



CAMILIA AOYAGUI DOS SANTOS

**“ESTUDO DO EFEITO DA COMPOSIÇÃO DOS
ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS DE SORBITANAS
COMERCIAIS NA CRISTALIZAÇÃO DE ÓLEO DE
PALMA REFINADO”**

**CAMPINAS
2013**



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CAMILIA AOYAGUI DOS SANTOS

**“ESTUDO DO EFEITO DA COMPOSIÇÃO DOS ÉSTERES
DE ÁCIDOS GRAXOS DE SORBITANAS COMERCIAIS NA
CRISTALIZAÇÃO DE ÓLEO DE PALMA REFINADO”**

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

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós Graduação em
Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do título de Mestra em Tecnologia de Alimentos.

**ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELA ALUNA CAMILIA AOYAGUI DOS SANTOS
E ORIENTADA PELO PROF. DR. CHIU CHIH MING**

Assinatura do Orientador

CAMPINAS

2013

FICHA CATALOGRÁFICA

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
MÁRCIA REGINA GARBELINI SEVILLANO – CRB8/3647- BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS – UNICAMP

Santos, Camilia Aoyagui.
Sa59e Estudo do efeito da composição dos ésteres de
ácidos graxos de sorbitanas comerciais na cristalização de
óleo de palma refinado / Camilia Aoyagui dos Santos --
Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Chiu Chih Ming.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de
Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Óleo de palma. 2. Cristalização. 3. Ésteres de
sorbitana. 4. Emulsificantes. I. Chiu, Chih Ming.
II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Study of the effect of the commercial sorbitan fatty acid
esters composition on crystallization of refined palm oil

Palavras-chave em inglês:

Palm oil
Crystallization
Sorbitan esters
Emulsifiers

Área de concentração: Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestra em Tecnologia de Alimentos

Banca examinadora:

Chiu Chih Ming [Orientador]
Luis Antonio Gioielli
Juliana Neves Rodrigues Ract

Data da defesa: 15-03-2013

Programa de Pós Graduação: Tecnologia de Alimentos

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Chiu Chih Ming
(Orientador)

Profa. Dra. Juliana Neves Rodrigues Ract
(Membro Titular)
USP

Prof. Dr. Luiz Antonio Gioielli
(Membro Titular)
USP

Profa. Dra. Ana Paula Badan Ribeiro
(Membro Suplente)
UNICAMP

Profa. Dra. Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
(Membro Suplente)
UNICAMP

DEDICATÓRIA

Dedico ao Amor puro
que na sua simplicidade
dá sem esperar nada em troca...

AGRADECIMENTOS

Aos meus queridos Irmãos da Luz e ao meu Mentor Espiritual que sempre com as palavras mais meigas e cheias de ternura me aconselharam com toda a dedicação de irmãos enobrecidos e, que me deram o melhor dos conselhos, um tanto “sabido”, mas que só agora me dei conta do poder que ela tem sobre as nossas vidas: de seguir a nossa intuição.

À minha família tão forte e tão batalhadora que me cultivou o amor, a nobreza do caráter, a resignação e a força para tornar tudo possível através do nosso esforço e da batalha no caminho do Bem Maior.

Em especial ao meu pai Altamiro, que desde criança me fortaleceu a determinação e a coragem para seguir lutando na vida e conquistar os meus sonhos, mesmo que muitos no meu caminho me persuadissem a desistir, ou tentassem me desanimar. Agradeço e muito, pai, por ter me aberto os olhos, a mente e o coração para o mundo espiritual e por hoje eu me sentir completa finalmente como irmã servidora do nosso pai eterno.

À minha ex-orientadora de iniciação científica, Profa. Dra. Anete, que me semeou o espírito da pesquisa desde muito cedo, me incentivando a criatividade, a autonomia, a segurança para percorrer caminhos tão desconhecidos e tão intrigantes. Se hoje estou de volta à pesquisa é porque a sua semente gerou um lindo fruto dentro de mim.

Ao Prof. Dr. Chiu, meu orientador, pela oportunidade de ter desenvolvido este projeto e pela autonomia com que me permitiu me aventurar nos mais diversos caminhos por esta pesquisa. Que oportunidade rica esta de conhecer uma pessoa tão evoluída, com um coração tão grande, sempre pronto a compartilhar o seu conhecimento pensando no Bem de todos. Obrigada!

À Profa. Dra. Lireny por ter me respondido tão prontamente ao meu email quando decidi voltar para a Pós-Graduação e por ter me recebido com os braços abertos. Obrigada, professora, por te me dado a oportunidade de voltar para a Unicamp e por ter confiado em mim!

Aos meus ex-funcionários queridos Valmir, Luciana, Raquel, Maria, Eder e Fernando, pela lição de vida que me passaram lutando com poucos recursos para mostrar uma vida digna e simples que, com tanta garra e alegria, me mostraram o quanto somos fortes para vencer na vida. Foram com certeza os melhores exemplos que eu tive e nos quais eu me espelho.

À amizade forte e duradoura que possuo com vocês, Dilaine, Antônio e Marcelo, que mesmo separados pela distância ou pela vida corrida sempre nos fortalecemos quando nos encontramos.

À Marília querida que apareceu como um anjinho na minha vida nos momentos mais sofridos e com quem pude reviver um laço forte de “outros tempos”. Tenho certeza de que uma foi para a outra, nesta fase das nossas vidas, pilares para o retorno do equilíbrio e da mudança no modo de enxergar e conduzir a vida.

À Profa. Dra. Paulinha, um grande exemplo que tenho para seguir no mundo acadêmico, tamanha admiração, tanto pela pessoa de luz que você é como pela integridade e profissionalismo.

Aos amigos, Marcos, Kamila, Eriksen, Júlio, Luciana e Chiu pelas conversas mais filosóficas, instruídas e fortalecedoras do nosso propósito maior.

Aos companheiros de laboratório, Alaíde, Aliciane, Maria Cristina, Marilene, Híria, Ingrid, Gustavo e Gabriel pelos momentos de descontração e aprendizados.

À família que construí no novo lar em Campinas: Elizete, Eider, Kamila, Eriksen, Guilherme.

Ao Dr. Renato, às técnicas e às estagiárias do laboratório de óleos e gorduras pela ajuda nas análises, em especial à Letícia que sempre foi tão atenciosa e dedicada ao trabalho.

À Dra. Rosana e à Dra. Heliara pela rica troca de conhecimentos e pela disponibilidade de uso dos equipamentos do laboratório Thompson (IQ/UNICAMP).

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento dos meus estudos em Campinas e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da infraestrutura dos laboratórios de óleos e gorduras e do Chocolab.

À UNICAMP por ter sido uma mãe para mim e por ter me alimentado tantos sonhos e conquistas.

RESUMO GERAL

O óleo de palma possui lenta cristalização devido à alta energia livre de ativação de nucleação, atribuída às interações intermoleculares entre a estearina e a oleína e à presença dos diacilgliceróis. Aditivos podem ser adicionados ao óleo de palma na tentativa de modificar o seu comportamento de cristalização, adequando o seu uso aos processos industriais. Dentre esses aditivos se destacam os emulsificantes, que diferentemente da sua função usual, podem ser utilizados para alterar a estrutura cristalina e contribuir inclusive para a estabilidade de formas polimórficas desejadas nos óleos e gorduras onde são aplicados. Os ésteres de ácidos graxos de sorbitana têm demonstrado influência na morfologia dos cristais e na textura de misturas de óleos à base de palma. No entanto, estudos indicaram que os monoésteres de ácidos graxos de sorbitana disponíveis comercialmente possuíam diferentes composições em mono-, di- e triésteres de ácidos graxos de sorbitana. Esta variabilidade pode dificultar a comparação de resultados obtidos de cristalização de óleos e gorduras após adição destes emulsificantes entre os diversos estudos já realizados. O objetivo deste trabalho foi determinar a composição de vários ésteres de ácidos graxos comerciais, de diferentes fornecedores, e verificar se o comportamento de cristalização do óleo de palma refinado (RPO) adicionado dos emulsificantes foi influenciado pelas possíveis diferenças na composição deles. A análise de composição, realizada através da técnica de espectrometria de massas, EASI-MS, revelou diferenças na composição dos monolauratos de sorbitana (SMLa) dos fornecedores B, C e D e dos monoestearatos de sorbitana (SMS) dos fornecedores C, D e E. Entre os SMLa, o SMLa D foi o que apresentou o maior teor de trilaurato de sorbitana e de triésteres de modo geral, e dentre os SMS, o SMS E foi o que apresentou o maior teor de monoestearato de sorbitana, maior teor de monoésteres e menor teor de diésteres. Nas isotermas de cristalização realizadas a 25°C através da ressonância magnética nuclear (RMN), o SMLa D foi

o que mais retardou o período de nucleação (em 128,6%) de RPO e o que possibilitou o menor teor máximo de gordura sólida ($SFC_{Máx}$). Além disso, após análise dos eventos de cristalização por calorimetria diferencial de varredura (DSC), o SMLa D foi o único, dentre os SMLa, a retardar significativamente ($p < 0,05$) a nucleação e a cristalização dos TAGs de maior ponto de fusão de RPO. Em relação aos SMS, após análise das imagens da microestrutura dos cristais, notou-se que apenas a amostra com SMS E produziu cristais de morfologia e dimensões diferentes. Além disso, os resultados da análise de consistência mostraram que somente o SMS E aumentou significativamente ($p < 0,05$) a dureza do RPO nas temperaturas de 15°C, 20°C e 25°C. As diferenças encontradas na composição dos monolauratos e monoestearatos de sorbitana puderam ser associadas aos efeitos distintos no comportamento de cristalização do óleo de palma refinado.

Palavras-chave: Óleo de palma refinado, Cristalização, Emulsificantes, Ésteres de ácidos graxos de sorbitana, EASI.

SUMMARY

Palm oil has a slow crystallization possibly due to the high free energy of activation of nucleation and additives can be added in an attempt to change its crystallization behavior adapting its use to industrial processes of margarine, shortenings, toppings and baking. Among these additives there are emulsifiers, which unlike its usual application can be used to alter the crystal structure and also contribute to the stability of desired polymorphic forms in the oil and fat where they are applied. The sorbitan fatty acid esters have been shown to influence the morphology, the distribution of crystals and the texture of blends of palm. However studies indicated that sorbitan monoesters commercially available had different compositions in mono-, di- and triesters of sorbitan fatty acids such variability may make it difficult to compare results obtained from crystallization of fats and oils after addition of emulsifiers among the many studies already conducted. The objective of this study was to determine the composition of several commercial sorbitan fatty acid esters from different suppliers and verify if the crystallization behaviour of refined palm oil (RPO) after addition of the emulsifiers was influenced by possible differences in their composition. The composition analysis using the technique of mass spectrometry, EASI-MS, revealed differences in the composition of sorbitan monolaurates (SMLa) from suppliers B, C and D and sorbitan monostearates (SMS) from suppliers C, D and E. Among SMLa, the SMLa D indicated the highest content of trilaurate and sorbitan triesters. Among SMS, SMS E presented the highest level of sorbitan monostearate, and higher content of monoesters and lower content of diesters. In the isothermal crystallization performed at 25°C by nuclear magnetic resonance (NMR), the SMLa D was the emulsifier the most retarded the nucleation period (at 128.6%) of the RPO and it resulted of the lowest maximum solid fat content (SFC_{Max}). Furthermore, after crystallization event analysis by differential scanning calorimetry (DSC), the SMLa D was the only one delayed significantly ($p < 0.05$) the nucleation and crystallization of TAGs of higher

melting point of the RPO. In relation to SMS, after examining the images of the microstructure of the crystals, it was noted that only the sample with SMS E produced crystals of different dimensions and morphology. Furthermore, the results of consistency analysis showed that only SMS E increased significantly ($p < 0.05$) the hardness of the RPO at 15°C, 20°C and 25°C. The differences found in the composition of sorbitan monolaurates and monostearates could be associated with distinct effects on the crystallization behavior of refined palm oil.

Keywords: Refined palm oil, Crystallization, Emulsifiers, Sorbitan fatty acid esters, EASI.

ÍNDICE

1. Introdução geral	1
2. Revisão Bibliográfica	4
2.1. Óleos e gorduras	4
2.1.1. Composição	4
2.1.2. Cristalização	6
2.1.2.1. Aspectos gerais	6
2.1.2.2. Cinética de cristalização	7
2.1.2.3. Comportamento térmico	9
2.1.2.4. Polimorfismo	10
2.1.2.5. Microestrutura	13
2.1.2.6. Consistência	13
2.2. Óleo de palma	15
2.2.1. Principais características e aplicações	15
2.2.2. Composição do óleo de palma	17
2.2.3. Comportamento da cristalização do óleo de palma	20
2.3. Emulsificantes	22
2.3.1. Introdução	22
2.3.2. Conceito de HLB	23
2.3.3. Mecanismos de atuação dos emulsificantes na cristalização de óleos e gorduras	24
2.3.4. Efeitos dos emulsificantes na cristalização de óleos e gorduras	25
2.3.5. Ésteres de ácidos graxos de sorbitana	26
2.3.5.1. Formação e estrutura química	26
2.3.5.2. Efeitos na cristalização de óleos e gorduras	29
2.4. Espectrometria de Massas	31
2.4.1. Princípios da técnica	31
2.4.2. EASI-MS	32
3. Objetivo	34
4. Material e Métodos	34
4.1. Material	34

4.1.1. Matérias-primas	34
4.1.2. Equipamentos	34
4.2. Métodos	35
5. Discussão	43
5.1. Composição de óleo de palma refinado.....	43
5.2. Composição dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana	46
5.3. Isotermas de cristalização	53
5.4. Comportamento térmico	58
5.5. Microestrutura	69
5.6. Conteúdo de gordura sólida	73
5.7. Consistência.....	77
6. Conclusão.....	82
7. Bibliografia.....	83
Anexos	97

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estruturas de sub-célula (hexagonal, ortorrômbica e triclínica) das 3 formas polimórficas α , β' e β , respectivamente (Fonte: SATO e UENO, 2011).....	12
Figura 2. Grupos hidrofílicos e lipofílicos típicos dos emulsificantes (Fonte: HASENHUETTL, 1997).	22
Figura 3. Estrutura química de um monoéster de ácido graxo de sorbitana. Para poliésteres de sorbitana, alguns dos grupos hidroxilas (OH) são esterificados com ácidos graxos (R) (Fonte: GARBOLINO <i>et al.</i> , 2005).	28
Figura 4. Diagrama esquemático da técnica EASI (Fonte: ALBERICI <i>et al.</i> , 2010).	33
Figura 5. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor B.	47
Figura 6. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor C.	47
Figura 7. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor D.	48
Figura 8. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor C.	48
Figura 9. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor D.	49
Figura 10. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor E.	49
Figura 11. Isoterma de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado.	53
Figura 12. Isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D.	55
Figura 13. Isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E.	57
Figura 14. Evento de cristalização de óleo de palma refinado por DSC. Taxa de resfriamento de 10°C/min.	60
Figura 15. Evento de cristalização dos monolauratos de sorbitana puros dos fornecedores B, C e D por DSC. Taxa de resfriamento de 2°C/min.	61
Figura 16. Evento de cristalização de óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D. Taxa de resfriamento de 10°C/min.	62
Figura 17. Evento de cristalização dos monoestearatos de sorbitana puros dos fornecedores C, D e E por DSC. Taxa de resfriamento de 2°C/min.	65
Figura 18. Evento de cristalização de óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E. Taxa de resfriamento de 10°C/min.	67
Figura 19. Imagens digitalizadas das estruturas cristalinas obtidas a 25°C sob aumento de 40X das seguintes amostras: (a) Óleo de palma refinado (b) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monolaurato de sorbitana B (c) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m)	

monolaurato de sorbitana C (d) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monolaurato de sorbitana D. A barra representa 200 μm 70

Figura 20. Imagens digitalizadas das estruturas cristalinas obtidas a 25°C sob aumento de 40X das seguintes amostras: (a) Óleo de palma refinado (b) Óleo de palma refinado+ 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana C (c) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana D (d) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana E. A barra representa 200 μm 72

Figura 21. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D. 75

Figura 22. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E. 76

Figura 23. Valores de *yield value* (gf/cm^2) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D. 78

Figura 24. Valores de *yield value* (gf/cm^2) em função da temperatura (°C) das amostras do óleo de palma refinado sem e com adição de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E. 79

LISTA DE TABELAS

Tabela 4. Composição de triacilgliceróis do óleo de palma refinado da Malásia (Fonte: adaptado de CHE MAN <i>et al.</i> , 1999).....	18
Tabela 5. Composição em ácidos graxos do óleo de palma e de suas principais frações (Fonte: adaptado de SIEW <i>et al.</i> , 1992).....	19
Tabela 6. Nomenclatura, nome comercial (<i>SPAN</i>) e características físicas dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana mais comumente utilizados (Fonte: adaptado de COTTRELL e VAN PEIJI, 2004).....	28
Tabela 7. Composição em ácidos graxos e total de triacilgliceróis, diacilgliceróis e monoacilgliceróis do óleo de palma refinado.	44
Tabela 9. Índices de caracterização do óleo de palma refinado.	46
Tabela 10. Massa molar dos íons sodiados e composição dos ésteres de sorbitana.	51
*Média $\pm$ desvio padrão. ** n.i.: compostos não identificados.	51
Tabela 11. Parâmetros τ , tempo de indução, $SFC_{Máx}$, teor máximo de gordura sólida, n , expoente de Avrami e k , constante de Avrami obtidos a partir das isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.	55
Tabela 12. Parâmetros obtidos a partir do evento de cristalização de óleo de palma refinado realizado sob a taxa de resfriamento de 10°C/min por DSC.....	60
Tabela 13. Parâmetros obtidos a partir dos eventos de cristalização do óleo de palma refinado, dos monolauratos de sorbitana puros e do óleo de palma com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos diferentes fornecedores.....	63
Tabela 14. Parâmetros obtidos a partir dos eventos de cristalização do óleo de palma refinado, dos monoestearatos de sorbitana puros e do óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.....	66
Tabela 15. Diâmetro médio dos cristais e área cristalizada das amostras de RPO e RPO com adição de SMLa e de SMS dos diferentes fornecedores.....	71
Tabela 16. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura para óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.	74
Tabela 17. Valores de <i>yield value</i> (gf/cm ²) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.	80

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AG	Ácido graxo
AGL	Ácidos graxos livres
AGT	Ácidos graxos <i>trans</i>
AOCS	<i>American Oil Chemists' Society</i>
DAG	Diacilglicerol
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
EASI	<i>Easy Ambient Sonic-spray Ionization</i>
ES	Ésteres de ácidos graxos de sorbitana
HLB	Balanco hidrofílico e lipofílico
MAG	Monoacilglicerol
MS	Espectrometria de massas
PPP	Tripalmitina
PO	Óleo de palma
RMN	Ressonância magnética nuclear
RPO	Óleo de palma refinado
SFC	Conteúdo de gordura sólida
SMLa	Monolaurato de sorbitana
SMO	Monooleato de sorbitana
SMP	Monopalmitato de sorbitana
SMS	Monoestearato de sorbitana
SSS	Triestearina
STS	Triestearato de sorbitana
TAG	Triacilglicerol

1. Introdução geral

Os óleos e gorduras consistem em fontes de energia e de ácidos graxos (AGs) essenciais ao organismo. Correspondem aos componentes dos alimentos que conferem sabor, aroma, textura, consistência e características de fusão específicas, atuando ainda como carreadores de vitaminas lipossolúveis e como meio de transferência de calor durante o processo de fritura (GOH, 1994; O'BRIEN, 2009b).

Dentro da categoria dos óleos e gorduras se destaca o óleo de palma (PO), que representa o óleo com maior volume comercializado no mundo há vários anos, evidenciando a sua expressiva utilização nos mais diversificados segmentos industriais. É naturalmente livre de AGs insaturados de conformação *trans* (AGT), que estão comprovadamente relacionados ao aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL), responsável pelo aumento do colesterol não saudável no organismo humano. Por este motivo, o PO possui grande aplicação na indústria de alimentos e é utilizado principalmente na produção de margarinas, *shortenings*, confeitos, pães, recheios de biscoitos, bolos, tortas, pós para sorvetes e como óleo para fritura. Na indústria química é utilizado na obtenção de sabões e detergentes e na indústria oleoquímica são obtidos a partir dele os gliceróis, tocoferóis, emulsificantes e os ésteres metílicos para a produção de biodiesel (MENSINK e KATAN, 1990; SEAGRI, 2011).

O comportamento de cristalização dos óleos e das gorduras influencia na estabilidade física dos produtos de base gordurosa no que se refere à exsudação do óleo, à coalescência de glóbulos de gordura em emulsões, à formação e à sedimentação de cristais em um óleo (FOUBERT *et al.*, 2007). Portanto, o entendimento do processo de cristalização de gorduras é fundamental para que a gordura cumpra eficientemente o seu papel no produto final, garantindo a sua qualidade (BAILEY, 1950; HIMAWAN *et al.*, 2006).

A cristalização corresponde à formação de núcleos e de cristais que ocorre através do abaixamento de temperatura. As moléculas de triacilgliceróis (TAGs) se

aproximam, iniciando a nucleação, e com a incorporação de outras moléculas provenientes da camada de líquido adjacente, os núcleos dão origem aos cristais. Diferentes empacotamentos dos TAGs originam formas polimórficas distintas, sendo a forma α a mais instável e de menor ponto de fusão, a forma β' de estabilidade e ponto de fusão intermediário e a forma β , a mais estável e de maior ponto de fusão. Os cristais na forma β' apresentam maior funcionalidade em produtos de base gordurosa, pois eles propiciam boa aeração e propriedades de cremosidade, o que é desejável em margarinas, em produtos de confeitaria e de panificação. Já na produção de chocolates, a etapa de temperagem é empregada com o objetivo de promover a formação de núcleos de cristais preferencialmente do tipo β , mais especificamente do tipo β_V , associado a propriedades como brilho, uniformidade, *snap* (quebra) característico e estabilidade do produto final (LOISEL *et al.*, 1998; O'BRIEN, 2009b). Deste modo, o polimorfo desejável na cristalização para cada aplicação alimentícia pode variar.

