracionamento.

	Frações	Temperatura de fusão (°C)
Estearina	e12	57,9
	e14	58,0
	e16	58,7
	e18	58,0
	e20	60,9
	e22	64,2
	e25	64,1
	e28	63,9
	e36	64,5
Oleína	o12	24,9
	o14	21,8
	o16	22,3
	o18	24,3
	o20	23,0
	o22	28,0
	o25	29,8
	o28	30,5
	o36	35,6

Fonte: Da autora.

Os valores confirmam as diferenças nas resistências térmicas das frações, correspondente às suas composições. Observa-se também neste parâmetro a semelhança entre as frações dos fracionamentos a 22, 25 e 28°C.

5.2.5 Composição em ácidos graxos das frações obtidas a 25°C

Todas as determinações realizadas com as frações obtidas no 1º fracionamento indicam que as oleínas obtidas nas temperaturas de cristalização de 22, 25 e 28°C tem características adequadas para servir de base para a obtenção de uma CBI. O fracionamento a 25°C foi então selecionado para dar prosseguimento ao estudo.

As frações oriundas da temperatura de cristalização selecionada foram analisadas com relação ao teor de ácidos graxos e dos índices de saponificação e iodo. Os resultados estão apresentados na Tabela 5.8. Os resultados são a média de duas repetições.

Tabela 5.8 - Composição em ácidos graxos das frações obtidas a 25°C.

Composição em ácidos graxos (%)		
Número de carbonos	o25	e25
C12:0	0,0	0,1
C14:0	0,1	0,2
C16:0	4,4	5,5
C16:1	0,1	0,1
C17:0	0,2	0,2
C18:0	42,9	67,9
C18:1	44,2	20,6
C18:2	5,7	2,2
C18:3	0,2	0,2
C20:0	1,1	1,6
C20:1	0,2	0,1
C22:0	0,7	0,9
C24:0	0,3	0,5
Σ saturados	49,7	76,9
Σ insaturados	50,3	23,1
Índice de iodo	48,5	22,0
Índice de saponificação	210,9	210,5

Fonte: Da autora.

Observa-se que há predominância dos ácidos graxos saturados na estearina, responsáveis pelas propriedades físicas mencionadas. A fração oleína apresenta proporção simétrica de saturados/insaturados. O índice de iodo é mais alto para a fração oleína devido ao maior teor de ácidos graxos insaturados. O índice de saponificação manteve o valor semelhante ao da amostra interesterificada, uma vez que é o percentual de ácidos graxos com 18 carbonos manteve-se aproximadamente o mesmo nas duas frações.

5.3 SEGUNDO FRACIONAMENTO POR SOLVENTE

Os resultados obtidos no 1º fracionamento indicaram que a oleína obtida na Tc 25°C apresentou melhor separação de TAGs triinsaturados dos demais. Contudo, verificou-se elevados teores de triinsaturados e monossaturados, que reduzem a resistência térmica e aplicabilidade desta fração diretamente em alimentos. Tendo como princípio a composição da manteiga de cacau e gorduras equivalentes, a fração oleína obtida a 25°C foi fracionada novamente e o objetivo deste segundo fracionamento remover o máximo de TAGs U_3 e SU_2 da blenda para obter uma gordura equivalente de manteiga de cacau enriquecida em StOSt e seus isômeros.

5.3.1 Composição em ácidos graxos

As frações estearina e oleína obtidas no segundo fracionamento foram analisadas com relação à composição em ácidos graxos e a partir dela o índice de iodo e de saponificação foram calculados.

A Tabela 5.9 contém os valores obtidos nas análises de cromatografia e os resultados dos cálculos dos índices. As frações estearina e oleína foram denominadas como o25e e o25o, respectivamente, seguidas da temperatura de cristalização do segundo fracionamento. Os resultados da análise são a média da duplicata.

Tabela 5.9 - Composição em ácidos graxos das frações obtidas no segundo fracionamento.

Composição em ácidos graxos (%)						
Número de carbono	o25e8	o25o8	o25e10	o25o10	o25e12	o25o12
C12:0	0,1	0,1	0,2	0,1	0,0	0,1
C14:0	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
C16:0	4,6	4,4	4,9	4,4	4,3	4,4
C16:1	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1
C17:0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C18:0	47,3	34,2	52,4	35,9	57,6	39,0
C18:1	39,7	51,9	34,8	50,6	31,3	47,8
C18:2	4,8	7,2	4,1	6,8	3,2	6,3
C18:3	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C20:0	1,2	0,7	1,3	0,8	1,5	0,9
C20:1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2
C22:0	1,0	0,5	0,9	0,5	1,0	0,6
C24:0	0,4	0,2	0,6	0,3	0,5	0,3
Σ saturados	55,1	40,5	60,7	42,2	65,2	45,5
Σ insaturados	44,9	59,5	39,3	57,8	34,8	54,5
Índice de iodo	43,1	57,7	37,5	55,8	33,0	52,6
Índice de saponificação	210,7	211,3	210,6	211,2	210,3	211,1

Fonte: Da autora.

Observa-se que a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados nas frações estearina aumenta à medida que se aumenta a temperatura de cristalização do 2º fracionamento, sendo aproximadamente 2:1 na Tc 12°C. O índice de iodo foi mais alto nas frações estearina, devido ao incremento de ácidos graxos insaturados nestas, e o índice de saponificação manteve-se similar ao da amostra interesterificada por não haver alteração significativa na massa molar média.