Para alterar o comportamento de cristalização dos TAGs podem ser empregados os emulsificantes, que são usados mais comumente na indústria de alimentos como aditivos para melhorar a textura, a estabilidade em emulsões, volume, maciez, aeração e *shelf-life* (MADISEN, 1987). Em produtos de base gordurosa, os emulsificantes podem atuar como gérmens de cristalização, promovendo a nucleação heterogênea (GARTI, 2002), modificando a estrutura cristalina e proporcionando estabilidade de formas polimórficas (GUTH *et al.*, 1989; KATSURAGI, 1999).

O PO apresenta lenta cristalização devido à alta energia livre de ativação da nucleação, causada pelas interações intermoleculares entre a estearina e a oleína (NG, 1990) e pela presença de diacilgliceróis (DAGs), que prejudicariam a aproximação das moléculas dos TAGs durante a cristalização (RIINER, 1970; WATANABE *et al.*, 1992). Por outro lado, manter os DAGs no RPO pode ser interessante, pois estudos no controle de obesidade demonstraram que o consumo de DAGs ocasionou a supressão no acúmulo da gordura corpórea, tanto no organismo de roedores como no de humanos (MURATA *et al.*, 1994). Óleos de

cozinha funcionais com níveis elevados de DAGs, obtidos a partir do óleo de soja e do óleo de canola, são comercializados no Japão e nos Estados Unidos (LO *et al.*, 2008) Portanto, a adição de emulsificantes pode representar uma alternativa para eliminar o problema da lenta cristalização do PO, mantendo os seus teores de DAGs e possibilitando melhoria nos processos industriais de produtos derivados deste óleo.

Dentre os emulsificantes utilizados em alimentos estão os ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES), que têm demonstrado grande influência no retardo da transição polimórfica da forma β' para a forma β em gorduras utilizadas na produção de margarinas, *shortenings* e confeitos. Em misturas contendo PO há tendência de recristalização, que é causada pela recristalização do TAG 1,3-dipalmitoil-2-oleoil glicerol (POP) na forma β , e que pode promover a formação de aglomerados perceptíveis a olho nu e detectados como arenosidade pelo paladar. Os monoestearatos de sorbitana (SMS) impediram essa recristalização, ocasionada pela oscilação térmica (GARBOLINO *et al.*, 2005).

Segundo Oh *et al.* (2005), que estudaram os efeitos da adição de poliésteres graxos de sacarose em triestearina (SSS), os efeitos de emulsificantes na estabilização polimórfica dependem da estrutura química destes aditivos, como o tamanho da cadeia do ácido graxo esterificado e do número destes componentes esterificados na molécula de sacarose.

Os ES disponíveis comercialmente, como o monolaurato (SMLa), o monopalmitato (SMP), o monoestearato (SMS) e o monooleato de sorbitana (SMO) geralmente não são puros e assim podem apresentar na sua composição diferentes concentrações de mono-, di- e triésteres de ácidos graxos (GARTI *et al.*, 1983). Esta variabilidade na composição química pode dificultar a comparação dos efeitos da adição desses aditivos na cristalização de óleos e gorduras entre os diferentes estudos (SMITH *et al.*, 2011).

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Óleos e gorduras

As fontes de óleos e gorduras são inúmeras e dentre elas se destacam as fontes vegetais e as fontes animais (O'BRIEN, 2009b). A participação no mercado mundial de gorduras de fontes animais como o sebo, a banha e a manteiga continua inferior à participação dos óleos de fontes vegetais, como o óleo de palma e o de soja. Esses óleos vegetais podem ser classificados em 3 grandes grupos: o que abrange os 4 óleos mais importantes (palma, soja, canola e girassol), o das gorduras láuricas (coco e palmiste) e o dos demais óleos (algodão, oliva, amendoim) (GUNSTONE, 2011).

Uma fonte de óleo que tem recebido grande destaque nos estudos recentes, envolvendo produção de biodiesel, são as microalgas. Elas são capazes de produzir e armazenar grandes quantidades de lipídios na sua biomassa (WEYER *et al.*, 2010; DEMIRBAS e DEMIRBAS, 2011; HALIM *et al.*, 2012).

Os termos óleos e gorduras estão relacionados à diferença do estado físico à temperatura ambiente, sendo a gordura considerada sólida e o óleo considerado líquido nesta condição. Todos os óleos e gorduras apresentam predomínio de ésteres de ácidos graxos de glicerol (O'BRIEN, 2009b).

2.1.1. Composição

Cada tipo de óleo e de gordura possui um perfil típico em AGs, sendo fatores importantes para a variabilidade da composição o clima, a origem geográfica e o nível de maturação dos frutos, no caso das fontes vegetais, e o tipo de alimentação dos animais, em se tratando das fontes animais (KAMM *et al.*, 2001). A Tabela 1 mostra os mais diversos AGs e as suas fontes.

Tabela 1. Fontes de cada tipo de ácido graxo (Fonte: KAMM *et al.*, 2001).

Ácido graxo	Abreviatura	Fontes
Butírico	C4:0	Manteiga
Caprílico	C8:0	Palmiste, coco
Cáprico	C10:0	Palmiste, coco
Láurico	C12:0	Palmiste, coco
Palmítico	C16:0	Palma
Palmitoléico	9c - C16:1	Óleos de fontes marinhas
Estearico	C18:0	Manteiga de cacau, <i>Sal</i> , karité
Oléico	9c - C18:1	Oliva, milho, soja, girassol e sementes de Cártamo
Linoléico	9c - 12c - C18:2	Algodão
Linolênico	C18:3	Canola, soja
γ -Linolênico	6c, 9c, 12c - C18:3	Groselha, prímula
Araquídico	C20:0	<i>Sal</i>
Araquidônico	5c, 8c, 11c, 14c - C20:4	Óleos de fontes marinhas
Behênico	C22:0	Amendoim
Lignocérico	C24:0	Amendoim
Cetólico	11c - C22:1	Semente de mostarda, canola
Erúcico	13c - C22:1	Semente de mostarda, canola
Eicosapentaenóico	5c, 8c, 11c, 14c, 17c - C20:5	Óleos de fontes marinhas
Docosahexaenóico	4c, 7c, 10c, 13c, 16c, 19c - C22:6	Óleos de fontes marinhas

Os AGs poliinsaturados (PUFA) adquiriram destaque desde o começo do século, devido à relação entre a sua ingestão e a promoção de benefícios à saúde (RUXTON *et al.*, 2004). Os AGs saturados encontram-se em maiores teores nas gorduras animais, como a manteiga e a banha, e em gorduras vegetais, como no coco e no cacau (VIANNI e BRAZ-FILHO, 1996).

As propriedades físico-químicas dos óleos e das gorduras estão relacionadas ao tipo de AG presente, mais especificamente, ao seu grau de saturação, ao tamanho da sua cadeia em átomos de carbono, e à sua posição de esterificação na molécula de glicerol (*sn*-1, *sn*-2 ou *sn*-3). Os óleos e as gorduras são comumente referidos como triacilgliceróis (TAGs), moléculas que contém 3 AGs esterificados na molécula de glicerol. Os TAGs que apresentam 3 AGs idênticos são denominados de TAGs monoácidos e os que contém mais de um

tipo de AG são denominados de TAGs mistos (SATO e UENO, 2005; O'BRIEN, 2009b).

A funcionalidade dos óleos e das gorduras em sistemas complexos como os alimentos é determinada pelas características físico-químicas dos TAGs que implicam no seu comportamento nas mudanças de fase, como na fusão e na cristalização. Características como textura, espalhabilidade e retenção de ar, desejáveis em alimentos como *spreads*, *shortenings*, chocolates e sorvetes são determinadas pela proporção de TAGs na fase sólida, relacionada com o conteúdo de gordura sólida (BAILEY, 1950; TORO-VÁZQUEZ *et al.*, 2002).

2.1.2. Cristalização

2.1.2.1. Aspectos gerais

A cristalização de TAGs pode ser utilizada para: (i) separar compostos de alto ponto de fusão, evitando possível granulosidade em produtos de base gordurosa, (ii) obter frações de TAGs com características específicas e (iii) desenvolver ou modificar a textura dos alimentos (TORO-VÁZQUEZ *et al.*, 1996).

Segundo BOISTELLE (1988), citado por TORO-VÁZQUEZ *et al.* (2002), durante a cristalização ocorrem 3 fenômenos: a indução da cristalização (nucleação), a cristalização propriamente dita (crescimento dos cristais) e o amadurecimento dos cristais. Estes eventos ocorrem simultaneamente a diferentes taxas. Para que a nucleação se inicie, é necessária uma força motriz termodinâmica para que haja mudança da fase líquida para a sólida e esta força pode ser promovida com a aplicação do super-resfriamento ou com a supersaturação. Os primeiros núcleos de TAGs geralmente se formam na condição de super-resfriamento de uma gordura previamente fundida.

Há três tipos de nucleação: a nucleação primária (homogênea ou heterogênea) e a nucleação secundária. A nucleação homogênea primária ocorre geralmente em soluções puras e a heterogênea primária ocorre na presença de outros compostos (impurezas ativas). Já na nucleação secundária, novos núcleos

cristalinos são formados a partir dos fragmentos de cristais anteriormente formados na nucleação primária. O número de núcleos necessário para induzir a cristalização de toda a gordura é muito pequeno ($1/\text{mm}^3$) (MARANGONI, 2005).

A combinação da nucleação e do crescimento dos cristais ocasiona a formação de cristais com determinadas dimensões e com uma morfologia própria. Quando os cristais são suficientemente grandes, eles podem formar agregados. Estes agregados, por sua vez, são responsáveis pela formação de uma rede contínua de cristais, com as propriedades macroscópicas e mecânicas de uma gordura (FOUBERT *et al.*, 2007).

As propriedades das redes cristalinas são fundamentais para produtos de base gordurosa como margarina, manteiga, chocolate, pasta de amendoim, *spreads* e sorvetes, pois muitos atributos sensoriais como espalhabilidade, *snap* (em chocolates) e textura, dentre outros, dependem da força mecânica que a rede dos cristais de gordura oferece (NARINE e MARANGONI, 1999).

Além disso, o comportamento de cristalização dos óleos e gorduras influencia na estabilidade física dos produtos de base gordurosa, no que se refere à exsudação do óleo, à coalescência de glóbulos de gordura em emulsões e à formação e sedimentação de cristais em um óleo (FOUBERT *et al.*, 2007). Portanto, o entendimento do processo de cristalização de gorduras é fundamental para que determinada matriz lipídica cumpra eficientemente o seu papel no produto final, garantindo a sua qualidade (BAILEY, 1950; HIMAWAN *et al.*, 2006).

2.1.2.2. Cinética de cristalização

O modelo mais utilizado para descrever a cinética de cristalização isotérmica de gorduras é o modelo de Avrami (MARANGONI, 2005; FOUBERT *et al.*, 2007). Muitos autores também utilizam o modelo de Avrami modificado também denominado de modelo Avrami–Erofeev, que corresponde simplesmente a uma reparametrização (NG, 1975).

O modelo de Avrami descreve um período *Lag* inicial em que a cristalização é muito lenta e abrange um período posterior com rápido crescimento da massa

cristalina. Este modelo considera que o processo de cristalização engloba tanto a nucleação como o crescimento dos cristais em condições isotérmicas (MARANGONI, 2005). Para o estudo da cinética de cristalização não-isotérmica pode ser utilizado o modelo de Foubert *et al.* (2002), expresso na forma de equação diferencial, e que considera a dependência da temperatura dos parâmetros, possibilitando o seu uso para explicar processos não-isotérmicos.

A equação de Avrami tem a seguinte forma:

$$\frac{SFC}{SFC_{Máx}} = 1 - e^{-kt^n}$$

Os parâmetros da equação nos dão informações sobre o processo de cristalização, onde: *t* indica o tempo do processo; SFC representa o conteúdo de gordura sólida com o tempo; SFC_{Máx} indica o teor máximo de gordura sólida atingido; *k* corresponde à constante da taxa de cristalização ou constante de Avrami, que leva em consideração tanto a taxa de nucleação quanto a taxa de crescimento dos cristais; *n* se refere ao índice de cristalização ou expoente de Avrami, e indica o mecanismo de crescimento dos cristais, mais especificamente, indica o número de dimensões nas quais os primeiros núcleos crescem: na forma de agulhas, discos ou esferas, em 1, 2 ou 3 dimensões, respectivamente (MARANGONI, 2005).

A nucleação pode ser espontânea se os núcleos aparecem no início do processo de cristalização; ou esporádica, com o número de núcleos aumentando durante o tempo. Uma relação pode ser estabelecida entre o valor de *n*, o número de dimensões em que os núcleos crescem e o tipo de nucleação (Tabela 2). Embora o valor de *n* deva ser inteiro, valores fracionários podem ser obtidos explicando o desenvolvimento de dois ou mais tipos de crescimento dos cristais, com nucleação tanto espontânea quanto esporádica (MARANGONI, 2005).

Tabela 2. Valores do expoente de Avrami para diferentes tipos de nucleação e crescimento dos cristais (Fonte: MARANGONI, 2005).

Expoente de Avrami (n)	Tipo de crescimento dos cristais e nucleação
4	Crescimento esferulítico a partir de nucleação esporádica
3	Crescimento esferulítico a partir de nucleação instantânea
3	Crescimento tipo disco a partir de nucleação esporádica
2	Crescimento tipo disco a partir de nucleação instantânea
2	Crescimento tipo agulha a partir de nucleação esporádica
1	Crescimento tipo agulha a partir de nucleação instantânea

2.1.2.3. Comportamento térmico

O conhecimento do comportamento térmico de produtos à base de óleos comestíveis é imprescindível para diversas aplicações industriais. Este comportamento é ditado pelas propriedades físico-químicas, ou mais especificamente, pela fusão e cristalização dos óleos e gorduras, que correspondem às propriedades mais importantes para a funcionalidade de vários tipos de alimentos. Estas propriedades podem ser analisadas pela técnica de calorimetria de varredura diferencial (DSC) e dependem da composição química dos óleos e gorduras, bem como das condições específicas de análise (TAN e CHE MAN, 2002).

A técnica de DSC foi utilizada para descrever o comportamento térmico do PO, da manteiga de cacau, de gorduras estruturadas e de organogéis (NG e OH, 1994; TORO-VASQUEZ *et al.*, 2007; SATO *et al.*, 2009; CAMPOS *et al.*, 2010).

Trata-se de um método termoanalítico que mede a quantidade de fluxo de calor ou diferença de temperatura entre uma amostra e um material de referência. A alteração da entalpia na amostra ocasiona uma alteração de temperatura entre a amostra e a referência, e esta informação pode então ser convertida em fluxo de calor através de equações matemáticas presentes na maioria dos programas acoplados a este tipo de equipamento (ZHOU e LABUZA, 2011). Essa diferença de temperatura é utilizada para caracterizar as transições de fase (formação ou

fusão de cristais) e as curvas de fusão ou cristalização são construídas a partir do aumento e da diminuição da temperatura sob taxas controladas (CAMPOS, 2005).

Para descrever o comportamento térmico de uma amostra pela técnica de DSC, vários parâmetros podem ser calculados a partir dos seus eventos térmicos: T_{pc} ou T_{pm} , que representam, respectivamente, a temperatura de pico de cristalização e a de pico de fusão, em que há o máximo desvio do pico em relação à linha base, com máxima liberação ou absorção de energia e com a maior proporção de TAGs cristalizados ou fundidos; T_{oc} e T_{om} , que correspondem, respectivamente, à temperatura em que os primeiros cristais são formados e à temperatura em que a amostra começa a fundir; T_{final} , que é a temperatura em que a curva retorna à linha base após a conclusão dos eventos de cristalização e fusão; ΔH_c e ΔH_m , se referem, respectivamente, à entalpia de cristalização e à de fusão, calculadas a partir das áreas dos picos. As áreas sob as curvas são proporcionais à quantidade de material cristalino formado durante a cristalização ou à quantidade de fase sólida convertida para fase líquida durante a fusão (CAMPOS, 2005; RIBEIRO *et al.*, 2009).

2.1.2.4. Polimorfismo

A taxa de cristalização, o tamanho e a morfologia dos cristais, que caracterizam o comportamento de cristalização dos TAGs, são influenciados diretamente pelo polimorfismo que por sua vez, depende da sua estrutura molecular e de fatores externos como temperatura, pressão, presença de impurezas, dentre outros fatores (SATO, 2001).

Os TAGs apresentam três formas polimórficas denominadas de α , β' e β (LARSSON, 1966). As formas polimórficas diferem em densidade, em estabilidade, em ponto de fusão e em entalpia, sendo a forma α a menos estável ou metaestável e com menor ponto de fusão e densidade. A forma β é a mais

estável, com maior ponto de fusão e maior densidade e a forma β' apresenta propriedades intermediárias entre as formas α e β (WALSTRA, 1987).

As formas polimórficas são baseadas nas estruturas de sub-células (Figura 1) do empacotamento das cadeias alifáticas dos TAGs (SATO *et al.*, 1999; SATO, 2001). Essas formas podem ser identificadas através de padrões distintos obtidos através da técnica de difração de raios-X, visto que os polimorfos difratam os raios-X a diferentes ângulos (BAILEY, 1950; CAMPOS, 2005).

Pela referida técnica, os valores de *long spacings* obtidos fornecem informações sobre a distância que se repete entre os planos dos cristais e os valores de *short spacings* indicam as distâncias entre as cadeias de TAGs (estruturas de sub-célula). Um fator crítico é o arranjo “zigzag” dos átomos de carbono sucessivos das cadeias alifáticas (HIMAWAN *et al.*, 2006).

A forma polimórfica α é caracterizada por um *short spacing* de intensidade forte a 0,42 nm e as suas cadeias estão dispostas em uma estrutura hexagonal. A forma β' é caracterizada por dois valores de *short spacings* de intensidade forte a 0,37-0,40 nm e a 0,42-0,43 nm, e o empacotamento das suas cadeias é do tipo ortorrômbico e perpendicular. A forma β apresenta sinais de intensidade forte por volta de 0,46 nm e por volta de 0,36-0,39 nm, associados ao empacotamento triclinico, com as cadeias de TAGs adjacentes alinhadas de forma paralela, o que lhe confere maior densidade de empacotamento (HIMAWAN *et al.*, 2006).

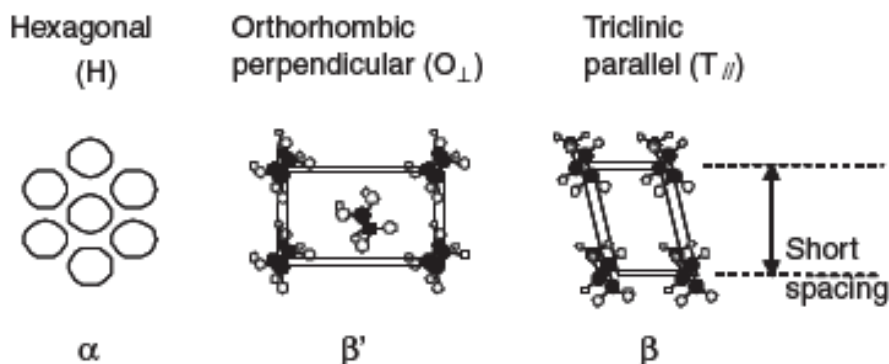


Figura 1. Estruturas de sub-célula (hexagonal, ortorrômbica e triclinica) das 3 formas polimórficas α , β' e β , respectivamente (Fonte: SATO e UENO, 2011).

Em margarinas e em *shortenings* podem existir duas formas polimórficas, β' e β , sendo que a forma α não se encontra presente em virtude da rápida transição polimórfica para a forma β' . Os cristais com forma polimórfica β' são os desejáveis, pelo seu pequeno tamanho e pela capacidade de incorporação de grande quantidade de óleo líquido na rede cristalina, produzindo no produto final uma superfície brilhante e textura lisa, sem granuloso (DEMAN e DEMAN, 2002).

O inconveniente da presença de cristais β no produto final é que os mesmos tendem a crescer e produzir aglomerados de cristais tipo agulha, resultando na sensação de arenosidade na boca, além de afetar a aparência e, portanto, a qualidade do produto. A transição polimórfica de β' para β pode ocorrer via estado sólido ou via estado líquido. Devido ao aumento do ponto de fusão, o conteúdo de gordura sólida geralmente aumenta, o que provoca perda de aeração e de cremosidade de *shortenings* (DEMAN e DEMAN, 2002).

Dentre as gorduras que tendem a cristalizar na forma β estão o óleo de soja, o óleo de amendoim, o óleo de canola, o óleo de milho, o azeite de oliva, o óleo de côco, a manteiga de cacau e a banha (FOUBERT *et al.*, 2007).

2.1.2.5. Microestrutura

As propriedades reológicas macroscópicas da rede cristalina, como a força mecânica, são responsáveis por muitos atributos sensoriais, como espalhabilidade, *snap*, textura e derretimento na boca de produtos de base gordurosa como margarina, *spread*, creme de amendoim, chocolate, sorvete e *cream cheese*. Estas propriedades são influenciadas por diferentes níveis estruturais que se formam durante a cristalização e também pelas condições de processo sob as quais esta rede cristalina é formada. Vale ressaltar que o conhecimento dessas propriedades não pode por si só prever o comportamento de produtos ricos em gorduras (NARINE e MARANGONI, 2005).

A formação da rede cristalina compreende várias etapas: após a fusão, as moléculas de TAGs cristalizam em formas polimórficas originando cristalitos na ordem de submicrômetros. Então, através de transferência de massa e de calor, estes cristalitos formam agregados microestruturais de 1 a 10 μm e o processo continua com a formação de *clusters* de grandes dimensões e de uma rede contínua tridimensional, caracterizada por microestruturas de 50 a 140 μm (NARINE e MARANGONI, 2002).

A microscopia de luz polarizada é o método mais conhecido para visualizar a microestrutura da rede cristalina de gorduras. Esta técnica fornece imagens nítidas da rede cristalina e o preparo das amostras é relativamente simples. Porém, neste método só é possível visualizar amostras de gordura com baixos teores de gordura sólida (SFC), pois para amostras com altos valores de SFC a obtenção de imagens é prejudicada (TANG e MARANGONI, 2006).

2.1.2.6. Consistência

Uma substância plástica é aquela que se comporta como um sólido capaz de resistir a pequenas tensões. Quando a tensão aplicada é superior a um valor mínimo, ele é deformado e flui como um líquido. A plasticidade e a consistência de

produtos de base gordurosa estão relacionadas à quantidade, ao tamanho, à forma e à distribuição do material sólido, assim como à formação de núcleos de cristais capazes de resistir a altas temperaturas, servindo como *templates* para o desenvolvimento de novos cristais (O'BRIEN, 2009a).

O produto se apresentará mais firme e consistente quanto menor for o tamanho dos cristais e se tornará mais macio à medida que o tamanho dos cristais aumentar (O'BRIEN, 2009a).

A consistência de uma margarina ou gordura pode ser determinada pela sua dureza através de vários instrumentos e técnicas diferentes, cujas medidas dependem exclusivamente das propriedades reológicas da gordura, como *yield value*, viscosidade e módulo de elasticidade ou coeficiente de elasticidade. O *yield value* pode ser medido através da penetração de um cone e definido através da seguinte relação:

$$C = \frac{K.W}{p^n}$$

Nesta equação, C representa o *yield value* em gf/cm²; K é um fator que depende do ângulo do cone; W é a força de compressão medida em gf na penetração do cone e p é a profundidade de penetração. Em medidas realizadas em margarinas e *shortenings* o valor de n encontrado foi de 1,6 (HAIGHTON, 1959).

A Tabela 3 apresenta as faixas de valores de *yield value* e as características de textura para margarinas e *shortenings*.

Tabela 3. Valores de *yield value* para margarinas e *shortenings* (Fonte: HAIGHTON, 1959).

<i>Yield value</i> (gf/cm ²)	Características relativas à consistência
< 50	Muito macia, quase fluida
50 - 100	Muito macia, porém não espalhável
100 - 200	Macia e espalhável
200 - 800	Plástica e espalhável
800 - 1000	Dura e satisfatoriamente espalhável
1000 - 1500	Muito dura - limite da espalhabilidade
> 1500	Muito dura

2.2. Óleo de palma

2.2.1. Principais características e aplicações

O óleo de palma (PO) é uma das *commodities* de maior volume comercializado no mundo na categoria dos óleos e gorduras, contabilizando 55,1% do total das exportações em 2010, seguido do óleo de soja, com 15,2% (PORAM, 2010). Do fruto da palma se obtém dois tipos de óleos, um de coloração vermelho-alaranjada do mesocarpo do fruto, que é o óleo de palma, e um óleo de coloração amarela de tonalidade escura proveniente das amêndoas que corresponde ao óleo de palmiste.

O PO é um óleo semi-sólido à temperatura ambiente, seu ponto de fusão situa-se entre 35-40°C e sua composição se caracteriza pela presença de aproximadamente 50% de AGs saturados e de 50% de AGs insaturados. Esse óleo possui componentes com propriedades nutricionais e com benefícios à saúde; dentre os fitonutrientes estão os carotenóides (principalmente α -caroteno e

β -caroteno), os tocoferóis, os tocotrienóis e esteróis. Os carotenóides e os tocoferóis são responsáveis pela estabilidade oxidativa natural do óleo (O'BRIEN, 2009b). Para se obter um óleo comestível torna-se necessário realizar o refino e, no caso do PO, que apresenta altos teores de AGL e baixos teores de fosfolipídios, opta-se pelo refino físico (BASIRON, 2005).

Trata-se de um óleo naturalmente livre de AGT, o que fez aumentar exponencialmente nas últimas décadas o seu uso (GEE, 2007). Dentre as suas aplicações industriais estão a produção de *snacks*, de biscoitos, de sorvetes, de molhos para saladas, de produtos de confeitaria e de maionese (SIEW, 2011).

A ingestão de AGT ou AG saturados ocasiona o aumento da lipoproteína de baixa densidade (LDL), relacionado com o aumento do colesterol não saudável. Por outro lado, diferentemente dos demais ácidos graxos, os isômeros *trans* implicam na diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL), o que é indesejável. Logo, a razão LDL/HDL é afetada de modo desfavorável com a presença de isômeros *trans* em comparação ao efeito causado apenas pelos ácidos graxos saturados (MENSINK e KATAN, 1990).

Estudos evidenciam que as gorduras saturadas podem não representar o principal fator para o aumento do risco de doenças cardíacas. O fator que influenciaria substancialmente esse aumento estaria relacionado com o tipo de AG saturado e com a sua posição na molécula de TAG. Gorduras com o ácido palmítico na posição *sn-2* do TAG foram responsáveis pelo aumento de aterogenicidade em coelhos, doença esta relacionada à propensão à aterosclerose (KRITCHEVSKY *et al.*, 2000).

Uma grande variedade de formulações de produtos alimentícios pode ser obtida utilizando o PO e suas frações, e às vezes, combinando com o uso de óleo de palmiste e de outros óleos vegetais. No fracionamento do PO são obtidas frações distintas, cada qual com uma aplicação específica: uma fração dura, a *hard palm* ou estearina de palma que contém AGs de alto ponto de fusão e que pode ser utilizada em formulações de margarina; uma fração denominada de *palm mid-fraction* (PMF), que é a fração média do PO, rica em POP e utilizada na

produção de equivalentes de manteiga de cacau (CBE); uma fração mole, a oleína de palma, com AGs de baixo ponto de fusão e muito utilizada para óleos de fritura; além de uma fração denominada de superoleína, obtida a partir da oleína, com aplicação para óleos de salada (SIEW, 2011).

2.2.2. Composição do óleo de palma

O PO apresenta em média de 5,3 a 7,7% de DAGs e de 0,21 a 0,34% de monoacilgliceróis (MAGs) (SAMBANTHAMURTHI, *et al.*, 2000; BASIRON, 2005). Segundo Siew (2000), citado por Gee (2007), DAGs são compostos indesejáveis no PO, pois prejudicam a cristalização e produzem turbidez do óleo durante a sua estocagem.

O principal componente do PO é o TAG, representando 95% do peso do óleo, sendo os predominantes o 1-palmitoil-2,3-dioleoil-glicerol (POO) e o 1,3-dipalmitoil-2-oleoil-glicerol (POP), representando cada um em torno de 20% do total de TAGs presentes no óleo. Os tipos de TAGs encontrados no PO definem as suas principais características físicas, afetando inclusive o seu comportamento de cristalização. A natureza semi-sólida do PO à temperatura ambiente é atribuída à presença dos TAGs dissaturados (BASIRON, 2005).

A Tabela 4 mostra a composição em TAGs do PO. A faixa de fusão do PO é de 35°C a 39,5°C em consequência da mistura de TAGs de diferentes pontos de fusão (DUNS, 1985).

Tabela 4. Composição de triacilgliceróis do óleo de palma refinado da Malásia (Fonte: adaptado de CHE MAN *et al.*, 1999).

Triacilgliceróis	(%)
Triinsaturados	
OOO	4,4
OOL	0,58
Monosaturados	
PLO	9,68
POO	23,26
OOS	2,24
Disaturados	
MPL	2,2
PPL	9,23
PPO	29,62
POS	4,9
SOS	-
Trisaturados	
MMM	0,42
MMP	1,7
PPP	5,51
PPS	1,06

A Tabela 5 apresenta a composição em AGs saturados e insaturados do PO, e das suas frações, a oleína e a estearina.

Tabela 5. Composição em ácidos graxos do óleo de palma e de suas principais frações (Fonte: adaptado de SIEW *et al.*, 1992).

Ácidos graxos	(%) no óleo de palma	(%) na oleína de palma	(%) na estearina de palma
Láurico (C12:0)	0,10-0,40 (0,24)	0,20-0,40 (0,27)	0,10-0,30 (0,18)
Mirístico (14:0)	1,00-1,40 (1,11)	0,90-1,20 (1,09)	1,10-1,70 (1,27)
Palmítico (C16:0)	40,90-47,50 (44,14)	36,80-43,20 (40,93)	49,80-68,10 (56,79)
Esteárico (C18:0)	3,80-4,80 (4,44)	3,70-4,80 (4,18)	3,90-5,60 (4,93)
Oléico (C18:1)	36,40-41,20 (39,04)	39,80-44,60 (41,51)	20,40-34,40 (29,00)
Linoléico (C18:2)	9,20-11,60 (10,57)	10,40-12,90 (11,64)	5,00-8,90 (7,23)
Linolênico (C18:3)	0,05-0,60 (0,37)	0,10-0,60 (0,40)	0,00-0,50 (0,09)
Araquidônico (C20:0)	0,20-0,70 (0,38)	0,30-0,50 (0,37)	0,00-0,50 (0,24)

Em parênteses encontram-se os valores médios (%).

Os ácidos graxos que se destacam no PO são o ácido palmítico (44%), o ácido oléico (39%), o ácido linoléico (10%) e o ácido esteárico (5%) (APOC, 2011).

A posição dos AGs oléico (C18:1) e linoléico (C18:2) na posição *sn-2* dos TAGs do PO garante a maior biodisponibilidade destes AGs ao corpo humano do que se os mesmos estivessem localizados nas posições *sn-1* e *sn-3*. Os TAGs presentes nos alimentos são hidrolisados no organismo durante a digestão em 2-monoacilgliceróis e estes são reesterificados na molécula de glicerol juntamente com outros AGs, formando novos TAGs que constituirão a gordura corpórea. Os AGs nas posições *sn-1* e *sn-3*, por sua vez, são hidrolisados e podem ou não ser reesterificados (GEE, 2007).

2.2.3. Comportamento da cristalização do óleo de palma

A cristalização de óleo de palma refinado (RPO) é lenta e complexa. Problemas como a formação de arenosidade pós-processamento sempre foram motivos de preocupação da indústria de margarinas e *shortenings*. Em poucas semanas após a produção de margarinas à base de PO, os cristais crescem e levam à formação de pequenos grânulos que contribuem para a sensação de arenosidade na boca. O produto ainda adquire a característica de baixa espalhabilidade e surgem problemas de endurecimento. Formas cristalinas podem atingir dimensões superiores a 50 μm em algumas semanas de armazenamento, ocasionando a não uniformidade dos produtos processados (WATANABE *et al.*, 1992; OMAR *et al.*, 2005).

O RPO tem a tendência de se cristalizar na forma polimórfica β' (YAP *et al.*, 1989; WATANABE *et al.*, 1992; AINI e MISKANDAR, 2007). A presença do polimorfo β' confere boa plasticidade à margarina e aos *shortenings*. A arenosidade gerada durante o período de pós-cristalização seria ocasionada pela flutuação da temperatura e conseqüente transição polimórfica da forma β' para a forma β , com formação de cristais muito maiores ($>20 \mu\text{m}$) (TIMMS, 1984; DEMAN, 1998). Com a diminuição da área superficial dos cristais, o óleo pode migrar para a superfície da margarina, ocasionando diferentes níveis de exsudação (HASENHUETTL, 1997).

Na tentativa de reduzir os problemas de pós-processamento e aumentar a qualidade dos produtos à base de RPO, muitos trabalhos foram conduzidos com o uso de interesterificação, hidrogenação, fracionamento e de misturas (OMAR *et al.*, 2005). Produtos com PO interesterificada, fracionada e totalmente hidrogenada não apresentaram a característica de lenta cristalização (O'BRIEN, 2009b).

Estudos indicam que DAGs presentes no RPO teriam efeito negativo na velocidade de ordenação do sistema lipídico. Este efeito estaria relacionado à baixa taxa de nucleação dos TAGs na presença destes lipídios minoritários (RIINER, 1970; WATANABE *et al.*, 1992). A adição de DAGs, como o

dipalmitoilglicerol, o dioleoilglicerol e o palmitoiloleoilglicerol ao óleo de palma (PO), retardou o processo de nucleação e crescimento dos seus cristais (SIEW e NG, 1999). Por outro lado, a adição de dipalmitoilglicerol à oleína de palma acelerou a cristalização dos seus TAGs, enquanto que a adição de palmitoiloleoilglicerol promoveu um efeito contrário (SIEW e NG, 1996). Deste modo, a influência de DAGs no comportamento de cristalização dos TAG parece depender do tipo de DAGs e TAGs envolvidos neste evento.

A baixa taxa de nucleação do RPO também foi atribuída às interações entre a oleína e estearina de palma. A alta energia livre de ativação seria acompanhada pelo aumento da energia livre interfacial entre o cristal e a parte líquida do óleo de palma (NG, 1990).

Outros estudos mostraram que mesmo com a retirada de DAGs, o tempo da transição polimórfica de α para β' permaneceu relativamente grande, indicando a possível influência da presença de TAGs monoinsaturados e diinsaturados e da proporção dos TAGs simétricos na lenta transição polimórfica (BERGER e WRIGHT, 1986).

Apesar do RPO representar um sistema multicomponente, sendo encontrados mais de 22 tipos diferentes de TAGs na sua composição, a sua caracterização por calorimetria diferencial de varredura (DSC), realizada em estudo de Ng (1990), revelou eventos de cristalização relativamente simples, com dois picos de alto e de baixo pontos de fusão, relacionados aos componentes do óleo de palma, respectivamente, à estearina (*hard palm*) e à oleína.

As isotermas de cristalização de RPO, obtidas a 25°C por Ng e Oh (1994) através do espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN), mostraram um comportamento sigmoidal condizente com o modelo de Avrami.

2.3. Emulsificantes

2.3.1. Introdução

Os emulsificantes são aditivos funcionais extensivamente utilizados pela indústria de alimentos para melhorar textura, estabilidade, volume, maciez, aeração, homogeneidade, agregando qualidade aos produtos (MADSEN, 1987; HADJUKO *et al.*, 2011).

Em chocolates, esses aditivos podem atuar inibindo o *fat bloom*, que corresponde à recristalização da gordura na superfície do produto, visível a olho nu, promovendo mudanças na morfologia dos cristais de gordura (GARTI, 2002; MAHUNGU e ARTZ, 2002; FAERGEMAND e KROG, 2006).

Os emulsificantes agem através de um grupo hidrofílico na sua estrutura que é atraído pela fase aquosa, e geralmente um grupo lipofílico que tem afinidade com a fase oleosa. Assim, atuam na interface das emulsões água em óleo (A/O) ou óleo em água (O/A), com a finalidade de diminuir a tensão superficial. A Figura 2 ilustra alguns grupos hidrofílicos e lipofílicos típicos encontrados nos emulsificantes (HASENHUETTTL, 1997).

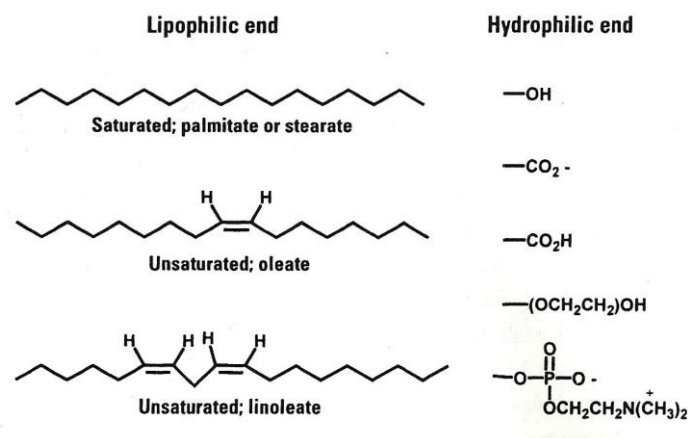


Figura 2. Grupos hidrofílicos e lipofílicos típicos dos emulsificantes (Fonte: HASENHUETTTL, 1997).

Em geral, o grupo lipofílico é composto pelos ácidos graxos láurico (C12:0), mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oléico (C18:1), linoléico (C18:2) e linolênico (C18:3). O grupo hidrofílico, por sua vez, é geralmente composto por grupos hidroxílicos ou carboxílicos (HASENHUETTL, 1997; GARTI, 2002).

A maioria dos emulsificantes é derivada dos mono e diacilgliceróis ou de álcoois. As classes mais utilizadas em alimentos são: os mono e diacilgliceróis, os mono e diacilgliceróis acetilados, os mono e diacilgliceróis fosfatados, os ésteres de propilenoglicol, os ésteres de sorbitana, os ésteres de sacarose, os ésteres de poliglicerol, os ésteres de lactato e a lecitina (HASENHUETTL, 1997; O'BRIEN, 2009c).

2.3.2. Conceito de HLB

Uma ferramenta conceitual bastante útil para análise e aplicação dos emulsificantes é o Balanço Hidrofílico/Lipofílico (HLB). Trata-se de um valor calculado para cada emulsificante, com base no número e na polaridade dos grupos polares presentes na sua molécula, o que indica se a molécula será mais solúvel em água ou em óleo. Altos valores de HLB estão associados com a maior facilidade de solubilização em água e, portanto, emulsificantes com altos valores de HLB são utilizados para preparar e estabilizar emulsões óleo em água (O/A). Emulsificantes com baixos valores de HLB são utilizados em formulações de água em óleo (A/O), como margarinas. Valores extremos de HLB (muito altos ou muito baixos) não permitem funcionalidade para os emulsificantes, pois estes se solubilizam quase que por completo na fase contínua. Por outro lado, valores intermediários de HLB permitem aos emulsificantes permanecer em altas concentrações nas interfaces, justificando a sua funcionalidade (HASENHUETTL, 1997).

2.3.3. Mecanismos de atuação dos emulsificantes na cristalização de óleos e gorduras

Um mecanismo bastante aceito para atuação dos emulsificantes na cristalização de óleos e gorduras indica que estes aditivos poderiam atuar como heteronúcleos, acelerando a taxa de nucleação como impurezas ou como gérmens de cristalização, e durante o crescimento do cristal, seriam adsorvidos na sua superfície impedindo a incorporação de TAGs adicionais, limitando assim o crescimento cristalino e alterando a morfologia dos cristais. Palmitato e estearato de sacarose agiram como heteronúcleos para a cristalização de óleo de palmiste disperso em uma emulsão de água em óleo (AWARD e SATO, 2002).

Estudos indicam que TAGs presentes nos óleos e nas gorduras e os emulsificantes seriam capazes de se co-cristalizarem devido à similaridade das suas estruturas químicas. Em geral, quanto maior a dissimilaridade entre eles e quanto maior a massa molar do emulsificante, maior será o seu potencial inibidor na cristalização (KATSURAGI, 1999; GARTI, 1988).

De acordo com Garti (2002), a interação entre os emulsificantes e os TAGs em uma mesma fase contínua como o óleo de palma refinado (RPO), pode se dar de 3 formas distintas, de acordo com a miscibilidade do emulsificante e os TAGs: miscibilidade limitada quando o emulsificante age como impureza, resultando na formação de um cristal de gordura imperfeito e podendo promover ou retardar o crescimento dos cristais e as transições polimórficas; alta miscibilidade, que possibilita a formação de compostos moleculares; total imiscibilidade, em que o emulsificante age como gérmens de cristalização favorecendo a nucleação.

Aronhime *et al.* (1988) estudaram os efeitos de vários emulsificantes adicionados na concentração de 10% (m/m) à triestearina (SSS) e chegaram a diversas conclusões sobre os mecanismos de ação dos emulsificantes, dentre eles: (i) os emulsificantes seriam incorporados as cadeias dos hidrocarbonetos da gordura e promoveriam defeitos que colaborariam para o aumento de mobilidade dos grupos metílicos presentes no final da cadeia dos hidrocarbonetos; (ii) os

grupos hidrofílicos dos emulsificantes formariam pontes de hidrogênio com os grupos carbonílicos dos TAGs, o que impediria a transição polimórfica para β , fenômeno denominado de “Síndrome de Button”; (iii) a presença dos emulsificantes não determinaria qual polimorfo seria formado, mas afetando a mobilidade das moléculas, influenciaria nas mudanças configuracionais das formas polimórficas. Além disso, segundo os autores, os emulsificantes agiriam sobre a porção líquida da gordura, modulando o fenômeno de *fat bloom*.

2.3.4. Efeitos dos emulsificantes na cristalização de óleos e gorduras

Em gorduras produzidas comercialmente, como os *shortenings* e as margarinas, se deseja obter cristais de gordura na forma β' . A estabilidade desta forma polimórfica é um dos maiores interesses dos fabricantes de produtos com alta fração gordurosa (LARSSON, 1986).

Oh *et al.* (2005) estudaram os efeitos da adição de 5% (m/m) de poliésteres graxos de sacarose (laurato de sacarose, miristato de sacarose, palmitato de sacarose, estearato de sacarose e o oleato de sacarose) à SSS. Os estearatos de sacarose foram os únicos que resultaram em um retardo significativo na transição polimórfica de α para β , devido à maior similaridade dos AGs destes emulsificantes com os AGs presentes na SSS. A adição de poliésteres do ácido esteárico com maior número de AGs esterificados na molécula de sacarose retardou mais eficientemente a transição polimórfica da forma α para a forma β do que a adição de poliésteres com menor número de AGs esterificados (OH *et al.*, 2005).

O efeito dos ésteres de sacarose na estabilização polimórfica de SSS revelou-se dependente da estrutura química destes aditivos: do tamanho da cadeia do AG esterificado, do seu grau de saturação, da posição e do número deles esterificados na sacarose, no caso dos poliésteres (OH *et al.*, 2005).