5.3.2 Composição em TAGs: 2º fracionamento

A análise de composição em triacilgliceróis das frações correspondentes às temperaturas de cristalização do segundo fracionamento foi fundamental para a verificação da eficácia do processo. Os valores de composição dos TAGs presentes nas amostras estão na Tabela 5.10 e na Figura 5.9, apresentados por grupos de TAGs. O rendimento do processo é apresentado na Figura 5.9. Os resultados são referentes à análise de uma amostra para cada temperatura de cristalização, Tc, das frações.

Tabela 5.10 - Composição em triacilgliceróis das frações obtidas no segundo fracionamento.

Composição TAG (%)							
NOTAÇÃO	TAGs	o25e8	o25e10	o25e12	o25o8	o25o10	o25o12
C52:0	PStSt	1,8	2,6	4,2	0,2	0,0	0,0
C52:1	POSt/PStO	9,8	8,8	7,9	7,9	9,0	9,4
C52:2	POO	2,4	1,2	1,0	5,2	4,8	4,2
C52:3	POL	1,1	0,0	0,7	1,3	1,1	1,2
C54:0	StStSt	0,7	1,3	1,9	1,2	0,0	0,0
C54:1	StOSt/StStO/OSSt	47,9	63,1	66,1	17,9	23,1	29,7
C54:2	StOO	21,3	11,4	9,0	38,2	37,8	32,7
C54:3	OOO	9,5	8,2	7,0	14,8	12,9	12,2
C54:4	OOL	4,2	2,3	1,6	9,5	8,5	7,5
C54:5	OLL	1,2	1,0	1,8	3,7	2,8	2,5

Fonte: Da autora.

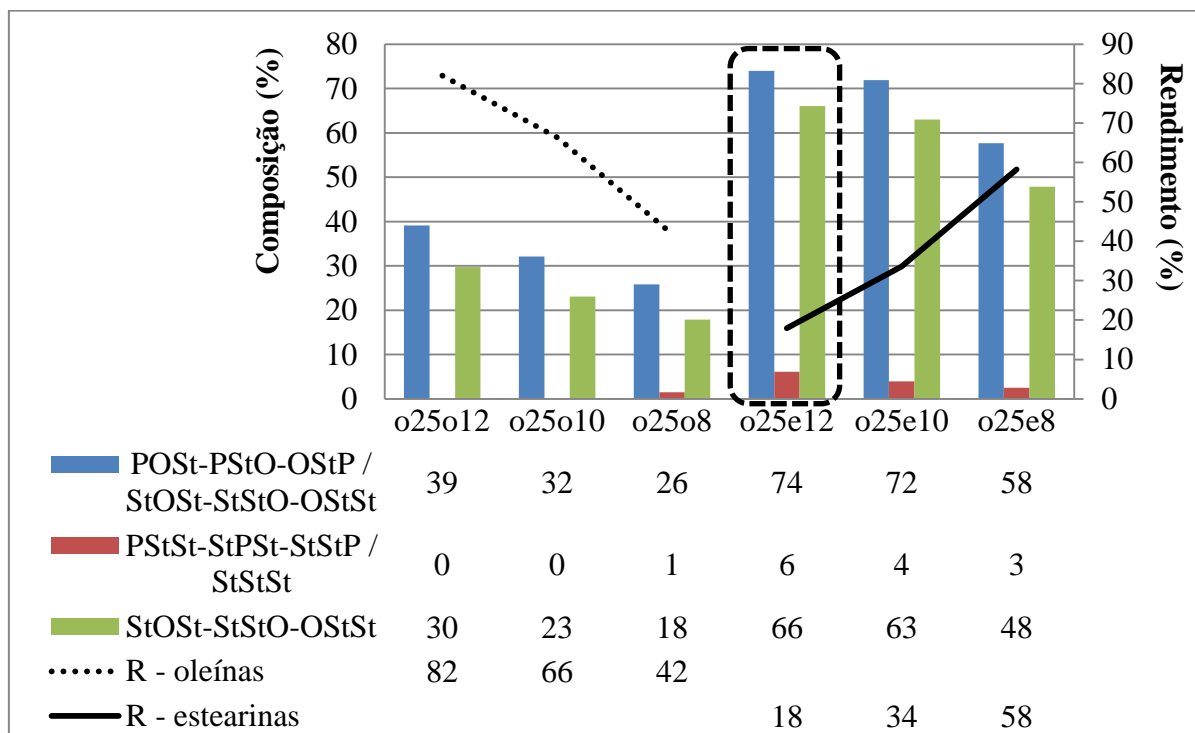


Figura 5.9 - Composição e rendimento das frações obtidas no segundo fracionamento.

Fonte: Da autora.