O mesmo mecanismo da similaridade entre a estrutura química do aditivo e os TAGs foi considerada por Chaleepa *et al.*, 2010. Neste estudo, o

comportamento de cristalização de óleo de coco foi avaliado após a adição de 15% (m/m) de ácido láurico, 1% (m/m) de laurato de sacarose e 1% (m/m) de estearato de sacarose. Os resultados mostraram que os aditivos foram responsáveis pelo aumento do tempo de indução do óleo, que pode ser explicado pelo aumento da energia de Gibb's. Este efeito inibitório da nucleação foi relativamente menor para as amostras com o ácido láurico e com o laurato de sacarose. Segundo os autores, esse efeito foi devido à maior similaridade entre estes aditivos e os AGs predominantes no óleo de coco (ácidos láuricos). Além disso, os aditivos promoveram mudanças na morfologia dos cristais, apesar de não alterarem a forma polimórfica.

Outros estudos demonstraram efeitos de emulsificantes diversos. O monoestearato de propileno glicol (PGMS), adicionado mesmo em baixas concentrações (até 2% m/m) em uma emulsão O/A contendo RPO, foi capaz de aumentar a temperatura inicial de cristalização dos TAGs e de diminuir a entalpia de cristalização (KALNIN *et al.*, 2004).

Pernetti *et al.* (2007) adicionaram no óleo de girassol diferentes concentrações (6, 8 e 12% m/m) de uma mistura de emulsificantes a base de lecitina e de triestearato de sorbitana (STS). De acordo com os autores, o STS seria o responsável pela formação da estrutura cristalina e a lecitina atuaria modificando o hábito cristalino, favorecendo a formação dos cristais de crescimento do tipo agulha ou do tipo disco.

2.3.5. Ésteres de ácidos graxos de sorbitana

2.3.5.1. Formação e estrutura química

Ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES) correspondem a uma classe de emulsificantes não-iônicos de grande emprego na indústria de alimentos, e estão reconhecidamente entre os mais seguros, utilizados não somente na indústria de alimentos como também na área de cosméticos, têxtil e na indústria farmacêutica. São derivados de uma reação entre sorbitol e uma variedade de AGs disponíveis

comercialmente. Para esta reação, os AGs de fontes vegetais como o óleo de palma (PO), o óleo de soja, o óleo de canola e o óleo de girassol são usados com muito mais frequência do que os AGs de fontes animais (COTTRELL e VAN PEIJI, 2004).

O sorbitol pertence ao grupo de compostos denominado alcoóis de açúcar ou polióis, sendo produzido a partir da hidrogenação da sacarose. A reação de síntese dos ES ocorre sob altas temperaturas e sob ação de um catalisador, como o ácido fosfórico, e as moléculas de sorbitol sofrem desidratação, perdendo moléculas de água e se ciclizando, originando a sorbitana e o isosorbide. Simultaneamente, ocorrem as reações de esterificação dos AGs. Utiliza-se uma mistura de AGs que contém geralmente os ácidos láurico, palmítico, esteárico e oléico. (MAHUNGU e ARTZ, 2002; COTTRELL e VAN PEIJI, 2004; STAUFFER, 2005).

A estrutura de um ES pode ser visualizada na Figura 3. A Tabela 6 mostra os valores de HLB para os diferentes ES. Esses valores, por serem baixos (abaixo de 9), demonstram o caráter lipofílico destes emulsificantes. Quanto maior for o tamanho da cadeia do éster de ácido graxo, menor será o valor do HLB do ES e assim mais hidrofóbica será a molécula (COTTRELL e VAN PEIJI, 2004). Dentre os ES mais conhecidos e utilizados na indústria estão os ésteres dos ácidos láurico, palmítico, esteárico e oléico (HASENHUETTL, 1997).

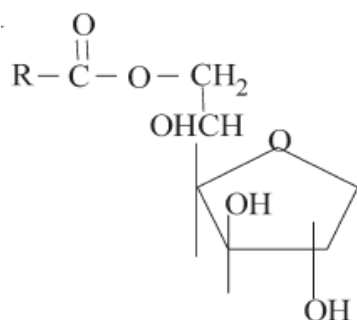


Figura 3. Estrutura química de um monoéster de ácido graxo de sorbitana. Para poliésteres de sorbitana, alguns dos grupos hidroxilas (OH) são esterificados com ácidos graxos (R) (Fonte: GARBOLINO *et al.*, 2005).

Tabela 6. Nomenclatura, nome comercial (*SPAN*) e características físicas dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana mais comumente utilizados (Fonte: adaptado de COTTRELL e VAN PEIJI, 2004).

Nome	Nome comercial	Estado físico (25°C)	HLB (±1)
Monolaurato de sorbitana (SMLa)	<i>SPAN 20</i>	Líquido	8.6
Monopalmitato de sorbitana (SMP)	<i>SPAN 40</i>	Sólido	6.7
Monoestearato de sorbitana (SMS)	<i>SPAN 60</i>	Sólido	4.7
Monooleato de sorbitana (SMO)	<i>SPAN 80</i>	Líquido	4.3
Triestearato de sorbitana (STS)	<i>SPAN 65</i>	Sólido	2.1

A denominação comercial *SPAN* para os ES teve origem em 1938 com a companhia *Atlas Powder*, predecessora da atualmente conhecida *ICI America*, empresa fornecedora de emulsificantes. Embora o nome *SPAN* tenha sido registrado como um nome comercial é muito comum encontrarmos esta denominação na literatura (COTTRELL e VAN PEIJI, 2004).

Os SPANS ou ES são efetivos no controle do *fat bloom* em chocolates que apresentam tanto a manteiga de cacau como os seus substitutos. Esses aditivos alteram a estrutura cristalina, retardando ou inibindo a transição polimórfica

(GARTI, 2002). O monoestearato de sorbitana (SMS) pode ser utilizado na elaboração de sorvetes, por conferir ótima aeração, brilho e estabilidade (STAUFFER, 2005).

A Resolução RDC nº 23, de 15 de fevereiro de 2005, aprova o uso de *aditivos alimentares estabelecendo suas funções e limites máximos para a categoria de alimentos óleos e gorduras, subcategoria creme vegetal e margarinas*. Segundo a resolução podem ser adicionados até 1% (m/m) de monolaurato de sorbitana (SMLa - INS 494), monopalmitato de sorbitana (SMP - INS 495), monoestearato de sorbitana (SMS - INS 491), triestearato de sorbitana (STS - INS 492) e monooleato de sorbitana (SMO - INS 494) no produto (ANVISA, 2011). O índice de ingestão diária aceitável (IDA) dos emulsificantes SMLa, SMP, SMS, SMO e STS é de 0-25mg/kg de peso corpóreo (JECFA, 2012).

2.3.5.2. Efeitos na cristalização de óleos e gorduras

Estudos envolvendo os ES identificaram um efeito significativo destes compostos na estabilidade da forma polimórfica β' em gorduras aplicadas em margarinas e em confeitos e doces (ALANDER e ERIKSSON, 1998). De acordo com Garti *et al.* (1989) citado por Smith *et al.* (2011), a adição de 10% (m/m) de SMS à triestearina (SSS) ou à mistura de 90:10 de SSS e tripalmitina (PPP) respectivamente, retardou a transição polimórfica de α para β' . Contrariamente, a adição de SMLa à SSS acelerou significativamente esta mesma transição em outro estudo, indicando que o efeito sobre a transição polimórfica pode estar relacionada à estrutura do grupo hidrofóbico presente no emulsificante (GARTI, 2002).

Outro aditivo bastante utilizado, o STS foi capaz de retardar a transição polimórfica de β_V para β_{VI} em manteiga de cacau e promoveu a transição de β' para β_V , que corresponde à forma polimórfica desejável em chocolates a base de manteiga de cacau. Sob a temperatura ideal para a transição de β_V para β_{VI} , a adição de 5% (m/m) de SMS ou de SMP promoveu a estabilização de 50% ou mais das formas β_V presentes na manteiga de cacau (SMITH *et al.*, 2011).

O STS é utilizado principalmente em gorduras substitutas do cacau (CBS) e em margarinas por seu efeito reconhecido no que se refere ao retardo na transição polimórfica de β' para β (MADISEN, 1987).

Após adição de 0,03% (m/m) de STS, o aumento do conteúdo de gordura sólida (SFC) de amostras contendo misturas de RPO e oleína nas proporções 60:40, 50:50 e 30:70 medido a 20°C, indicou que o emulsificante foi capaz de acelerar a cristalização (MISKANDAR, 2006).

Garbolino *et al.* (2005) realizaram um trabalho sobre os efeitos dos ésteres de sacarose e dos ES na cristalização e na recristalização de uma mistura de óleos contendo RPO (20,6% de RPO; 29,4% da mistura interesterificada de RPO e óleo de palmiste e 50% de óleo de girassol). Após 24 horas a 5°C, análises em microscopia de luz polarizada mostraram a formação de cristais de morfologia globular na amostra sem emulsificantes, e uma rede cristalina homogênea de pequenos cristais na amostra com adição de palmitato de sacarose e na amostra com adição de SMP, possivelmente devido à co-cristalização dos ésteres de ácido palmítico do emulsificante com os ésteres de ácidos palmíticos presentes nos TAGs do RPO.

Além disso, os maiores valores de dureza medidos em texturômetro foram obtidos na amostras com SMP e com SMS, seguido das amostras com palmitato e estearato de sacarose, o que comprovou que as propriedades reológicas estão estritamente relacionadas com outros fatores além do conteúdo de gordura sólida (SFC), como o tamanho dos cristais e a sua morfologia (MARANGONI e ROUSSEAU, 1999). Essa diferença na dureza determinada deve-se ao fato de que a molécula de sacarose apresenta o duplo anel polar, que poderia interferir na co-cristalização dos emulsificantes com os TAGs, prejudicando a cristalização. Quanto à recristalização, as amostras que estavam a 5°C foram armazenadas a 30°C por 2 dias e foi evidenciado o efeito inibidor dos ES quanto à formação de aglomerados de cristais de POP que foram observados na amostra sem os emulsificantes, submetida a mesma oscilação de temperatura (GARBOLINO *et al.*, 2005).

Os emulsificantes SMP, SMS, SMO e STS, dentre outros ES comerciais bastante utilizados nos mais diversos estudos em cristalização, foram analisados por HPLC para determinação da composição no que se refere às proporções de mono-, di- e triésteres de sorbitana. Foram analisadas amostras de vários fornecedores, para um mesmo ES. Nenhuma das amostras apresentou mais que 56% do monoéster de ácido graxo de sorbitana. O SMS de um fornecedor mostrou 18% de triésteres enquanto que o mesmo SMS de outro fornecedor revelou 9% de triésteres (GARTI *et al.*, 1983). Segundo Smith *et al.* (2011), a variabilidade na composição pode dificultar a comparação dos efeitos da adição desses componentes na cristalização de óleos e gorduras entre os diferentes estudos.

2.4. Espectrometria de Massas

2.4.1. Princípios da técnica

A espectrometria de massas (MS) é provavelmente uma das técnicas analíticas mais versáteis. Devido à sua precisão e sensibilidade, pode ser aplicada nas mais diversas áreas, como na física, na química, na medicina, nas ciências farmacêuticas, na geologia, na arqueologia, na ciência forense e na indústria petrolífera (DASS, 2007).

O primeiro espectro de massas de um composto de baixo peso molecular foi obtido por Joseph J. Thompson em 1912 e a partir disso a espectrometria começou um longo caminho. A técnica de espectrometria de massas difere do método de espectroscopia por considerar tanto as propriedades físicas como as propriedades químicas das moléculas (PARÉ e YAYLAYAN, 1997).

A análise de espectrometria de massas envolve 3 etapas principais: na 1ª etapa há conversão de moléculas ou átomos em espécies iônicas na fase gasosa (ionização) através da adição de um elétron ou da remoção de um próton da molécula a ser analisada. O excesso de energia transferida durante a ionização pode romper a molécula em fragmentos; na 2ª etapa ocorre a separação e análise das massas dos íons ou fragmentos ionizados com base na razão massa/carga

(m/z); estas duas primeiras etapas são conduzidas sob vácuo; na 3ª etapa há a medição do sinal de cada íon, que é amplificado e transformado em um espectro de massas. Um espectrômetro de massas é composto por uma fonte aniônica, um analisador de massas, um detector, um processador de dados, um sistema de vácuo e por unidades de controle (DASS, 2007).

Para promover uma eficiente ionização, as moléculas do analito deveriam ser deslocadas para um ambiente de forte vácuo localizado dentro do espectrômetro de massas e era imprescindível o pré-preparo das amostras para a análise, como o preparo de soluções com solventes de alto grau de pureza e com pH e concentração salina ajustados. Com a introdução do *electrospray ionization* (ESI), o analito pôde ser ionizado fora do espectrômetro, dando origem a várias outras técnicas que revolucionaram a MS, por permitirem a dessorção e ionização de moléculas em condições ambientes com pouco ou nenhum pré-preparo das amostras (ALBERICI *et al.*, 2010).

Duas das técnicas que impulsionaram a MS foram o *desorption electrospray ionization* (DESI) e *direct analysis in real time* (DART). A partir de então várias técnicas surgiram, dentre elas: *desorption atmospheric pressure photon ionization* (DAPPI), *plasma-assisted desorption/ionization* (PADI), *matrix-assisted laser desorption electrospray ionization* (MALDESI), *electrospray-assisted laser desorption ionization* (ELDI), *secondary electrospray ionization* (SESI), *paper spray ionization* (PSI), and *easy ambient sonic-spray ionization* (EASI) (ALBERICI *et al.*, 2010).

2.4.2. EASI-MS

A MS teve um enorme avanço com o desenvolvimento da técnica *sonic spray ionization* (SSI) por Hirabayashi *et al.* (1994). Ele e os demais autores do estudo descobriram por acaso que gotículas carregadas e íons gasosos ($[M + H]^+$ ou $[M - H]^-$) poderiam ser produzidos a temperatura ambiente, sem uso de calor ou de campo elétrico, apenas com a injeção e fluxo de gás nitrogênio. Quando a

velocidade do gás ultrapassou certo valor (velocidade sônica) as gotículas e os íons foram produzidos, sendo logo em seguida analisados.

Haddad *et al.* (2008a) mostraram que o fluxo de gotículas carregadas positivamente e negativamente poderiam dessorver e ionizar analitos presentes em matrizes ou superfícies sob temperatura ambiente, dando origem ao EASI (*Easy Ambient Sonic-spray Ionization*). A Figura 4 mostra os funcionamento da técnica.

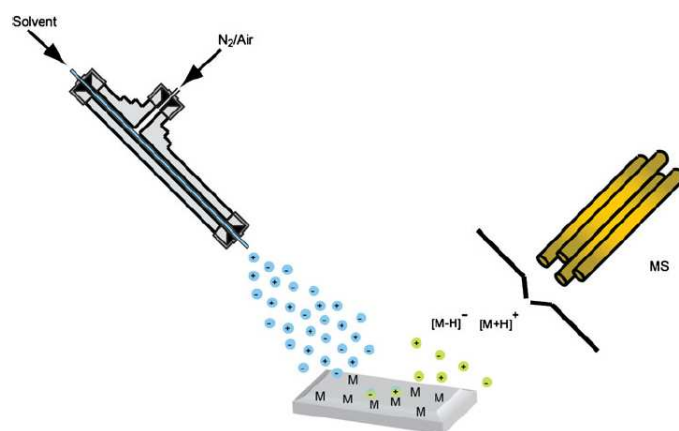


Figura 4. Diagrama esquemático da técnica EASI (Fonte: ALBERICI *et al.*, 2010).

Entre as inúmeras vantagens desta técnica estão: a simplicidade por não necessitar do preparo da amostra; a habilidade de produzir tanto gotículas carregadas positivamente quanto carregadas negativamente e a não degradação térmica do composto a ser analisado. O EASI-MS tem sido utilizado para análises de drogas em urinas, de biodiesel (HADDAD *et al.*, 2006; EBERLIN *et al.*, 2009; ALBERICI *et al.*, 2010) e de perfis de TAGs e AGs de óleos vegetais visando a sua autenticidade e o controle de qualidade, colaborando para a averiguação de possíveis adulterações, oxidação e hidrólise (ALBERICI *et al.*, 2010).

3. Objetivo

O presente estudo visou determinar a composição de vários ES comerciais e verificar se o comportamento de cristalização do óleo de palma refinado (RPO) adicionado dos emulsificantes, avaliado por várias técnicas analíticas, foi influenciado por possíveis diferenças na composição dos ES.

4. Material e Métodos

4.1. Material

4.1.1. Matérias-primas

O óleo de palma refinado (RPO) foi fornecido gentilmente pela empresa Agropalma (Brasil) e as amostras comerciais dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES), monolaurato de sorbitana (SMLa), monopalmitato de sorbitana (SMP), monoestearato de sorbitana (SMS) e monooleato de sorbitana (SMO) foram fornecidas pelas empresas, Croda (Inglaterra), Lipo Chemicals Inc. (EUA), Sigma Aldrich (EUA), Oxiten (Brasil) e Tanquímica (Brasil). As especificações dos ES se encontram nos Anexos. Cada fornecedor dos emulsificantes recebeu uma letra de identificação (A, B, C, D ou E) para facilitar o manuseio dos dados e a discussão dos resultados.

4.1.2. Equipamentos

Os equipamentos e instrumentos utilizados para as análises foram:

- a) Cromatógrafo líquido (Perkin Elmer, LC-250) com detector de índice de refração Sicon Analytic;
- b) Cromatógrafo gasoso capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System);
- c) Espectrômetro de ressonância magnética nuclear (Bruker, PC 120 Minispec) com banho seco (Duratech, TCON 2000);

- d) Espectrômetro de massas quadrupolo (Shimadzu, LC/MS 2010) equipado com uma fonte EASI;
- e) Calorímetro diferencial de varredura (TA Instruments, Q2000);
- f) Microscópio de luz polarizada (Olympus, BX 51) acoplado a câmera de vídeo digital (Media Cybernetics);
- g) Analisador de textura TA-XT (Stable Micro Systems);
- h) Câmara com temperatura controlada (BOD - Tecnal, TE-381);
- i) Forno microondas (Panasonic);
- j) Balança analítica (Ohaus, AR 2140);
- k) Balança semi-analítica (Shimadzu, EB-330H);
- l) Placa de aquecimento (Ika, RH basic 1);
- m) Termômetro de vidro;
- n) Pipetas descartáveis;
- o) Tubos de vidro ($\varnothing = 1,8\text{mm}$) com tampa;
- p) Tubos de vidro de 1,5ml com tampa;
- q) Béqueres de 50ml;
- r) Secador portátil de ar quente.

4.2. Métodos

Para análises de óleo de palma refinado (RPO) e dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES):

- a) Composição em ácidos graxos

Foi realizada por cromatografia gasosa, após esterificação segundo a metodologia descrita por Hartman e Lago (1973). Os ésteres metílicos foram separados de acordo com o método Ce 1f-96 da *American Oil Chemists' Society* (AOCS, 2009) em cromatógrafo gasoso capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System), dotado de coluna capilar DB-23 AGILENT (50% cianopropil - metilpolisiloxano, dimensões 60 m, $\varnothing_{\text{int}} = 0,25$ mm e 0,25 μm de filme). Condições de análise: temperatura do forno = 110-215°C e 215°C/24min; temperatura do detector = 280°C; temperatura do injetor = 250°C; gás de arraste hélio; razão split = 1:50; volume injetado = 1,0 μL . A composição qualitativa foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos (AGs).

b) Teor de ácidos graxos livres

A análise do teor de ácidos graxos livres foi conduzida segundo o método AOCS Ca 5a-40 (2009).

c) Índice de saponificação

Este índice foi calculado segundo o método AOCS Cd 3a-94 (2009), tendo como base para os cálculos a composição em ácidos graxos (AGs) determinada experimentalmente.

d) Índice de iodo calculado

Este índice foi determinado de acordo com o método AOCS Cd 1c-85 (2009), tendo como base para os cálculos a composição em ácidos graxos (AGs) determinada experimentalmente.

e) Índice de peróxido

Este índice foi determinado segundo o método AOCS Cd 8b-90 (2009).

f) Composição triacilglicerólica

Foi obtida através de cromatógrafo gasoso capilar (CGC Agilent 6850 Series GC System), utilizando coluna DB-17HT Agilent Catalog: 122-1811 (50% -

fenil-metilpolisiloxane, com dimensões de 15 m, $\varnothing_{int} = 0,25$ mm e 0,15 μ m de filme). Condições de operação: Fluxo coluna = 1,0 mL/min; temperatura do detector = 375°C; temperatura do injetor = 360°C; temperatura do forno = 320 para 340°C sob taxa de 2°C/min e 340°C por 80 minutos; gás de arraste hélio; volume injetado = 1,0 μ L; split = 1:100. As amostras foram preparadas na concentração de 10mg/ml utilizando o solvente tetrahidrofurano (THF) de grau analítico. Os grupos de triacilgliceróis (TAGs) foram identificados segundo Antoniosi *et al.* (1995).

g) Lipídios minoritários – Foram determinados pela técnica de cromatografia de exclusão por tamanho (HPSEC) através de cromatógrafo líquido (Perkin Elmer, LC-250) de acordo com Dobarganes *et al.* (2000). O detector de índice de refração utilizado foi o Sicon Analytic e as colunas foram a 1 – PL gel 300 x 7,5mm, 5 μ , 500 Å e 2 – PL gel 300 x 7,5mm, 5 μ , 100 Å. Fase móvel utilizada, THF de grau analítico; fluxo de 1mL/min e volume injetado = 20 μ l. As amostras foram preparadas na concentração de 10mg/ml utilizando o THF de grau analítico.

h) Composição dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES)

Os ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES) foram diluídos em isopropanol, de grau analítico, na concentração de 0,2g/ml e deixados em banho-maria na temperatura de 60°C por 5 minutos para completa dissolução. Em seguida, 2 μ l das amostras foram pipetados em um papel e submetidos à análise de EASI-MS. O espectro foi obtido no modo positivo usando um espectrômetro de massas quadrupolo (LC/MS 2010, Shimadzu) equipado com uma fonte EASI (HADDAD *et al.*, 2006; HADDAD *et al.*, 2008b). As condições da análise foram: nebulizador de gás N₂ com vazão de 3L/min, ângulo de superfície de ~30°C e metanol sob vazão de 20 μ l/min. O espectro de massas foi obtido com a razão massa/carga entre 300 e 1000 no modo positivo. As análises foram realizadas em triplicata.

Foi elaborada uma matriz com todas as massas molares possíveis dos ES considerando os AGs láurico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico, que geralmente são os AGs utilizados na reação de produção dos ES (MARKLEY,

1961). Estes AGs são esterificados em uma unidade, duas e três na molécula de sorbitana (mono-, di, triésteres ácidos graxos de sorbitana) a partir dos seus grupos hidroxila.

Aos valores das massas molares dos ES e das suas formas mono-, di- e triésteres foram somados os valores das massas dos átomos de sódio (Na) ou de potássio (K) devido à ionização. Com estes valores obtidos foram localizados os íons de interesse pela relação massa/carga (m/z) nos espectros. São geralmente obtidas tanto a intensidade absoluta quanto a relativa referente ao maior sinal obtido dentre as moléculas ionizadas e, portanto, para título de comparação dos sinais entre as amostras de ES, os dados foram normalizados.

Para o preparo das amostras:

Como o óleo de palma refinado (RPO) apresenta duas frações visíveis (oleína e estearina) à temperatura ambiente, a amostra de 20Kg cedida pela Agropalma foi inicialmente fundida a 80°C em banho maria e então transferida para uma panela de aço inox, em banho maria, para homogeneização. Em seguida, a amostra foi fracionada e armazenada em potes plásticos de 5kg.

Para o preparo das amostras com diferentes concentrações de ES (0,5% m/m e 3% m/m) pesou-se o RPO em frascos de vidro com tampa em balança analítica (Ohaus, AR 2140) e em seguida foi adicionada a quantidade previamente calculada do emulsificante. Após a adição dos emulsificantes, as amostras foram mantidas em agitação e sob aquecimento (a 60°C), através da placa de aquecimento (Ika, RH basic 1), durante 5 minutos, para completa solubilização dos ES.

Para a avaliação do comportamento de cristalização:

O comportamento de cristalização de RPO foi avaliado antes e após a adição dos emulsificantes, através das técnicas descritas a seguir.

a) Conteúdo de gordura sólida

Foi determinado por método direto através da técnica de ressonância magnética nuclear (RMN) por meio de espectrômetro de ressonância magnética nuclear (Bruker, PC 120 Minispec) com banho seco (Duratech, TCON 2000), segundo metodologia da AOCS Cd 16b-93 (2009). Os tubos de vidro ($\varnothing = 1,8\text{mm}$) foram preenchidos com as amostras até se atingir a altura de 4cm e foram conduzidos ao forno microondas (Panasonic) para fusão a 70°C (destruição completa da memória cristalina). Em seguida foram inseridos no banho seco (Duratech, TCON 2000) a 60°C por 1 hora. Como o óleo de palma (PO) é classificado como uma gordura não estabilizada, não houve necessidade de fazer temperagem. Após o período de 1 hora a 60°C, os tubos foram colocados na temperatura de 10°C e permaneceram nesta temperatura durante 30 minutos, quando as leituras para a obtenção dos dados de conteúdo de gordura sólida (SFC) das amostras foram iniciadas. As leituras foram feitas a cada 30 minutos nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45°C. As análises foram realizadas em triplicata.

b) Isoterma de cristalização

As amostras foram mantidas em banho seco (Duratech, TCON 2000) a 70°C para completa destruição da memória cristalina. Em seguida, foram submetidas à cristalização isotérmica a 25°C, com leituras automáticas do conteúdo de gordura sólida (SFC), realizadas a cada 60s, no espectrômetro de ressonância magnética nuclear (Bruker, PC 120 Minispec) até se atingir o teor máximo de gordura sólida ($\text{SFC}_{\text{Máx}}$). As análises foram realizadas em duplicata.

Com os dados de SFC obtidos ao longo do tempo, foram determinados o tempo de indução (τ) ou de nucleação, considerado como o intervalo de tempo contado a partir do início da leitura até o instante em que se inicia o aumento constante no valor do SFC, relacionado ao início do processo de cristalização e o SFC_{Máx} (%) atingido. Além destes parâmetros, aplicou-se a equação linearizada de Avrami para obtenção dos parâmetros n e k :

$$\frac{\text{SFC}}{\text{SFC}_{\text{Máx}}} = 1 - e^{-kt^n}$$

c) Comportamento térmico

Os eventos de cristalização foram obtidos pela técnica de calorimetria diferencial de varredura (DSC), através do calorímetro diferencial de varredura (TA Instruments, Q2000) e de acordo com o método AOCS Cj 1-94 (2009) modificado. As condições de análise foram: 80°C por 10min, 80°C até -40°C à taxa de resfriamento de 2°C/min ou 10°C/min e -40°C por 30min. A massa da amostra foi de aproximadamente 10mg. Através do aplicativo Universal Analysis 2000 (TA Instruments), foram determinadas: a temperatura de pico (T_{pc}) e a temperatura onset (T_{oc}), em graus Celsius (°C), assim como a entalpia de cristalização (ΔH_c), em J/g e a intensidade de pico (I) em W/g. As análises foram conduzidas em triplicata.

d) Microestrutura

As amostras foram fundidas à temperatura de 70°C no forno microondas (Panasonic). Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida com secador portátil de ar quente para temperatura controlada (semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), que foi então em seguida coberta com uma lamínula. As lâminas foram mantidas em câmara com temperatura controlada (BOD) a 25°C por 3 horas. A

morfologia dos cristais foi visualizada através do microscópio de luz polarizada (Olympus, BX 51) acoplado a câmera de vídeo digital (Media Cybernetics). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida a 25°C. As imagens foram capturadas utilizando luz polarizada e com ampliação de 40x através do aplicativo Image Pro-Plus versão 7.0 (Media Cybernetics). As análises foram realizadas em duplicata e foram selecionados três campos visuais das lâminas para a determinação dos parâmetros diâmetro médio (μm) e área cristalizada (%), com o uso do aplicativo.

e) Consistência

Foi determinada através do equipamento analisador de textura TA-XT2 (Stable Micro Systems) segundo o método AOCS Cc 16-60 (2009). As amostras foram condicionadas em béqueres de 50mL e armazenadas em câmara com temperatura controlada (BOD - Tecnal, TE-381) a 5°C por 24 horas. Após este período, foram mantidas por um período de 24 horas nas diferentes temperaturas de análise: 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Foi utilizado cone acrílico com ponta não truncada de ângulos de 45° (RODRIGUES *et al.*, 2003).

As análises foram operadas nas seguintes condições: distância = 10mm; velocidade = 2mm/s; tempo = 5s. Foram realizadas em triplicata. A partir destas condições, foi obtido o valor de W, que é a força de compressão em (gf). Os dados de penetração foram então convertidos em *yield value*, conforme Haighton (1959):

$$C = \frac{K \times W}{p^{1,6}}$$

Onde: C = *yield value*, in gf/cm^2 ; K = fator dependente do ângulo do cone (igual a 4700 para o cone de 45°); W = força de compressão (gf); p = profundidade de penetração (10mm/0,1mm).

Para a análise estatística dos resultados:

A análise de variância (ANOVA) e o Teste de Tukey, para determinar as diferenças significativas a 5% ($p < 0,05$), foram realizados utilizando o software Statistica versão 7.0 (Stat Soft Inc, EUA).

5. Discussão

5.1. Composição de óleo de palma refinado

A Tabela 7 apresenta a composição AGs da amostra de óleo de palma refinado (RPO). Os ácidos palmítico e oléico foram os AGs predominantes, que corresponderam a 83,07% do total de AGs presentes. O RPO apresentou proporções muito próximas de AGs saturados e de insaturados, que estão de acordo com os valores encontrados na literatura (O'BRIEN, 2009b; SABERI *et al.*, 2011). Uma quantidade ínfima do isômero trans (C18:2t) foi encontrada (0,09%), indicando ser o RPO um óleo praticamente livre de AGT.

Segundo Siew e Ng (1999) o RPO possui de 4 a 7,5% de DAGs, faixa esta que compreende o valor de 6,88% dos DAGs encontrados para a amostra de RPO do presente estudo.

Tabela 7. Composição em ácidos graxos e total de triacilgliceróis, diacilgliceróis e monoacilgliceróis do óleo de palma refinado.

	RPO	SABERI <i>et al.</i> (2011)
Ácidos graxos	(%)*	(%)
C6:0	0,01 ± 0,09	-
C8:0	0,07 ± 0,05	-
C10:0	0,06 ± 0,02	-
C12:0	0,41 ± 0,0	0,2
C14:0	0,87 ± 0,0	1,1
C15:0	0,08 ± 0,03	-
C16:0	40,95 ± 0,10	44,7
C16:1	0,13 ± 0,01	0,3
C17:0	0,12 ± 0,03	-
C17:1	0,06 ± 0,03	-
C18:0	4,89 ± 0,01	4,1
C18:1t	-	-
C18:1	42,12 ± 0,07	38,6
C18:2t	0,09 ± 0,12	-
C18:2	9,06 ± 0,0	10,3
C18:3t	-	-
C18:3	0,22 ± 0,0	0,4
C18:4	-	-
C20:0	0,39 ± 0,0	0,3
C20:1	0,17 ± 0,01	-
C22:0	0,12 ± 0,05	-
C22:1	-	-
C24:0	0,1 ± 0,01	-
C24:1	-	-
Σ Saturados	48,16	50,50
Σ Insaturados	51,84	49,5
Triacilgliceróis	93,12 ± 0,01	90,98
Diacilgliceróis	6,88 ± 0,01	9,02
Monoacilgliceróis	-	-

*Média ± desvio padrão.

Quanto à composição em TAGs de RPO (Tabela 8), foi verificada a predominância de POP (33,82%) e de POO (26,88%) e que está em concordância com os dados da literatura (ANDRIKOPOULOS, 2002; NOOR LIDA *et al.*, 2002).

Tabela 8. Composição de triacilgliceróis do óleo de palma refinado.

Grupo	TAG	RPO	ANDRIKOPOULOS (2002)	NOOR LIDA <i>et al.</i> (2002)
		(%)*	(%)	(%)
C48	PPP	7,06 ± 0,03	5,1-7,1	6,7
	MOP	1,48 ± 0,01	0,7	-
C50	PPS	1,64 ± 0,02	0,2-1,2	1,1
	POP	33,82 ± 0,05	24-36,2	30,2
	PLP	7,96 ± 0,01	6,2-10,7	9,2
C52	POS	6,13 ± 0,02	3,5-5,3	6,7
	POO	26,88 ± 0,07	23-30,4	23,3
	POL	8,51 ± 0,01	8,3-12,6	8,9
	PLL	1,03 ± 0,02	0,6-2,0	1,2
C54	SOO	2,47 ± 0,01	1,7-3,3	2,9
	OOO	3,03 ± 0,02	1,7-4,7	3,9
	OLL	-	-	0,4
	OLO	-	-	1,5
	S ₃	8,7		
	S ₂ U	56,44		
	U ₂ S	38,89		
	U ₃	3,03		

*Média ± desvio padrão. S: saturado; U: insaturado.

Esses TAGs contribuíram para o alto teor dos TAGs monoinsaturados (56,44%) e de diinsaturados (38,89%) do PO, o que afeta diretamente o seu comportamento de fusão e de cristalização. Além do POP e do POO, foram encontradas quantidades significativas dos TAGs POL (8,51%), PLP (7,96%) e de PPP (7,06%). Os TAGs trisaturados corresponderam a 8,7%, dentre os quais 7,06% foi atribuído ao PPP e 1,64% ao PPS. Este valor de 8,7% foi um pouco abaixo do valor encontrado para o mesmo óleo em outros estudos, que indicaram entre 10 e 15% (OKAWASHI e SAGI, 1985; OLIVEIRA, 2011). Esses TAGs atuam como gérmenes de cristalização (O'BRIEN, 2009c).

As análises para determinação do índice de peróxido, do índice de acidez e do teor de ácidos graxos livres foram realizadas para averiguar o estado oxidativo do RPO. Os resultados encontram-se na Tabela 9 juntamente com os dados do

índice de iodo e de saponificação, que são análises de identidade dos óleos e gorduras.

Tabela 9. Índices de caracterização do óleo de palma refinado.

Análises	Valor obtido
Índice de Acidez (mg KOH/g)	$0,2 \pm 0,01$
AGL (% de ácido palmítico)	$0,1 \pm 0,01$
Índice de Peróxido (meq O ₂ /Kg)	$1,55 \pm 0,07$
Índice de Saponificação (mg KOH/g)	$198 \pm 0,15$
Índice de Iodo (g I ₂ /100g)	$53 \pm 0,03$

Segundo a metodologia Cd 8b-90 da AOCS (2009), uma amostra sem indícios de significativa oxidação apresenta um valor entre 0 e 12 meq O₂/kg, e o valor obtido de 1,55 meq O₂/kg se encontrou nesta faixa. Este estado oxidativo também pôde ser comprovado pelos baixos valores referentes ao índice de acidez e ao teor de AGL. Os valores encontrados para os índices de saponificação (198mg KOH/g) e de iodo (53g I₂/100g) foram condizentes com os dados da literatura para o PO, que indicam, respectivamente, as faixas de 190,1 a 201,7 mg KOH/g e de 50,6 a 55,1 g I₂/100g) (BASIRON, 2005).

5.2. Composição dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana

Os ésteres de ácidos graxos de sorbitana (ES) foram analisados em espectrômetro de massas pela técnica EASI-MS no modo positivo, pois no modo negativo não foram observados picos nos espectros. A ionização no modo positivo transforma as moléculas de interesse em íons sodiados (M^{+23}) ou íons potassidados (M^{+39}). Neste estudo foi verificado um maior número de compostos sodiados, conforme os íons identificados pelas razões m/z nos espectros que apresentam a intensidade absoluta dos SMLa B, C e D e de SMS C, D e E (Figuras 5 a 10).

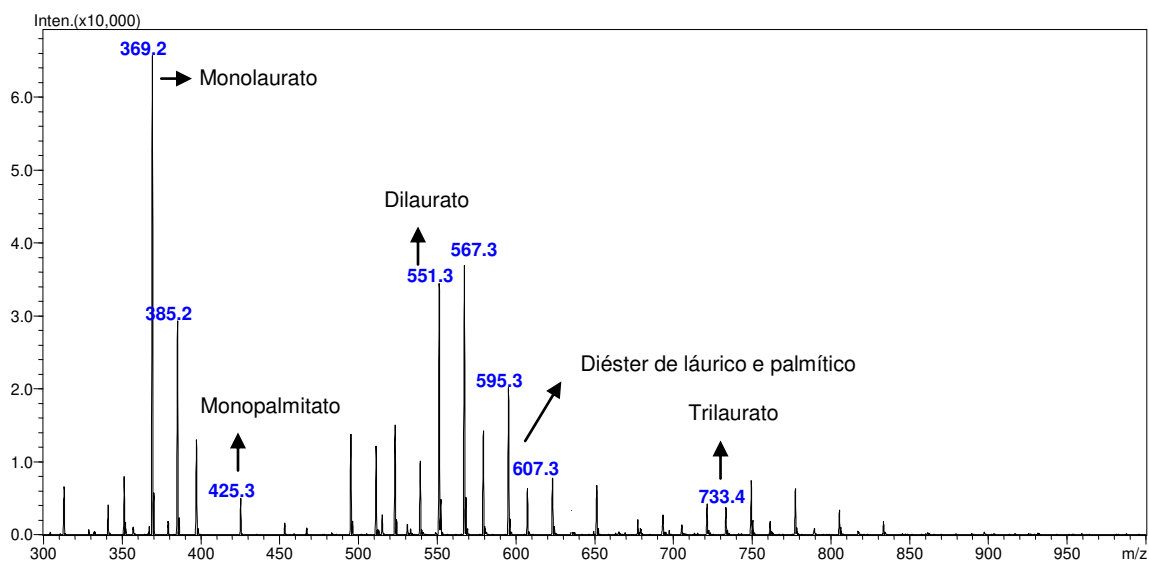


Figura 5. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor B.

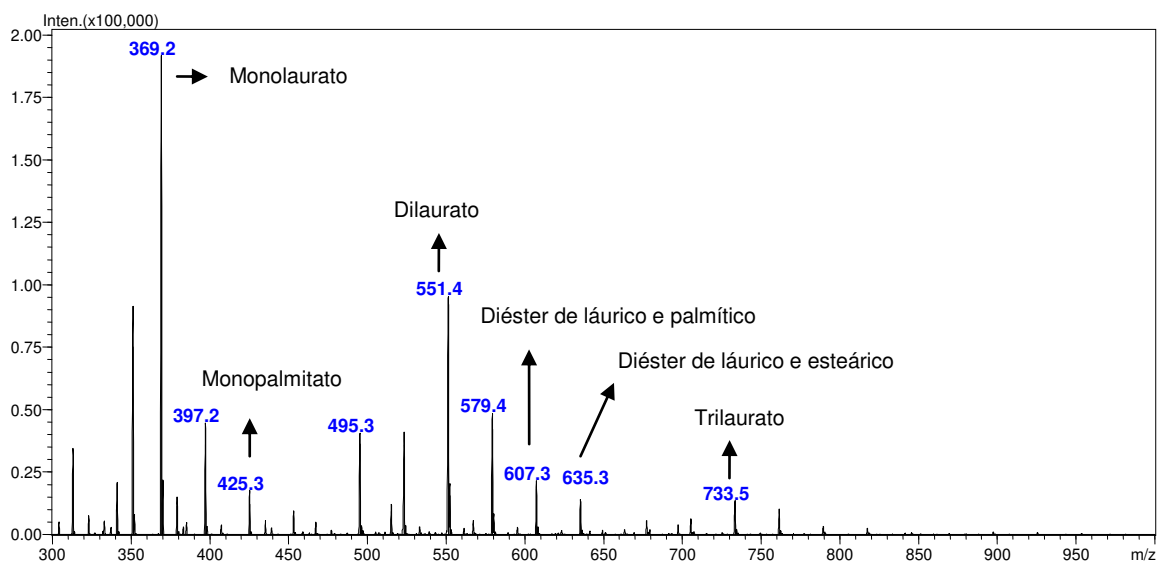


Figura 6. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor C.

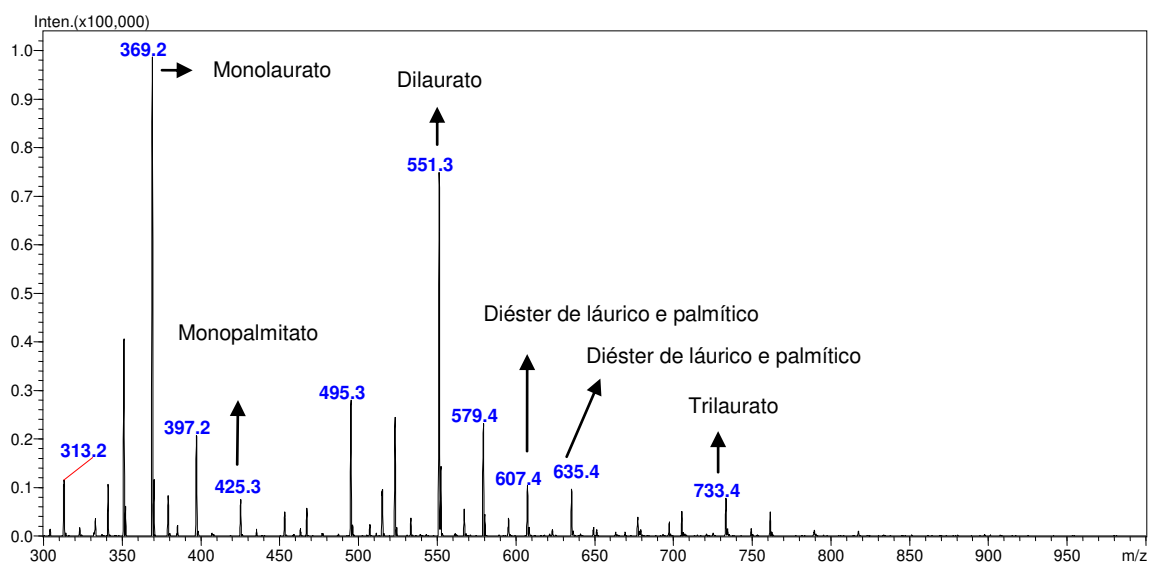


Figura 7. Espectro por EASI-MS de monolaurato de sorbitana do fornecedor D.

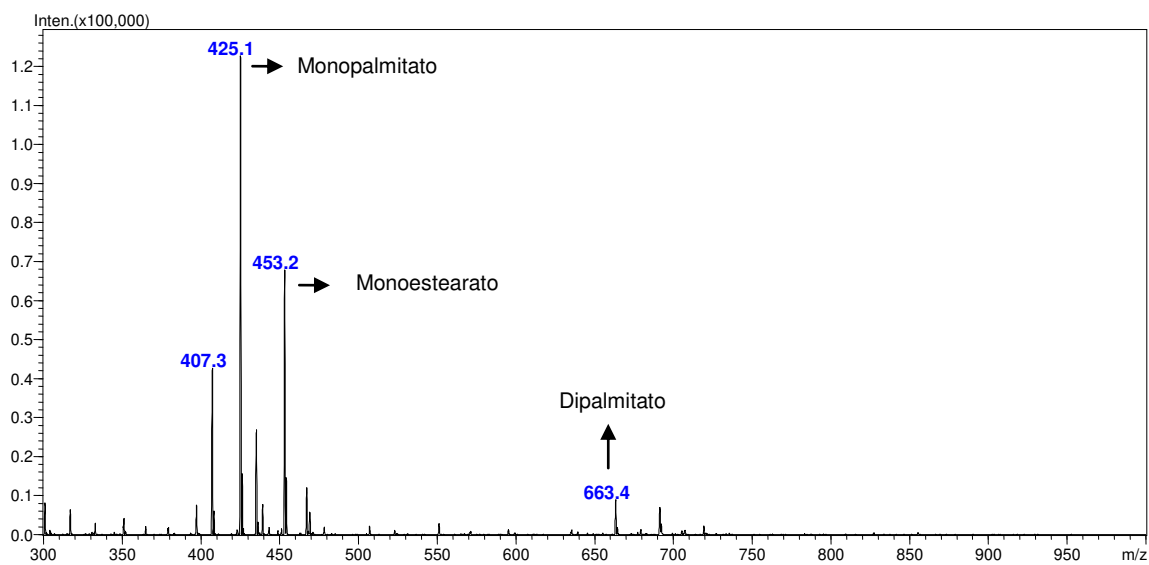


Figura 8. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor C.