A estearina obtida no segundo fracionamento na temperatura de 12°C apresentou elevado teor de TAGs dissaturados dos tipos StOSt e POST, juntamente com seus isômeros de posição, apesar do rendimento ter sido baixo. Estes TAGs na forma simétrica são conhecidos por conferirem maior resistência ao *fat bloom* nos chocolates. A composição total de dissaturados se assemelha à manteiga de cacau (72%), no entanto, não foram identificados

TAGs POP na amostra interesterificada e conseqüentemente na gordura fracionada. A composição em StOSt e seus isômeros na manteiga de cacau e na estearina obtida a 12°C no segundo fracionamento é de 19% e 66%, respectivamente. De acordo com a composição em TAGs, a fração o25e12 é uma gordura semelhante à manteiga de cacau no que se refere aos tipos de TAGs presentes, mas é mais concentrada no triacilgliceról StOSt e seus isômeros. Gorduras com esta característica são chamadas de melhoradores da manteiga de cacau (*Cocoa Butter Improvers - CBI*) (JUUL, 2011; LIPP; ANKLAM; 1998). Este TAG atua melhorando a resistência térmica de manteigas macias, conferindo propriedades físicas adequadas para aplicação em alimentos. Esta fração apresentou um pequeno residual de StStSt ($\cong 6\%$).

O decréscimo do rendimento da fração estearina com o aumento da temperatura de cristalização pode estar associado à solubilidade dos componentes da matriz lipídica na acetona, que tende a ser maior à temperaturas mais altas. O rendimento global das frações o25e12, o25e10 e o25e8 foi de 12,87, 24,15 e 41,79%, respectivamente. O processo estudado por Oliveira (2016), com o 1º fracionamento a seco e apenas o segundo por solvente, apresentou rendimento global de aproximadamente 23%. A semelhança da fração o25e10 ocorre na composição e no rendimento global, confirmando que as duas vias de processamento resultam em produtos semelhantes.

As frações o25e10 e o25e8 também podem ser utilizadas como gorduras alternativas à manteiga de cacau, apesar de apresentarem menor concentração de TAGs dissaturados. É esperado que estas sejam menos resistentes termicamente e aplicáveis em manteigas não tão macias ou apenas para elevar a composição em StOSt, melhorando a resistência ao *fat bloom*.

Para fins de comercialização, o rendimento pode determinar quais gorduras alternativas seriam mais comerciais, uma vez que é preciso um balanço entre menor custo de produção e composição mais adequada para definir a de maior valor agregado.

5.3.3 Comportamento térmico de cristalização e fusão via DSC: 2º fracionamento

As frações estearina e oleína foram avaliadas em relação aos comportamentos térmicos de fusão e cristalização. As Tabelas 5.11 e 5.12 contêm os valores de temperatura, intensidade de picos e entalpia, obtidos nos termogramas de fusão e cristalização, respectivamente.

Observa-se que apenas a fração o25e12 apresentou 3 picos de fusão e, da mesma forma que a amostra o25e10, também foram obtidos 2 picos de cristalização. A presença de um pico a mais está relacionada à presença de compostos de maior faixa de fusão/cristalização, e associando à composição em TAGs e ao perfil da amostra

interesterificada pode-se concluir que nas amostras citadas estes picos de maiores temperaturas de fusão e cristalização correspondem ao residual de S_3 . Os resultados são referentes à análise de uma amostra para cada temperatura T_c das frações.

Tabela 5.11 - Temperatura *onset* de fusão (T_o), temperatura final de fusão (T_{final}), temperatura do pico de fusão (T_p), intensidade do pico de fusão (I), e entalpia de fusão (ΔH), para as frações oriundas do segundo fracionamento.

FUSÃO											
Amostras	T_o (°C)	T final (°C)	T_p (°C)			I (W/g)			ΔH (J/g)		
			Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 1	Pico 2	Pico 3	Pico 1	Pico 2	Pico 3
MC	18,19	37,50	21,62			0,35			33,31		
o25e12	26,16	78,32	31,08	40,23	59,81	0,17	0,57	0,04	22,34	30,45	3,34
o25e10	21,69	44,37	28,12			0,46			49,23		
o25e8	16,58	44,54	24,65			0,30			60,76		
o25o12	7,62	42,25	21,35			0,28			61,50		
o25o10	6,11	38,35	19,22			0,27			58,81		
o25o8	0,36	37,50	17,80			0,27			59,52		

Fonte: Da autora.

Tabela 5.12 - Temperatura *onset* de cristalização (T_o), temperatura final de cristalização (T_{final}), temperatura do pico de cristalização (T_p), intensidade do pico de cristalização (I), e entalpia de cristalização (ΔH), para as frações oriundas do segundo fracionamento.

CRISTALIZAÇÃO								
Amostras	T_o (°C)	T final (°C)	T_p (°C)		I (W/g)		ΔH (J/g)	
			Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2
MC	15,79	-38,43		11,03		0,56		48,47
o25e12	44,95	-18,43	43,5	23,38	0,30	1,06	10,36	68,86
o25e10	37,16	-20,39	34,82	21,80	0,09	0,82	3,08	57,75
o25e8	23,31	-27,61		17,32		0,61		68,18
o25o12	18,88	-42,30		13,90		0,42		66,69
o25o10	17,16	-47,88		11,98		0,38		66,14
o25o8	14,84	-41,35		17,8		0,28		48,43

Fonte: Da autora.

Em contrapartida, os picos de cristalização destas frações estão estreitos, uma característica de substâncias puras, o que indica que na fração cristalizada é relativamente puro.

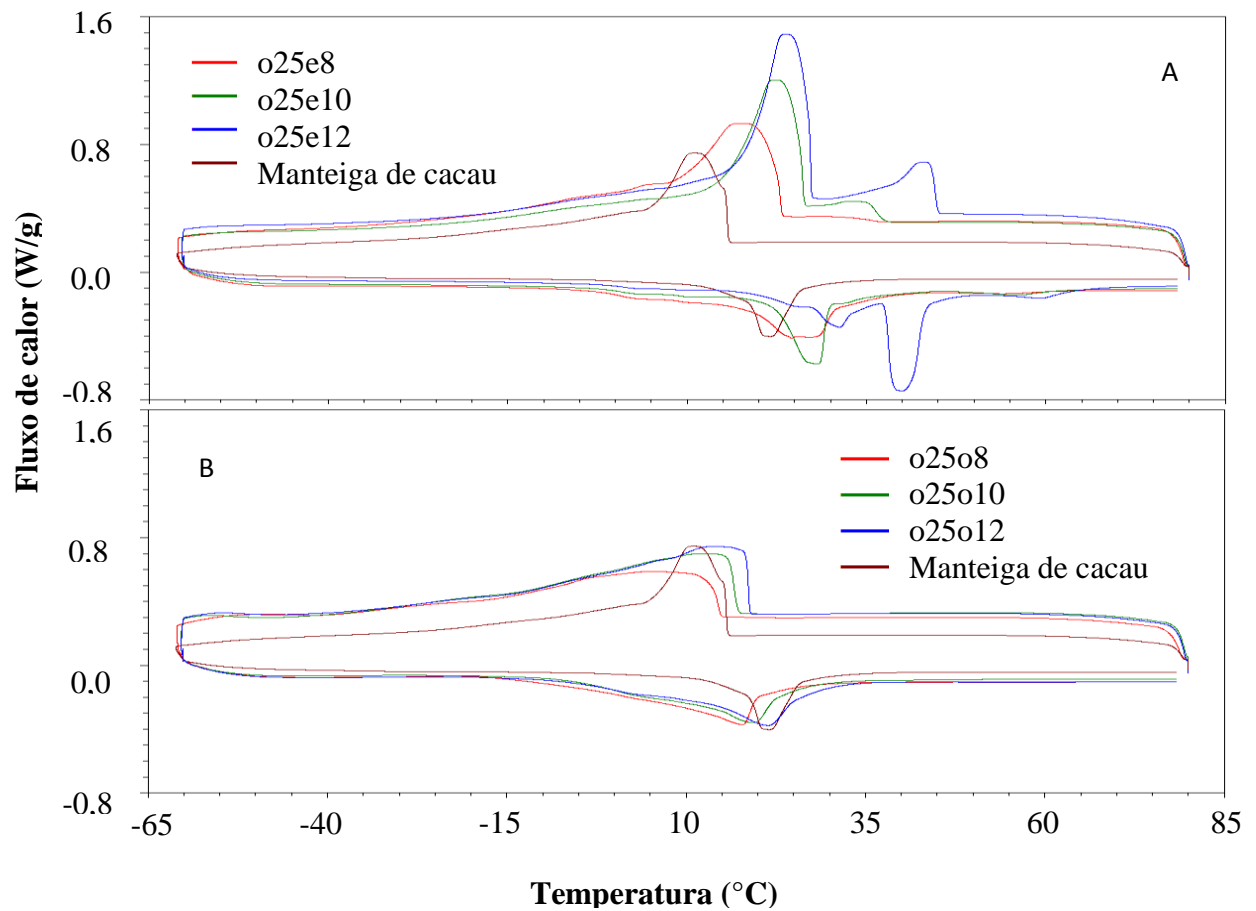


Figura 5.10 - Termograma de fusão e cristalização das frações obtidas no segundo fracionamento e da manteiga de cacau. A: frações estearina. B: frações oleina.

Fonte: Da autora.

5.3.4 Conteúdo de gordura sólida: 2º fracionamento

Os perfis de sólidos das amostras do segundo fracionamento foram determinados pelo Método direto II para gorduras especiais. A Figura 5.11 ilustra as curvas de sólidos das frações. Os resultados da análise são a média da triplicata.