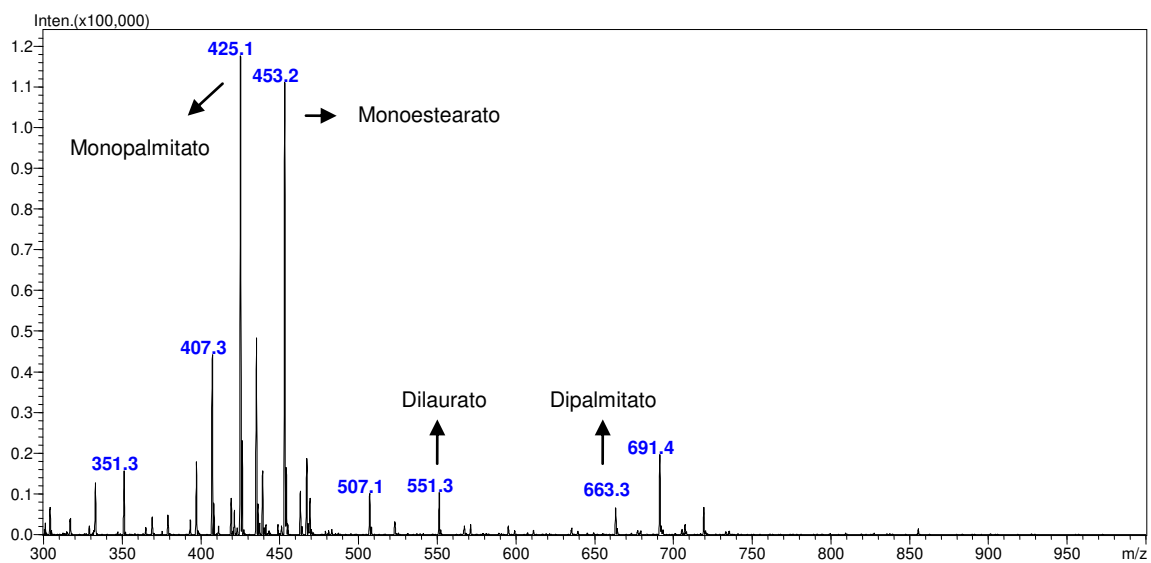


Figura 9. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor D.

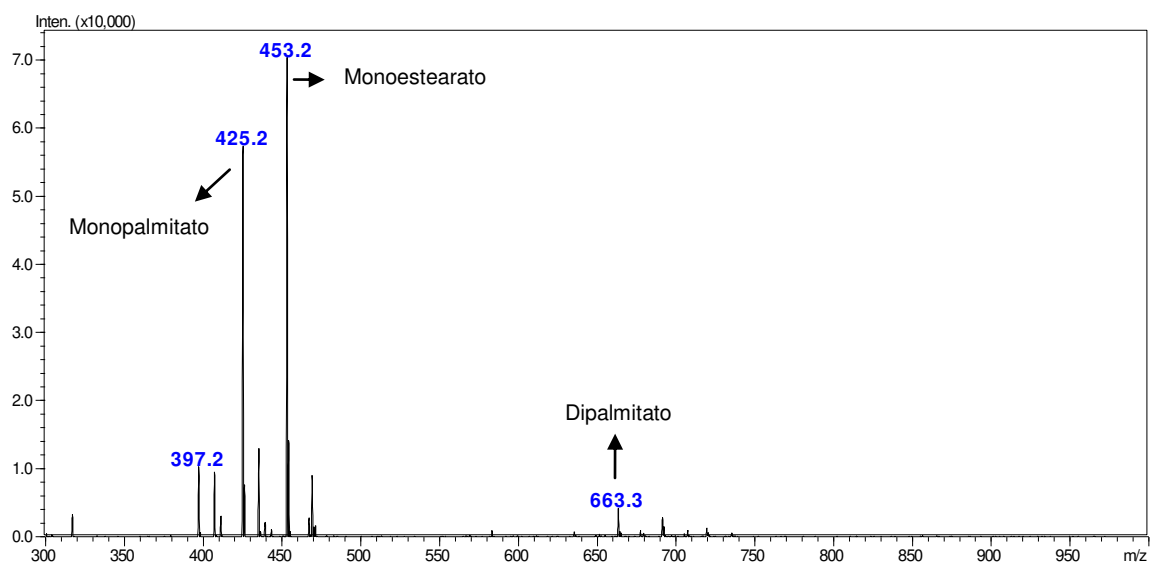


Figura 10. Espectro por EASI-MS de monoestearato de sorbitana do fornecedor E.

A facilidade de ionização de um composto determina a quantidade de íons formados a partir dele que são detectados pelo equipamento. Este fato implica em sinais de maior intensidade ou de menor intensidade obtidos no espectro com a razão massa/carga. Em geral, quanto menor o número de insaturações, maior a dificuldade de ionização da molécula e menor ou nenhum sinal é obtido visualizando-se o seu espectro (FERNANDES *et al.*, 2012).

As amostras dos ES de diferentes fornecedores possuem a mesma matriz de compostos utilizados na reação (sorbitol e ácidos graxos) e, portanto, a facilidade ou dificuldade de ionização das moléculas presentes nessas amostras pode ser considerada a mesma. Esta consideração permitiu que os sinais dos picos observados para cada amostra pudessem ser comparados entre elas e que uma quantificação relativa pudesse ser estabelecida após normalização dos valores das intensidades absolutas.

A Tabela 10 apresenta a composição em percentual de cada um dos ES. As amostras de SMLa B, C e D apresentaram respectivamente 30,22%, 51,06% e 55,55% do total de mono-, di- e triésteres de sorbitana, enquanto que as amostras de SMS C, D e E indicaram respectivamente 62,09%, 54,62% e 66,57%. Os demais compostos que completariam a composição em 100% não foram identificados, pois não condiziam às estruturas químicas esperadas para os produtos da reação de produção dos ES. Nessa reação, além de mono-, di- e triésteres de sorbitana, podem ser produzidos sorbitol, isosorbide e tetraésteres de sorbitana, cujos íons sodiados e potassiados não foram identificados em nenhum dos espectros.

Tabela 10. Massa molar dos íons sodiados e composição dos ésteres de sorbitana.

Mono-, di- e triésteres de sorbitana	[M + Na]⁺ (g/mol)	SMLa B (%)*	SMLa C (%)*	SMLa D (%)*	SMS C (%)*	SMS D (%)*	SMS E (%)*
Monolaurato de sorbitana	369	15,92 ± 3,0	26,54 ± 1,15	26,31 ± 4,10	-	-	-
Monopalmitato de sorbitana	425	1,07 ± 0,10	1,88 ± 0,14	1,59 ± 0,12	35,84 ± 3,00	27,59 ± 3,20	27,22 ± 3,30
Monoestearato de sorbitana	453	-	-	1,66 ± 0,16	23,14 ± 2,20	23,36 ± 1,20	37,45 ± 5,60
Dilaurato de sorbitana	551	10,22 ± 1,72	16,04 ± 1,10	18,58 ± 3,68	-	1,83 ± 0,20	-
Dipalmitato de sorbitana	663	-	-	-	3,12 ± 1,13	1,84 ± 0,60	1,90 ± 0,10
Diéster de ácidos láurico e palmítico de sorbitana	607	1,95 ± 0,63	3,04 ± 0,34	2,96 ± 1,06	-	-	-
Diéster de ácidos láurico e esteárico de sorbitana	635	-	1,85 ± 0,09	2,19 ± 0,32	-	-	-
Trilaurato de sorbitana	733	1,05 ± 0,13	1,70 ± 0,16	2,27 ± 0,81	-	-	-
Σ Monoésteres		16,99 ± 2,98	28,42 ± 1,2	29,56 ± 1,35	58,97 ± 2,57	50,95 ± 4,09	64,67 ± 7,49
Σ Diésteres		12,17 ± 2,26	20,94 ± 1,4	23,72 ± 2,01	3,12 ± 1,13	3,67 ± 0,69	1,90 ± 0,10
Σ Triésteres		1,05 ± 0,13	1,70 ± 0,16	2,27 ± 0,81	-	-	-
Total		30,22	51,06	55,55	62,09	54,62	66,57
n.i. **		69,78	48,94	44,45	37,91	45,38	33,43

*Média ± desvio padrão. ** n.i.: compostos não identificados.

Apesar de serem comercializados como monolauratos, nas amostras de SMLa B, C e D foram identificados picos de monopalmitato, picos de intensidade considerável do seu diéster, o dilaurato, picos de diésteres contendo os ácidos láurico, palmítico e esteárico esterificados na molécula de sorbitana e picos de trilaurato. Comparativamente, a amostra de SMLa D foi a que apresentou a maior quantidade de triésteres, relativa ao trilaurato (116,2% maior que na amostra de SMLa B e 33,52% maior que na amostra de SMLa C) e de diésteres de sorbitana, de uma maneira geral (Tabela 10). Somente na amostra de SMLa D foi identificada presença de monoestearato de sorbitana.

Nas 3 amostras de SMS (C, D e E) foram identificados picos de intensidade considerável de monopalmitato. A amostra de SMS E foi a que resultou em maior quantidade de monoestearato (61,84% a mais que na amostra de SMS C e 60,31% a mais que na amostra de SMS D). De maneira geral, o SMS E foi o que apresentou maior quantidade de monoésteres e menor quantidade de diésteres de sorbitana, mostrando ser o SMS de maior pureza, já que é comercializado como monoestearato de sorbitana.

Somente a amostra de SMS D apresentou um pico referente ao dilaurato, que não foi detectado nas demais amostras de SMS (Tabela 10).

Comparando-se a composição em mono-, di- e triésteres das amostras de SMLa e de SMS, foi verificada que a quantidade de diésteres foi expressiva nas amostras de SMLa, que também apresentaram picos de triésteres, sendo estes últimos não identificados nas amostras de SMS.

Esses resultados confirmaram a heterogeneidade na composição dos ésteres de ácidos graxos de sorbitana comerciais. Estes emulsificantes são produzidos não apenas com o ácido graxo, designado no produto, mas com base em uma mistura de ácidos graxos. Além disso, apesar de comercializados como monoésteres, os ES apresentam as suas formas diéster e triéster, dentre outros compostos, que neste trabalho não foram possíveis de ser identificados pela técnica EASI-MS.

5.3. Isotermas de cristalização

Segundo Ng e Oh (1994), a isoterma de cristalização de óleo de palma refinado (RPO), obtida por espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) na temperatura de 25°C, mostrou um comportamento sigmoidal condizente com o modelo de Avrami. A Figura 11 apresenta a isoterma de cristalização de RPO do presente estudo, realizada a 25°C pela técnica de RMN.

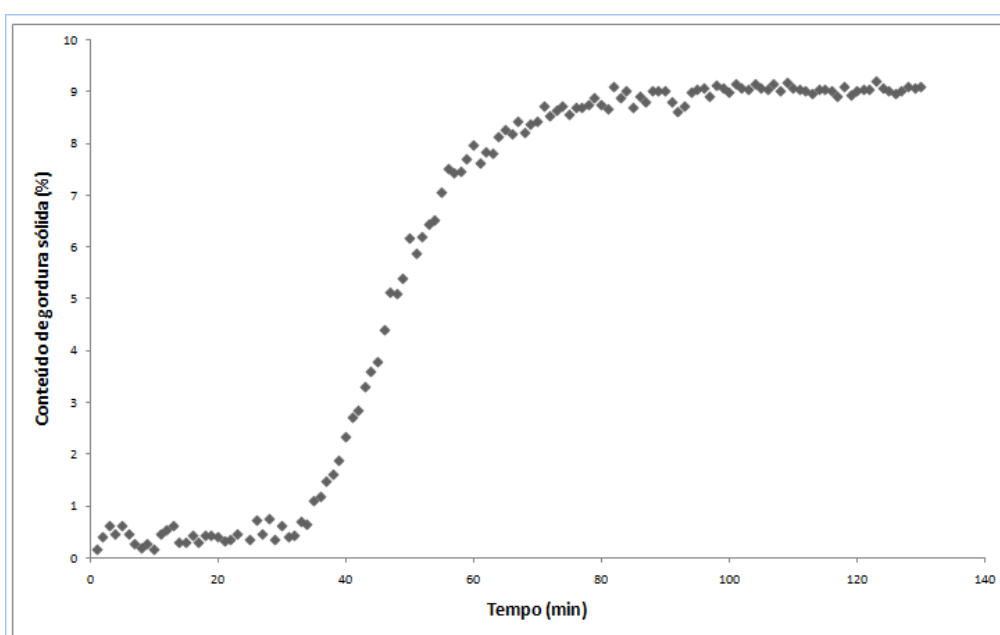


Figura 11. Isoterma de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado.

O tempo de indução médio (τ) de RPO foi de 35 minutos e o valor médio de $SFC_{Máx}$ obtido foi de 9% (Tabela 11). Um tempo de indução muito próximo, de 34 minutos, foi determinado no estudo de Oliveira (2011) com o RPO, utilizando a mesma temperatura de 25°C para a construção da isoterma. No entanto, neste mesmo estudo o $SFC_{Máx}$ encontrado foi superior, de 10,05%, que poderia estar relacionado as diferenças na composição triacilglicerólica, e mais especificamente, aos maiores teores de TAGs trisaturados.

Para um estudo preliminar da cinética de cristalização, as amostras de RPO com adição de SMLa, SMP, SMS e SMO de diferentes fornecedores, foram testadas nas concentrações de 0,5% (m/m) e de 3% (m/m), sob as mesmas condições de análise conduzidas com a amostra pura de RPO.

De modo geral, nas amostras com 3% (m/m) não houve diferenças nos efeitos dos SMLa A, B, C e D e nos efeitos dos SMO B, C e E, sendo que todos os emulsificantes retardaram o tempo de indução de nucleação. Além disso, praticamente não houve alteração no tempo de indução do RPO após adição dos SMP A e D e o mesmo ocorreu com as amostras de SMS A, B, C, D e E. Por outro lado, foi verificado um pequeno aumento no conteúdo de $SFC_{Máx}$ atingido (de 9% para valores próximos a 10%) nas amostras com os SMP e com os SMS.

Nas amostras com adição de 0,5% (m/m) dos ES, foram verificadas diferenças entre os SMLa e SMS dos diferentes fornecedores com relação ao efeito na cristalização de RPO.

Como os efeitos dos ES dos diferentes fornecedores ocorreram somente na concentração de 0,5% (m/m) em RPO, foi definida esta concentração de emulsificante para dar continuidade às demais análises para se verificar se as mesmas diferenças nos efeitos na cristalização de RPO seriam observadas. Além disso, ao invés de se trabalhar neste estudo com amostras de todos os fornecedores, foram determinados três fornecedores, levando em conta as diferenças no efeito que alguns deles tiveram na cristalização isotérmica de RPO: SMLa B, C e D e SMS C, D e E.

A amostra com adição de 0,5% (m/m) de SMLa D foi a única que resultou em um aumento substancial (128,6%) do tempo de indução de RPO (Figura 12), no menor valor da taxa de cristalização (k) e na queda substancial (33,3%) no valor de $SFC_{Máx}$ (Tabela 11), comparativamente às amostras com SMLa dos outros fornecedores.

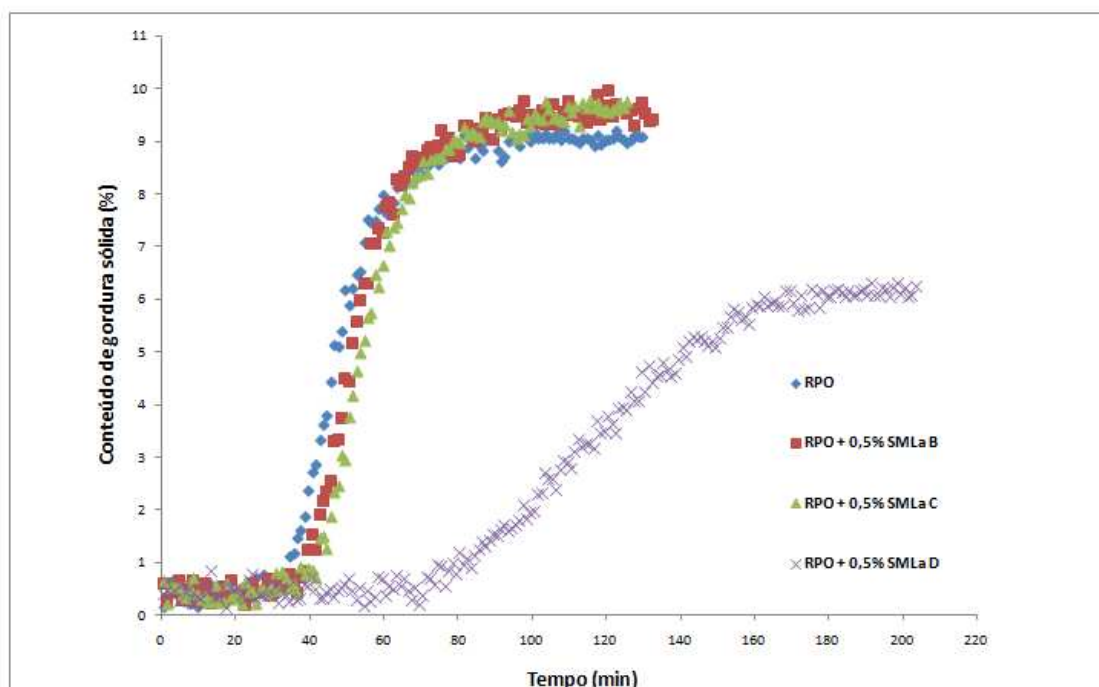


Figura 12. Isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D.

Tabela 11. Parâmetros τ , tempo de indução, $SFC_{Máx}$, teor máximo de gordura sólida, n , expoente de Avrami e k , constante de Avrami obtidos a partir das isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.

Amostra	τ (min)	$SFC_{Máx}$ (%)	n	k (min ⁻¹)	R^2
RPO	35	9,0	4,1	5,11E-08	0,94
RPO +0,5% (m/m) SMLa B	40	9,3	3,6	5,08E-07	0,91
RPO + 0,5% (m/m) SMLa C	45	9,5	3,5	2,13E-07	0,97
RPO + 0,5% (m/m) SMLa D	80	6,0	3,7	2,02E-09	0,97
RPO + 0,5% (m/m) SMS C	31	9,4	3,6	9,55E-07	0,96
RPO + 0,5% (m/m) SMS D	45	9,4	3,8	5,08E-08	0,95
RPO + 0,5% (m/m) SMS E	31	9,5	3,7	1,20E-06	0,82

No grupo dos SMS, enquanto que o SMS D promoveu o aumento de 28,6% no tempo de indução de RPO, os SMS C e E ocasionaram uma redução de 11,4%, sendo o SMS E o emulsificante que possibilitou o maior aumento da taxa de cristalização de RPO (Figura 13) verificado através do valor do parâmetro k (Tabela 11).

A redução de 11,4% no tempo de indução do RPO, promovido pela adição dos SMS C e E pode significar uma otimização nos processos industriais de fabricação dos *shortenings* elaborados com RPO. Segundo Duns (1985), a lenta cristalização de RPO é um dos fatores mais relevantes na produção de *shortenings*, sendo necessário aumentar drasticamente a taxa de resfriamento e aumentar o tempo de residência dos produtos a serem cristalizados para minimizar a lenta cristalização.

Comparando-se os valores de n (expoente de Avrami) expostos na Tabela 11 e as classificações contidas na Tabela 2 do item 2.1.2.2., considerou-se um crescimento esferulítico com nucleação esporádica para a amostra de RPO. Após a adição de 0,5% (m/m) de SMLa e de SMS dos diferentes fornecedores, pôde-se afirmar, pelos valores de n , que houve uma mistura de tipos de cristais com crescimento esferulítico e do tipo disco a partir da nucleação tanto esporádica quanto instantânea. Estas considerações serão confirmadas adiante através da análise da morfologia dos cristais, obtidos nas imagens por microscopia de luz polarizada.