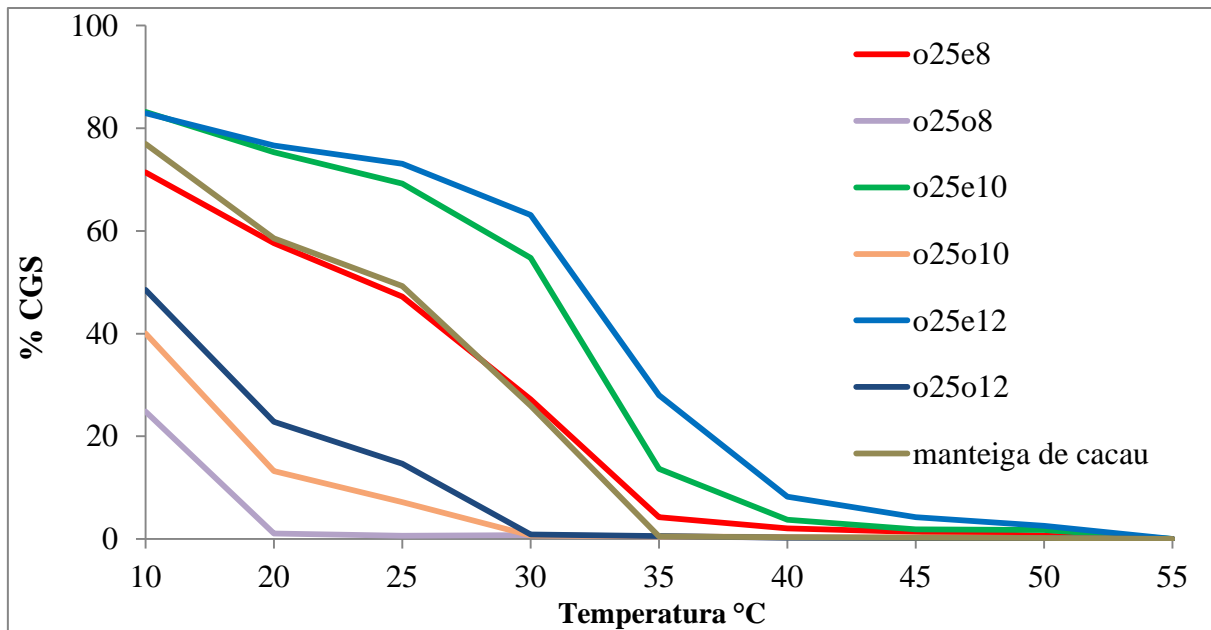


Figura 5.11 - Perfis de sólidos das frações fracionadas e da manteiga de cacau.

Fonte: Da autora.

O perfil correspondente à fração o25e8 é o que mais se assemelha ao da manteiga de cacau e é um pouco mais resistente que esta na temperatura de 35°C com teor de sólidos de 4,26%. Esta característica induz a pensar que a fração pode ser utilizada como uma gordura equivalente da manteiga de cacau (CBE). Comparando os perfis de sólidos da fração o25e8 e da manteiga de cacau e, associando com as suas composições em TAGs, verifica-se que a semelhança nos perfis pode ser resultante de um balanço das resistências térmicas dos TAGs presentes e suas proporções. Apesar da estearina o25e8 possuir teor de TAGs dissaturados menor que a manteiga de cacau, ela é mais concentrada em StOSt e seus isômeros, que possuem maior tamanho de cadeia em relação aos isômeros de POP e POST (Tabela 5.10), e, portanto, tendem a conferir maior teor de sólidos à gordura. Esta ainda pode ter minimizado o comportamento de TAGs monossaturados e triinsaturados remanescente.

As frações o25e10 e o25e12 apresentaram maior teor de sólidos do que a manteiga de cacau em todas as temperaturas avaliadas até a completa fusão das amostras. Contudo, observa-se que o acréscimo de apenas 2% de dissaturados e 2% de triinsaturados conferiu à fração o25e12 maior estabilidade até 25°C e maior resistência térmica em temperaturas acima de 40°C. Ambas as frações apresentam similaridade de CGS como uma CBI comercial ILLEXAO™ HS 85 (AAK, 2011) e com os resultados obtidos por Torbica *et.al.*(2016).

5.3.5 Ponto de fusão

O ponto de fusão da mistura lipídica mais uma vez foi determinado pela curva de sólidos, na temperatura correspondente a 4% de sólidos. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 5.13.

Tabela 5.13 - Ponto de fusão das frações do segundo fracionamento.

GORDURAS	PONTO DE FUSÃO (°C)
manteiga de cacau	34,32
o25e8	35,52
o25e10	39,44
o25e12	45,78
o25o8	18,77
o25o10	27,46
o25o12	28,86

Fonte: Da autora.

A manteiga de cacau e a fração o25e8 se fundem em temperaturas próximas à corporal, podendo ser aplicada em alimentos sólidos e conferir boa palatabilidade na degustação. As frações o25e10 e o25e12 se fundem em temperaturas acima da corporal, conferindo sensação de cerosidade se for aplicada pura. Por isso, estas gorduras devem ser utilizadas na formulação de blendas lipídicas, conferindo resistência térmica e adequando gorduras para aplicação em alimentos.

6 CONCLUSÕES

A interesterificação química seguida do fracionamento em duplo estágio com acetona permitiu obter gorduras equivalentes da manteiga de cacau, enriquecidas com o triacilgliceról StOSt/StStO/OStSt conhecido por inibir o *fat bloom* em chocolates. Estas gorduras são propensas a serem compatíveis com a manteiga de cacau por possuírem em sua maioria as mesmas classes de TAGs.

Essa pesquisa indica que realizando a esterificação química de uma mistura contendo 45% de óleo de girassol alto oleico e 55% de óleo de canola totalmente hidrogenado obtém-se um produto intermediário que após dois sucessivos fracionamentos com solvente (acetona) geram uma CBI. Para realizar os processos de fracionamento sugere-se que o 1º fracionamento seja realizado a 25°C e a oleína obtida deve ser submetida a um 2º fracionamento a 12°C, para obter uma estearina rica em StOSt/OStSt/StStO.

Adicionalmente, o mesmo processo pode ser utilizado para a obtenção de uma CBE. Os resultados desta pesquisa indicam que modificando a temperatura do 2º fracionamento para 8°C pode-se obter uma gordura com comportamento térmico semelhante ao da manteiga de cacau.

As características físico-químicas das frações estearina obtidas no segundo estágio do fracionamento fornecem informações técnicas que nos permitem elaborar formulações de blendas lipídicas para aplicação em alimentos sólidos, sobretudo em chocolates.

Considerando a composição em triacilgliceróis e o rendimento do processo, nota-se que a estearina obtida a 10°C é a que apresenta maior semelhança com a blenda produzida por Oliveira (2016) com o primeiro fracionamento a seco e o segundo por solvente. A principal vantagem do fracionamento por solvente em relação ao seco é a redução do tempo necessário para o processo. Contudo, é necessário maior cautela devido aos riscos inerentes às operações com solvente e à eficiência da dessolventização.

REFERÊNCIAS

- AAK. Cocoa butter alternatives from AAK – the natural choice for your chocolate business. 2011. Disponível em: <www.aak.com>. Acesso em: 30 nov. 2016.
- AFOAKWA, E.O. et al. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. **Food Research International**, v.41, p.751-757, 2008.
- AGUILERA J.M.; MICHEL, M.; MAYOR, G. Fat migration in chocolate: diffusion or capillary flow in particulate solid a hypothesis paper. **Journal of Food Science**, v.69, n.7, p.167-174, 2004.
- ALANDER, J. et al. **Handbook of vegetable oils and fats**. 2. ed. Suécia: AAK Aarhus Karlshamn, 2007.
- ANTONIOSI FILHO, N.R.; MENDES, O.L; LANÇAS, F.M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. **Chromatographia**, v.40, p.557-562, 1995.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 359, de 23 de dezembro de 2003**, Brasília. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 3 jul. 2015 (a).
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003**, Brasília. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 3 abr. 2016 (b).
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução RDC nº264, de 22 de setembro de 2005**, Brasília. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 3 abr. 2016 (c).
- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY (AOCS). **Official methods and recommended practices of the american oil chemists' society**. 5. Ed. Washington: Champaign, 2009.
- ARISHIMA, T. et al. Density measurement of the polymorphic forms of POP, POS and SOS. **Journal of Japan Oil Chemists' Society**, v.44, n.6, p.431-437, 1995.
- ARISHIMA, T. et al. Polymorphism of POS I. Occurrence and polymorphic. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 68, p. 710–715, 1991.
- ARISHIMA, T.; SATO, K. Polymorphism of POP and SOS III. solvent crystallization of β_2 and β_1 polymorphs. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, p. 1614–1617, 1989.
- AWAD, T. S.; MARANGONI, A. G. Ingredient interactions affecting texture and microstructure of confectionery chocolate. In: GAONKAR A.G.; MCPHERSON, A. **Ingredient Interaction: Effects and Quality**. New York: CRC Press of Taylor & Francis Group, 2006, cap. 13, p. 423-476.

BASTIDA-RODRÍGUEZ, J. The food additive polyglycerol polyricinoleate (E-476): structure, applications, and production methods. **ISRN Chemical Engineering**, v.13, p.1-21, 2013.

BECKETT, S. T. **The science of chocolate**. 4. ed. London: Royal Society of Chemistry Paperbacks, 2000.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Coffee, tea, cocoa. In: BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. **Food Chemistry**. Germany: Springer Science & Business Media, 2009. cap. 21, p.938-970.

BRICKNELL, J.; HARTEL, R.W. Relation of *fat bloom* in chocolate to polymorphic transition of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.75, n.11, 1998.

BRIONES, V.; AGUILERA, J.M. Image analysis of changes in surface color of chocolate. **Food Research International**, v.38, p.87-94, 2005.

CALLIAUW, G. et al. Phase composition during palm olein fractionation and its effect on soft PMF and superolein quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 885-891, 2007.

CEBULA, D.J.; ZIEGLER, G. Studies of bloom formation using X-ray diffraction from chocolates after long-term storage. **Fat Science Technology**, v.9, p.340-343, 1993.

CHAPMAN D., Infrared spectra and the polymorphism of glycerides. **Journal of the Chemical Society**; 55 - 60, 1957.

CURI, R. et al. **Entendendo a gordura - os ácidos graxos**, Barueri: Manole Ltda., 2002.

DANTHINE, S. et al. Monitoring batch lipase catalyzed interesterification of palm oil and fractions by differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2219-2229, 2014.

DEMAN, J. M. Consistency of fats: a review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.60, n.1, p.82-87, 1983.

DORSA, R. **Tecnologia de óleos vegetais**. Campinas: Ideal, 2004.

DUIJN, G. V.; DUMELIN, E. E.; TRAUTWEIN, E. A. Virtually *trans* free oils and modified fats. In: WILLIAMS, C.; BUTTRISS, J. **Improving the Fat Content of Foods**. Boca Raton, Boston, New York, Washington DC: Woodhead Publishing Limited and CRC Press LLC, 2006. cap. 21, p. 490-506.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L., A. G.; ANDO, M. Y. Otimização da reação de interesterificação química do óleo de palma. **Química Nova**, v. 28, n. 4, p. 633-636, 2005.

GUPTA, M. K. **Practical guide to vegetable oil processing**. Urbana, Illinois: AOCS Press, 2008.