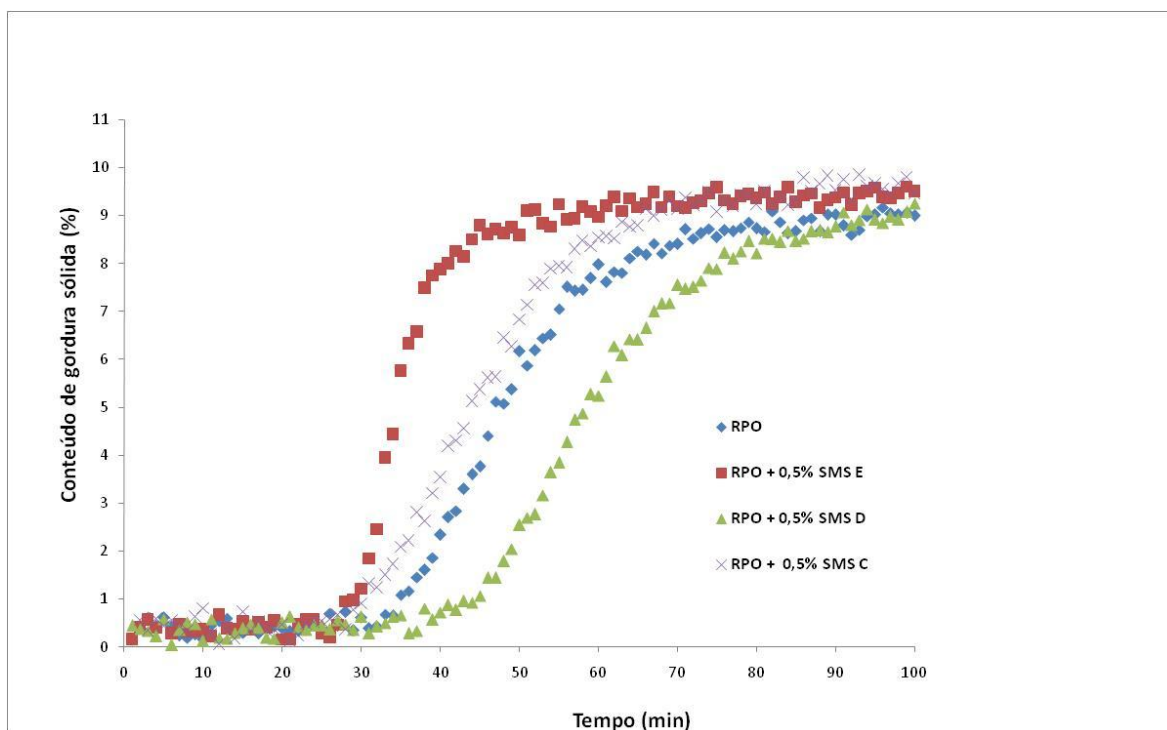


Figura 13. Isotermas de cristalização a 25°C do óleo de palma refinado sem e com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E.

Os resultados para as amostras com 0,5% (m/m) de SMLa e SMS evidenciaram que diferenças na composição química dos ES, determinadas pela análise por EASI-MS no item 5.2, foram responsáveis por alterar a cristalização isotérmica do RPO. O SMLa D apresentou maior quantidade de trilaurato (triéster) comparativamente ao SMLa B e C, o que levaria a suposição de que a presença de triésteres poderia de algum modo prejudicar a nucleação e a cristalização dos TAGs. Segundo Oh *et al.* (2005) os efeitos de emulsificantes, como os ésteres de sacarose e os ES, na cristalização de óleos e gorduras, dependem da estrutura química destes aditivos, como o tamanho da cadeia do AG esterificado e do número de AGs esterificados na molécula de sacarose ou glicerol.

Segundo os resultados obtidos por EASI-MS, o SMS E foi o emulsificante que apresentou os maiores teores dos monoésteres, em particular do monoestearato, e os menores teores de diésteres, comparativamente aos SMS C e D, o que também poderia explicar as diferenças observadas nas isotermas das amostras com estes SMS. É possível supor que quanto maior o teor de monoésteres, em detrimento ao conteúdo de diésteres, mais eficiente seria a co-cristalização com os TAGs de RPO, o que refletiria no aumento da taxa de cristalização e na diminuição do tempo de indução de RPO. Essa mesma suposição poderia explicar o efeito do SMS D em retardar o tempo de indução de RPO, pois este emulsificante foi o único, dentre os SMS, a apresentar o pico referente ao dilaurato, nos resultados obtidos da composição por EASI-MS.

O fato dos melhores resultados com relação ao tempo de indução e à taxa de cristalização terem sido observados com os SMS e não com os SMLa parece estar de acordo com estudos de Garti (1988), Katsuragi (1999) e Chaleepa *et al.* (2010) sobre a importância da similaridade da estrutura dos emulsificantes com a estrutura dos TAGs para uma eficiente co-cristalização. Segundo dados de composição de RPO descritos no item 5.1, neste óleo há predominância dos ácidos graxos (AGs) palmítico e oléico com uma quantidade pequena de esteárico, apresentando 16 e 18 unidades de carbonos, respectivamente. Estes AGs co-cristalizariam mais eficientemente com os SMS, que também apresentam os ácidos palmítico e esteárico, conforme visto na composição por EASI-MS, do que com os SMLa, que apresentam o ácido láurico (cadeia com 12 carbonos) esterificados na molécula de sorbitana.

5.4. Comportamento térmico

Os eventos de cristalização de RPO foram determinados através do equipamento de calorimetria diferencial de varredura (DSC), segundo a metodologia Cj 1-94 da AOCS, que determina a taxa de resfriamento de 10°C/min. No entanto, a esta taxa relativamente rápida de resfriamento haveria a

possibilidade dos picos resultantes estarem sobrepostos, em consequência de uma rápida cristalização dos TAGs, e por este motivo, optou-se por utilizar também a taxa mais lenta de resfriamento de 2°C/min.

Sob taxa de resfriamento de 2°C/min não foram observadas mudanças nos picos característicos de RPO, em comparação com o que foi obtido com a taxa de 10°C/min e apenas a intensidade de pico (I) diminuiu.

A Figura 14 apresenta o evento de cristalização para as triplicatas de RPO na taxa de 10°C/min. Foram observados dois picos, um pico mais estreito relacionado aos TAGs de maior ponto de fusão (pico 1), em que se incluem os TAGs trisaturados como o PPP e o PPS, e um pico mais largo, com TAGs de menor ponto de fusão (pico 2), ricos em ácidos graxos insaturados (OLIVEIRA, 2011).

Segundo Campos (2005), quando se analisam amostras puras geralmente o pico obtido é bem estreito por causa da sua estreita faixa de temperatura, o que não ocorre com amostras de sistemas complexos como os óleos vegetais, dentre eles o PO, que apresenta várias espécies lipídicas resultando em picos mais largos com diferentes temperaturas de fusão e de cristalização.

De acordo com Ng (1990) e Basiron (2005), os dois picos apresentados no evento de cristalização do PO são referentes à estearina (pico 1) e à oleína, (pico 2).

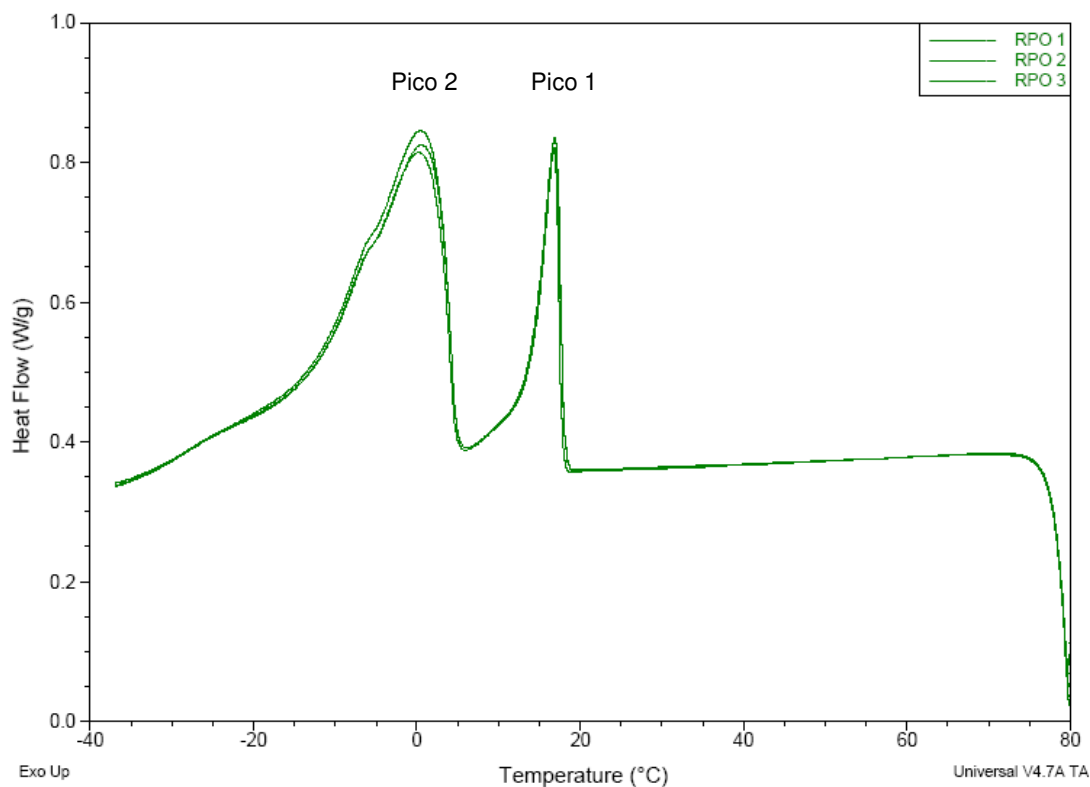


Figura 14. Evento de cristalização de óleo de palma refinado por DSC. Taxa de resfriamento de 10°C/min.

A Tabela 12 mostra a temperatura de início de cristalização (T_{oc}), a temperatura de pico de cristalização (T_{pc}), a intensidade de pico (I) e a entalpia de cristalização (ΔH_c) dos picos 1 e 2 de RPO.

Tabela 12. Parâmetros obtidos a partir do evento de cristalização de óleo de palma refinado realizado sob a taxa de resfriamento de 10°C/min por DSC.

	T_{oc} (°C)	T_{pc} (°C)		I (W/g)		ΔH_c (J/g)	
Amostra		Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2
RPO	$18,86 \pm 0,18$	$16,83 \pm 0,09$	$0,45 \pm 0,18$	$0,46 \pm 0,01$	$0,44 \pm 0,01$	$9,78 \pm 0,25$	$34,37 \pm 0,31$

*Média $\pm$ desvio padrão.

Os eventos de cristalização dos emulsificantes puros SMLa B, C e D e SMS C, D e E foram obtidos pela técnica de DSC utilizando a taxa de resfriamento de 2°C/min. A Figura 15 apresenta os eventos de cristalização dos SMLa e a Figura 16 os eventos de cristalização das amostras de RPO com adição de 0,5% (m/m) dos SMLa.

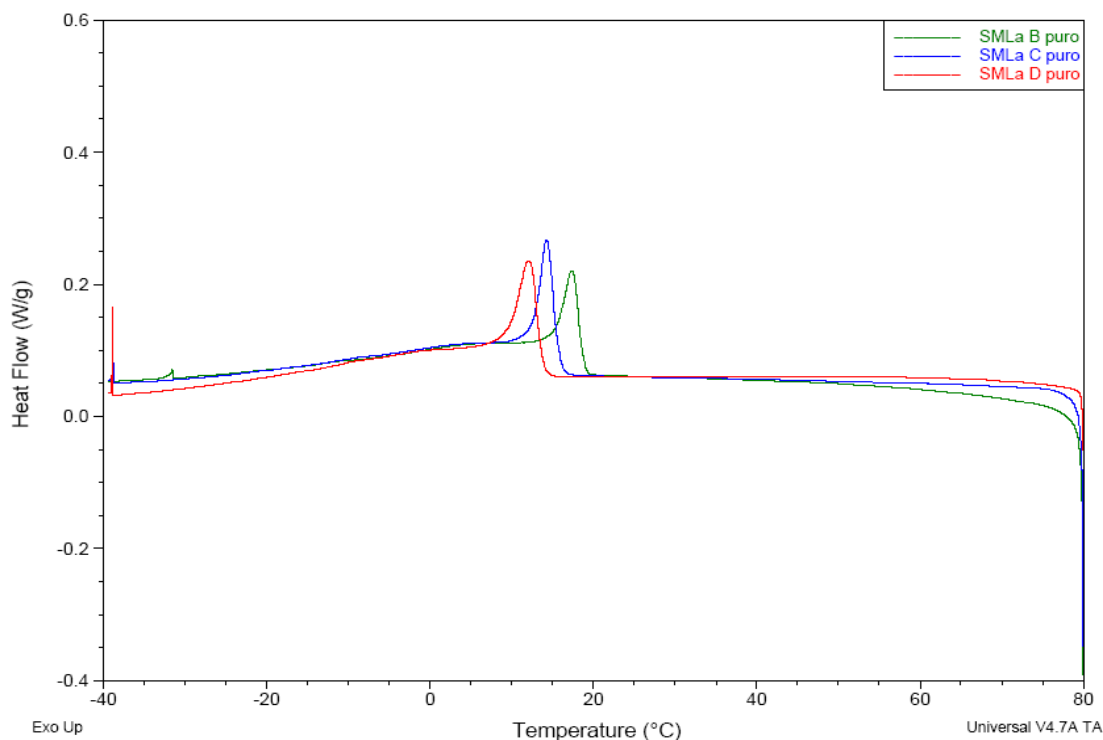


Figura 15. Evento de cristalização dos monolauratos de sorbitana puros dos fornecedores B, C e D por DSC. Taxa de resfriamento de 2°C/min.

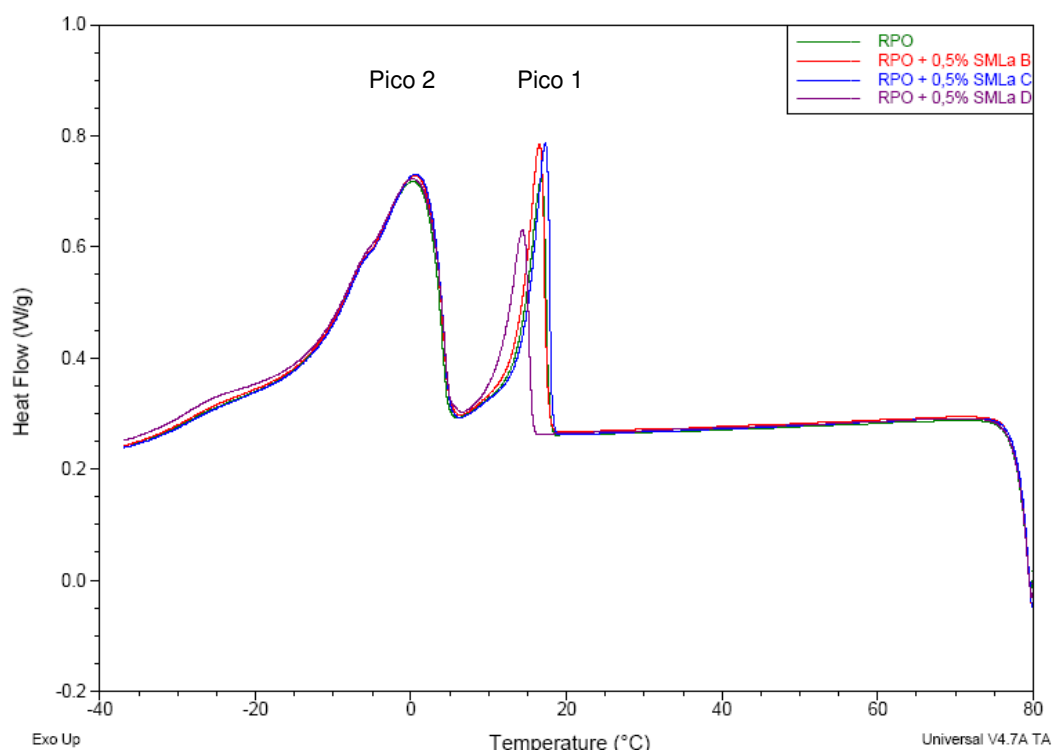


Figura 16. Evento de cristalização de óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D. Taxa de resfriamento de 10°C/min.

Analisando-se as Figuras 14, 15 e 16 juntamente com os dados de T_{pc} da Tabela 13, foi verificada a interação entre os TAGs do RPO com as moléculas dos SMLa, pois na Figura 16 observou-se que os picos 1 e 2 de RPO (Figura 14) foram deslocados após adição dos SMLa (Figura 16).

Tabela 13. Parâmetros obtidos a partir dos eventos de cristalização do óleo de palma refinado, dos monolauratos de sorbitana puros e do óleo de palma com adição de 0,5% (m/m) de monolaurato de sorbitana dos diferentes fornecedores.

Amostra	T _{oc} (°C)	T _{pc} (°C)		I (W/g)		ΔH _c (J/g)	
		Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2
SMLa B	18,77 ± 0,11	17,32 ± 0,08	-	0,15 ± 0,04	-	31,98 ± 0,21	-
SMLa C	15,78 ± 0,10	14,24 ± 0,12	-	0,20 ± 0,02	-	37,77 ± 0,27	-
SMLa D	13,79 ± 0,09	12,02 ± 0,14	-	0,17 ± 0,01	-	41,6 ± 0,13	-
RPO	18,86 ± 0,18 ^a	16,83 ± 0,09 ^{ab}	0,45 ± 0,18 ^a	0,46 ± 0,01 ^c	0,44 ± 0,01 ^a	9,78 ± 0,25 ^a	34,37 ± 0,31 ^a
RPO + 0,5% (m/m) SMLa B	18,97 ± 0,11 ^a	16,54 ± 0,09 ^a	0,55 ± 0,09 ^a	0,50 ± 0,01 ^a	0,43 ± 0,00 ^a	10,30 ± 0,11 ^a	33,77 ± 0,33 ^a
RPO + 0,5% (m/m) SMLa C	19,12 ± 0,13 ^a	17,12 ± 0,15 ^b	0,53 ± 0,08 ^a	0,50 ± 0,02 ^a	0,42 ± 0,02 ^a	10,03 ± 0,45 ^a	33,59 ± 0,27 ^a
RPO + 0,5% (m/m) SMLa D	16,52 ± 0,11 ^b	14,49 ± 0,13 ^c	0,35 ± 0,19 ^a	0,37 ± 0,01 ^b	0,43 ± 0,01 ^a	7,51 ± 0,23 ^b	34,91 ± 0,25 ^a

*Média ± desvio padrão. Letras iguais ao lado das médias, em uma mesma coluna, indicam que não há diferença significativa a 5% (p < 0,05).

O SMLa D foi o único, dentre os SMLa, que retardou o início da cristalização dos TAGs de maior ponto de fusão (pico 1) de RPO, observado pela diminuição significativa ($p < 0,05$) do valor da temperatura onset (T_{oc}). Além disso, esse mesmo emulsificante promoveu redução significativa do valor da temperatura de pico (T_{pc}) e da entalpia de cristalização (ΔH_c), referentes ao pico 1. Enquanto que os SMLa B e C possibilitaram um aumento significativo ($p < 0,05$) no calor dissipado, verificado pelo acréscimo no valor da intensidade de pico (I) do pico 1 de RPO, o SMLa D resultou na sua diminuição.

Não foram observados efeitos significativos dos SMLa B, C e D nos parâmetros T_{pc} , I e ΔH_c do pico 2 de RPO.

O mesmo efeito no retardo da cristalização foi observado nas isotermas de cristalização (item 5.3), que mostraram que o SMLa D resultou em um maior tempo de indução (τ), em uma menor taxa de cristalização (k) e no menor valor de $SFC_{M\acute{a}x}$ de RPO, dentre os SMLa. Essa diferença no efeito do SMLa D, comparativamente aos demais SMLa, pode ser associada à diferença observada na composição deste emulsificante (item 5.2), que apresentou maior quantidade de trilaurato.

A Figura 17 apresenta os eventos de cristalização dos SMS puros. Foram observados dois picos, um de maior ponto de fusão e outro com ponto de fusão relativamente menor. Os valores de T_{pc} dos dois picos estão apresentados na Tabela 14.

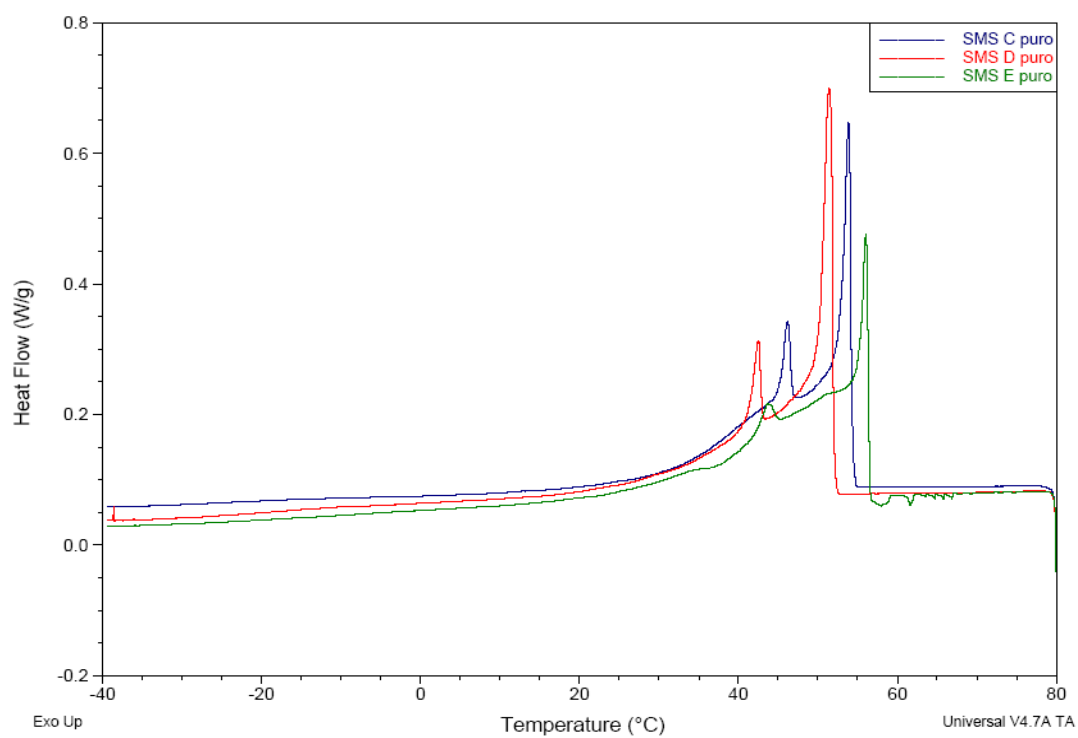


Figura 17. Evento de cristalização dos monoestearatos de sorbitana puros dos fornecedores C, D e E por DSC. Taxa de resfriamento de 2°C/min.