- HAIGHTON, A. J. The measurement of the hardness of margarine and fats with cone penetrometers. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.36, n.8, p.345-348, 1959.
- HARTEL, R. W. **Crystallization in foods**. Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 2001.
- HARTEL, R.W.; METIN, S. Crystallization of fats and oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fats Products**. Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience, 2005. cap. 2, p.45-76.
- HARTMAN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-476, 1973.
- HASHIMOTO, S. et al. Preparation of sharp-melting hard palm midfraction and its use as hard butter in chocolate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 5, p. 455-460, 2001.
- HIMAWAN, C.; STAROV, V.M.; STAPLEY, A.G.F. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.122, n(1-3), p.3-33, 2006.
- HODGE, S.M.; ROUSSEAU, D. Fat bloom formation and characterization in milk chocolate observed by atomic force microscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 11, p.1115–1121, 2002.
- HUNTER, J. E., Dietary *trans* fatty acids: review of recent human studies and food industry responses. **Lipids** 2006, 41, 967–992.
- ILLINGWORTH, D. Fractionation of fats. In: MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. **Physical Properties of Lipids**. New York, NY: Marcel Dekker, Inc, 2002. cap. 11, p. 411-477.
- JAHURUL, M.H.A. et al. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. **Journal of Food Engineering**, v.117, p.467–476, 2013.
- JUUL, B. Cocoa butter improves heat stability in chocolate products – create new possibilities with ILLEXAOTM HS. 2011. Disponível em: <www.aak.com>. Acesso em: 08 nov. 2016.
- KARABULUT, I. TURAN, S. & ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, v. 218, no. 3, pp. 224-229, 2004.
- KELLENS, M. et al. Palm oil fractionation. **Euro Journal Science Technology**, v.109, p. 336-349, 2007.
- LIPP, M.; ANKLAM, E. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate - part A. compositional data. **Food Chemistry**. Oxford. v. 62, n. 1, p. 73-97, 1998.
- LOISEL, C. et al. Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 75 (4): 425 – 439, 1998.

LONCHAMPT, P.; HARTEL, R.W. Fat bloom in chocolate and compound coatings. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.106, p.241–274, 2004.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolates**. 2001. 195f. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.

MAMAT, H. et al. Physicochemical characteristics of palm oil and sunflower oil blends fractionated at different temperatures. **Food Chemistry**, v.91, p. 731-736, 2005.

MARANGONI, A. G. Crystallization kinetics. In: MARANGONI, A. G. **Fat Crystal Networks**. New York: Marcel Dekker, 2005. cap. 2, p. 21-82.

MARANGONI, A.G.; WESDORP, L.H. Crystallography and polymorphism. In: MARANGONI, A.G.; WESDORP, L.H. **Structure and Properties of Fat Crystal Networks**. Boca Raton: CRC Press, 2013. cap. 1 , p. 1-28.

MARTINI, S., AWAD, T., MARANGONI, A. G., Structure and properties of fat crystals networks. In: GUNSTONE, F. D. **Modifying Lipids for use in Foods**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006. cap. 8, p.142-170.

MCGAULEY, S. E.; MARANGONI, A. G. Static crystallization behavior of cocoa butter and its relationship to network microstructure. In: MARANGONI, A. G.; NARINE, S. S. **Physical Properties of Lipids**. Boca Raton: CRC Press, 2002. cap. 4, p.85-123.

MISKIEWICZ K., NEBESNY E., & KACZMAREK J. R. Changes of polymorphism of lipid fractions of shortcrust pastries during storage: studies with the use of thermal analysis (DSC). **Journal Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 113, p. 301-310, 2013.

MING, H.L.M. Specialty fats – how food manufacturers can get more out of them. **Lipid Technology**, v. 20, n. 2, p.35-39, 2008.

MIQUEL, M. E. et al. Kinetics of the migration of lipids in composite chocolate measured by magnetic resonance imaging. **Food Research International**, 34: 773 – 781, 2001.

NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Microstructure. In: MARANGONI, A.G. **Fat Crystal Networks**. New York: Marcel Dekker, 2005. cap. 7, p. 179-254.

NORBERG, S. Chocolate and confectionary fats. In: GUNSTONE, F. D. **Modifying Lipids for use in Food**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006. cap. 20, p. 488-514.

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: formulating and processing for applications**. 2 Ed., Boca Raton, New York: CRC Press LLC, 2004.

O'BRIEN, R. D. **Fats and oils: formulating and processing for applications**. 3 Ed., Boca Raton, Florida: CRC Press, 2009.

OLIVEIRA, G. M. **Obtenção e caracterização de bases lipídicas destinadas à estabilização do polimorfismo de lipídios com ênfase na manteiga de cacau**. 2016. 163f.

Tese de doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

PANTZARIS, T. P.; BASIRON, Y. The lauric (coconut and palm kernel) oils. In: GUNSTONE, F. D. **Vegetable Oils in Food Technology Composition, Properties and Uses**. Oxford: Blackwell Publishing Ltd., 2002. cap. 6, p. 157-201.

QUAST, L.B. et al. Evaluation of thermal properties of cocoa butter and alternative fats. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 5, p. 387- 397, 2011.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Effect of chemical interesterification on physicochemical properties and industrial applications of canola oil and fully hydrogenated cottonseed oil blends. **Journal of Food Lipids**, v. 16, p. 362- 381, 2009.

RIBEIRO, A. P. B. et al. Physico-chemical properties of brazilian cocoa butter and industrial blends. Part I - Chemical composition, solid fat content and consistency. **Grasas y Aceites**, 63 (1): 79 – 88, 2012.

RODRIGUES, J. N.; GIOIELLI, L. A.; ANTON, C. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v.23, n.2, p.226-233, 2003.

ROUSSEAU, D.; MARANGONI, A. G. The effects of interesterification on the properties of fats. In: MARANGONI, A. G.; NARINE, S. S. **Physical Properties of Lipids**. New York: Marcel Dekker, 2002. cap.13, p. 503-589.

ROUSSEAU, D.; SONWAI, S. Controlling fat bloom formation in chocolate - impact of milk fat on microstructure and fat phase crystallization. **Food Chemistry**, v.119, p.286-297, 2010.

ROZENDAAL, A.; MACRAE, A. R. Interesterification of oils and fats. In: GUNSTONE, F. G.; PADLEY, F. B. **Lipid Technologies and Applications**. New York: Marcel Dekker. 1997. cap. 9, p. 223- 264.

SATO, K. Crystallization behavior of fats and lipids - a review. **Chemical Engineering Science**, v. 56, p. 2255-2265, 2001.

SATO, K.; UENO, S. Physical properties of fats in food. In: RAJAH, K. K. **Fats in Food Technology**, Cirencester, Gloucestershire, UK: John Wiley & Sons, Ltd., 2001. cap. 1, p. 2-38.

SCHENCK, H.; PESCHAR, R. Understanding the structure of chocolate. **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, p.829-835, 2004.

SEGUINE, E.S. Tempering the inside story. **The Manufacturing Confectioner**, v.71, n.5, p.117-125, 1991.

SENANAYAKE, S. P. J. N.; SHAHIDI, F. Modification of fats and oils via chemical and enzymatic methods. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. New York: Wiley & Sons, 2005. cap. 17, p. 555-584.

SHUKLA, V. K. S., Cocoa butter, cocoa butter equivalents and cocoa butter substitutes. In: AKOH C. C. **Handbook of Functional Lipids**. Boca Raton: Taylor and Francis, 2006. cap. 12, p. 279-310.

SMITH, K.W. Cocoa butter and cocoa butter equivalents. In: GUNSTONE, F.D. **Structured and Modified Lipids**. New York: Marcel Dekker, 2001. cap. 14, p.401-422.

SPANGENBERG, J.E.; DIONISI, F. Characterization of cocoa butter and cocoa butter equivalents by bulk and molecular carbon isotope analyses: implications for vegetable fat quantification in chocolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4271-4277, 2001.

STAPLEY, A.G.F; HIMAVAN, C.; STAROV, V.M. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.122, p. 3-33, 2006.

TALBOT, G., Chocolate temper. In: BECKETT, S. T. **Industrial Chocolate: Manufacture and Use**. Blackwell Science: Oxford, 1999. cap. 12, p. 261-275.

TIMMS, R. E. **Confectionery fats handbooks: properties, production and application**. England: The Oil Press, v.14, 2003.

TIMMS, R. E. Fractionation. In: GUNSTONE, F. D.; PADLEY, F. B. **Lipid Technologies and Applications**. New York: Marcel Dekker, Inc, cap. 8, p. 199-222, 1997.

TIMMS, R. E. Phase behavior of fats and their mixtures. **Progress in Lipid Research**, v. 23, p. 1-38, 1984.

TORBICA, A.; JOVANOVIĆ, O.; PAJIN, B. The advantages of solid fat content determination in cocoa butter and cocoa butter equivalents by the Karlshamns method. **European Food Research Technology**, v. 222, p. 385-391, 2006.

TORBICA, A. et al. Solid fat content, pre-crystallization conditions and sensory quality of chocolate with addition of cocoa butter analogues. **International Journal of Food Properties**, 19:5, 1029-1043, 2016.

ULRICH, J.; SZEPES, A.; CHALEEPA, K. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.163, p.390-396, 2010.

WANG, F. et al. Blooming in cocoa butter substitutes based compound chocolate: investigations on composition, morphology and melting behavior. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.87, p.1137-1143, 2010.

WILLIAMS, S.D.; RANSOM-PAINTER, K.L.; HARTEL, R.W. Mixtures of palm kernel oil with cocoa butter and milk fat in compound coatings. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 4, p.357-366, 1997.

WILSON, E. Chocolate: the 5% option...what if? **The Manufacturing Confectioner**, v.11, p.47-51, 1999.

YANO, J. et al. FT-IR Study of polymorphic transformations in SOS, POP, and POS. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 97, p. 12967-12973, 1993.

XU, X. et al. Chemical and enzymatic interesterification of lipids for use in food. In: GUNSTONE, F. D. **Modifying Lipids for Use in Food**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2006. cap. 11, p. 234-272.

ZALIHA, O. et al. Crystallization properties of palm oil by dry fractionation. **Food Chemistry**, v.86, p. 245-250, 2004.

ZHANG, L. et al. Crystallization of fully hydrogenated and interesterified fat and vegetable oil. **Journal of Oil Science**, v.60, p. 287-292, 2011.