Tabela 14. Parâmetros obtidos a partir dos eventos de cristalização do óleo de palma refinado, dos monoestearatos de sorbitana puros e do óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.

Amostra	T_{oc} (°C)	T_{pc} (°C)		I (W/g)		ΔH_c (J/g)	
		Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2	Pico 1	Pico 2
SMS C	$54,98 \pm 0,12$	$53,86 \pm 0,21$	$46,17 \pm 0,18$	$0,53 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,03$	$31,56 \pm 0,24$	$5,01 \pm 0,25$
SMS D	$52,61 \pm 0,30$	$51,42 \pm 0,09$	$42,48 \pm 0,20$	$0,60 \pm 0,01$	$0,12 \pm 0,04$	$41,69 \pm 0,32$	$5,21 \pm 0,31$
SMS E	$56,98 \pm 0,08$	$56,03 \pm 0,13$	$37,34 \pm 0,13$	$0,40 \pm 0,01$	$0,03 \pm 0,01$	$37 \pm 0,15$	$9,14 \pm 0,21$
RPO	$18,86 \pm 0,18^a$	$16,83 \pm 0,09^b$	$0,45 \pm 0,18^b$	$0,46 \pm 0,01^c$	$0,44 \pm 0,01^a$	$9,78 \pm 0,25^b$	$34,37 \pm 0,31^a$
RPO + 0,5% (m/m) SMS C	$22,30 \pm 0,37^c$	$20,45 \pm 0,31^a$	$-0,01 \pm 0,48^{ab}$	$0,28 \pm 0,03^a$	$0,44 \pm 0,03^a$	$8,84 \pm 0,41^{ab}$	$35,06 \pm 0,22^a$
RPO + 0,5% (m/m) SMS D	$21,02 \pm 0,10^b$	$19,27 \pm 0,14^c$	$-0,47 \pm 0,20^a$	$0,29 \pm 0,01^a$	$0,40 \pm 0,02^a$	$7,74 \pm 0,81^a$	$31,83 \pm 0,86^a$
RPO + 0,5% (m/m) SMS E	$22,99 \pm 0,08^d$	$20,46 \pm 0,09^a$	$-0,32 \pm 0,01^a$	$0,21 \pm 0,01^b$	$0,41 \pm 0,01^a$	$8,18 \pm 0,16^a$	$33,46 \pm 0,40^a$

*Média $\pm$ desvio padrão. Letras iguais ao lado das médias, em uma mesma coluna, indicam que não há diferença significativa a 5% ($p < 0,05$).

A Figura 18 mostra os eventos de cristalização das amostras de RPO com adição de 0,5% (m/m) de SMS dos fornecedores C, D e E.

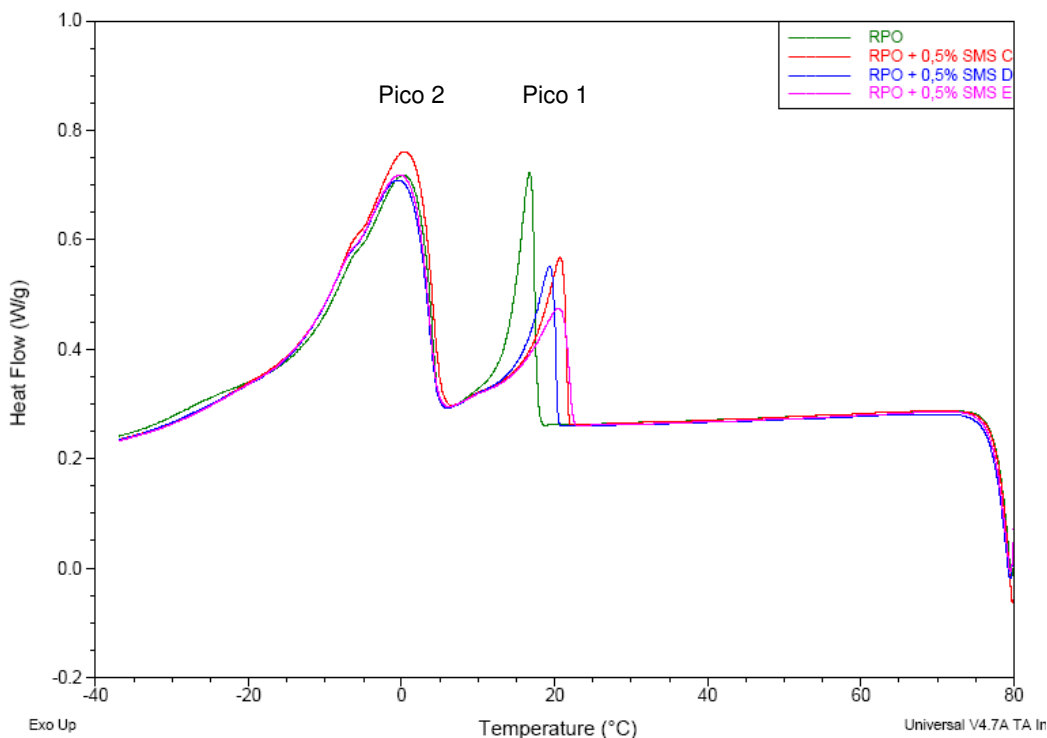


Figura 18. Evento de cristalização de óleo de palma refinado com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E. Taxa de resfriamento de 10°C/min.

Analisando-se os dados da Tabela 14 e os eventos de cristalização da Figura 18 foi possível observar que todos os SMS, ao contrário do ocorreu com o SMLa D, aceleraram significativamente a cristalização dos TAGs de maior ponto de fusão de RPO (pico1). Esse fato foi constatado pelo aumento significativo ($p < 0,05$) das temperaturas T_{oc} e T_{pc} (pico 1) nas amostras aditivadas.

A amostra com adição de SMS D foi a que diferiu significativamente das demais em relação à T_{pc} , sendo a amostra que apresentou o menor valor de T_{pc} e que, portanto, acelerou em menor intensidade a cristalização dos TAGs

correspondentes ao pico 1 de RPO. As isotermas de cristalização (item 5.3) indicaram que esse emulsificante foi o único que retardou o tempo de indução de RPO (referente à nucleação) e apesar disso, o teor máximo de gordura sólida ($SFC_{Máx}$) foi aumentado ligeiramente (de 9% para 9,4%) após a sua adição. Uma possível explicação para este efeito seria a de que o SMS D possibilitou um atraso no período de nucleação dos TAGs de RPO sem afetar o processo posterior de cristalização, verificado tanto pelos teores de $SFC_{Máx}$ obtidos nas isotermas (Figura 13) como no seu efeito em acelerar a cristalização verificada na análise por DSC (Figura 18).

Por outro lado, os SMS D e E retardaram a cristalização dos TAGs que compõem o pico 2 de RPO, pois estes emulsificantes proporcionaram a redução significativa ($p < 0,05$) do valor da T_{pc} (Tabela 14). Com este resultado, foram observados efeitos antagônicos dos SMS em relação à cristalização dos TAGs relacionados aos picos 1 e 2 de RPO. Como estes emulsificantes apresentam na sua composição, ésteres dos ácidos palmítico e esteárico, a co-cristalização com os TAGs trisaturados, como o PPP e o PPS, que fazem parte da composição de TAGs do pico 1, deve ocorrer mais efetivamente do que com os TAGs de menor ponto de fusão (pico 2), que apresentam maior proporção de AGs insaturados, resultando na aceleração da cristalização.

O valor da intensidade de pico (I) do pico 1 de RPO, após a adição dos SMS, diminuiu significativamente, indicando menor quantidade de energia dissipada, o que corresponde a uma condição almejada nos processos industriais que envolvem etapas de cristalização de produtos de base gordurosa.

Como os SMS puros apresentaram temperaturas T_{oc} e T_{pc} na faixa de 50°C e, portanto, mais elevadas que os TAGs de RPO (Tabela 14), eles devem se cristalizar antes dos TAGs durante o resfriamento e cristalização da amostra, atuando como gérmens de cristalização (GARTI, 2002) e induzindo a cristalização, que foi mais rápida do que na amostra de RPO sem os aditivos. O mesmo não ocorreu com os SMLa, que possuem temperaturas de cristalização menores que

os SMS e próximas a do pico 1 de RPO, não oferecendo a possibilidade de ação como gérmens de cristalização.

5.5. Microestrutura

As diferenças nas estruturas cristalinas podem ser significativamente influenciadas pelas interações entre as moléculas no estado cristalino e pela quantidade de óleo no estado líquido ao redor dos cristais, fatores estes que promoveriam diferenças nos mais diferentes níveis estruturais, desde a formação dos cristais, dos agregados até a formação dos flóculos (SHI *et al.*, 2005).

As Figuras 19 e 20 mostram as imagens obtidas das estruturas cristalinas formadas nas amostras durante armazenamento de 3 horas a 25°C. Na amostra de RPO, foi observada predominância de cristais de crescimento esferulítico dentre os cristais de crescimento tipo disco, de acordo com a característica predita anteriormente pelo valor de n , após aplicação do modelo de Avrami aos dados experimentais (Tabela 11 do item 5.3).

Já nas amostras de RPO com adição de SMLa B, C e D foi verificada, através das imagens da Figura 19, uma mudança na morfologia dos cristais, com crescimento do tipo disco em todas elas, resultado também em concordância com o tipo de crescimento esperado através do valor de n calculado (Tabela 11).

Além dessa alteração na morfologia foi observada uma diminuição significativa no diâmetro médio dos cristais (Tabela 15), que passou do valor médio de 28,13 μm (RPO) para valores em torno de 7 μm após adição dos SMLa.

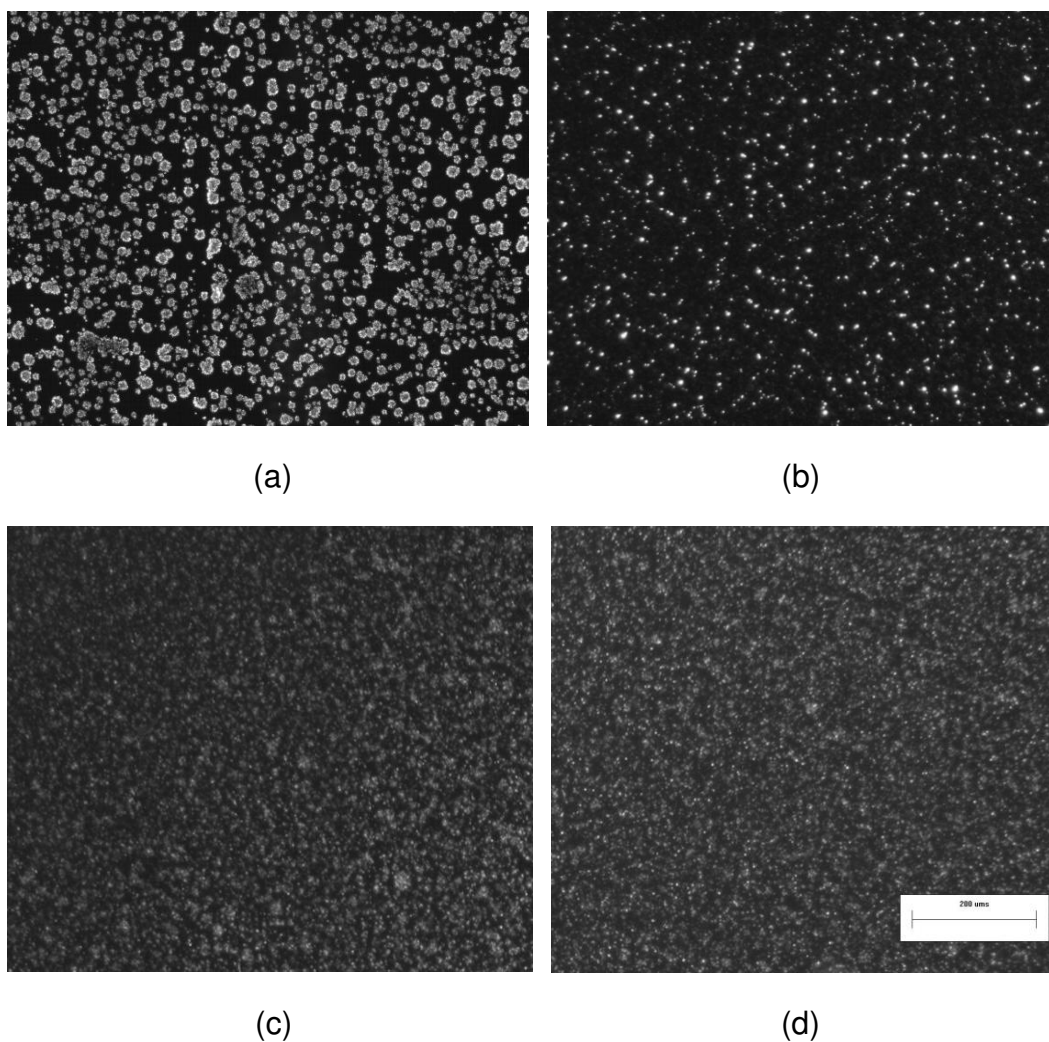


Figura 19. Imagens digitalizadas das estruturas cristalinas obtidas a 25°C sob aumento de 40X das seguintes amostras: (a) Óleo de palma refinado (b) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monolaurato de sorbitana B (c) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monolaurato de sorbitana C (d) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monolaurato de sorbitana D. A barra representa 200 μm .

Tabela 15. Diâmetro médio dos cristais e área cristalizada das amostras de RPO e RPO com adição de SMLa e de SMS dos diferentes fornecedores.

Amostra	Diâmetro médio (μm)*	Área cristalizada (%)*
RPO	28,13 $\pm$ 5,27	71,97 $\pm$ 7,51
RPO + 0,5% (m/m) SMLa B	7,87 $\pm$ 0,80	22,63 $\pm$ 1,71
RPO + 0,5% (m/m) SMLa C	7,51 $\pm$ 0,76	46,55 $\pm$ 3,51
RPO + 0,5% (m/m) SMLa D	7,02 $\pm$ 0,73	37,91 $\pm$ 3,64
RPO + 0,5% (m/m) SMS C	17,81 $\pm$ 1,88	78,63 $\pm$ 7,86
RPO + 0,5% (m/m) SMS D	23,36 $\pm$ 3,30	75,29 $\pm$ 11,09
RPO + 0,5% (m/m) SMS E	7,36 $\pm$ 0,30	40,97 $\pm$ 6,35

*Média $\pm$ desvio padrão

Observando-se as imagens das amostras com adição de SMLa (Figura 19) é notável o expressivo aumento no número de cristais, que por possuírem pequenas dimensões, inclusive muitos com dimensões muito menores que 7 μm , se dispersam na fração líquida remanescente refletindo em menores valores para as áreas cristalizadas (%).

Essa microestrutura particular pode representar uma característica importante para aplicações industriais, como na produção de margarinas, quando se objetiva incorporar o máximo possível da fração de óleo líquido com o mínimo conteúdo de gordura sólida para conferir as características desejáveis. A habilidade da rede cristalina para imobilizar esta fração líquida depende principalmente do tamanho dos cristais, e há evidências de que cristais de pequenas dimensões possuem maior habilidade para imobilizar óleo do que a mesma quantidade de cristais de dimensões maiores (DEMAN, 1998).

Nas amostras de RPO com adição de SMS C e D não houve evidência de alteração da morfologia dos cristais de RPO em função da incorporação destes emulsificantes, predominando os cristais de crescimento esferulítico e cristais de crescimento do tipo disco (Figura 20). No entanto, somente na amostra com adição de SMS E houve alteração da morfologia dos cristais, sendo estes de

crescimento tipo disco, evidenciando que as diferenças na composição entre os SMS (Tabela 10 do item 5.2) novamente foram capazes de interferir na cristalização dos TAGs de RPO.

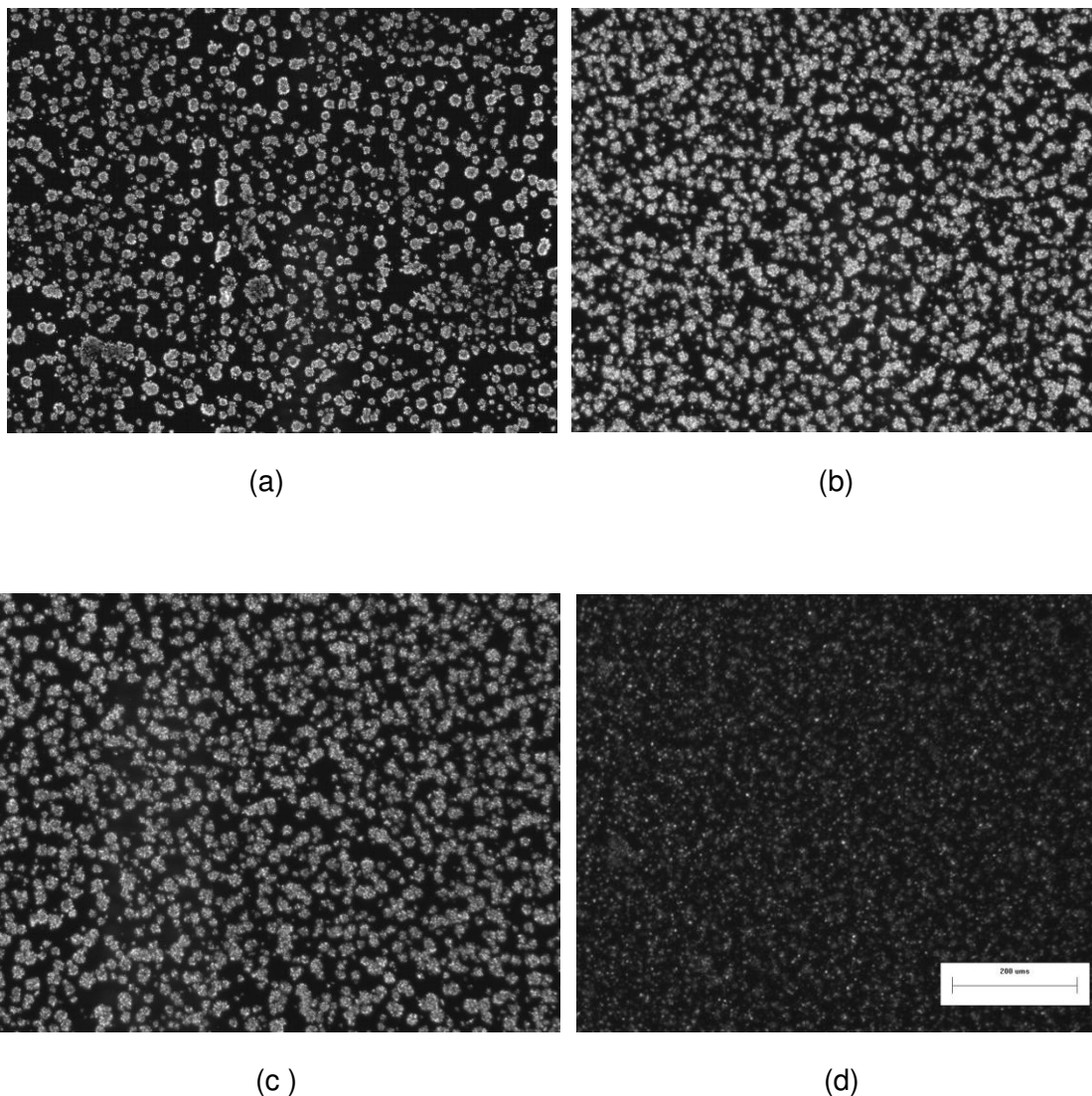


Figura 20. Imagens digitalizadas das estruturas cristalinas obtidas a 25°C sob aumento de 40X das seguintes amostras: (a) Óleo de palma refinado (b) Óleo de palma refinado+ 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana C (c) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana D (d) Óleo de palma refinado + 0,5% (m/m) monoestearato de sorbitana E. A barra representa 200 μm .

Com relação ao tamanho dos cristais após adição dos SMS, pôde-se notar uma diminuição nos valores dos diâmetros médios (Tabela 15), sendo mais expressiva a redução de tamanho na amostra de RPO com SMS E. Esta amostra apresentou aumento no número de cristais (Figura 20), sendo estes de diâmetro médio na ordem de 7 μm , tamanho similar ao obtido nas amostras de SMLa. A porcentagem da área cristalizada calculada também se apresentou próxima à obtida com adição dos SMLa.

5.6. Conteúdo de gordura sólida

O conteúdo de gordura sólida (SFC) é uma importante propriedade de óleos e gorduras e corresponde à fração de fase sólida encontrada a determinada temperatura (MISKANDAR *et al.*, 2005). A técnica mais utilizada para se medir o SFC é a ressonância magnética nuclear (RMN) (METIN e HARTEL, 2005).

A Tabela 16 mostra os valores do conteúdo de gordura sólida de RPO sem e com adição dos diferentes emulsificantes em diferentes temperaturas. Os valores de conteúdo de gordura sólida encontrados para o RPO estão de acordo com dados da literatura para as mesmas temperaturas (NOOR LIDA *et al.*, 2002; O'BRIEN, 2009b).

Os perfis de sólidos podem ser visualizados pelas Figuras 21 e 22.

Com o seu perfil característico (Figuras 21 ou 22), o PO pode ser utilizado na produção de gorduras denominadas plásticas, que correspondem a gorduras que apresentam pequena variação no conteúdo de gordura sólida em uma ampla faixa de temperatura, também denominadas de *shortenings* e margarinas (WOERFEL, 1995; GRIMALDI *et al.*, 2000).

Tabela 16. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura para óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.

Amostra	Conteúdo de gordura sólida (%)*							
	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C
RPO	50,54 ± 0,51	37,74 ± 0,24	26,11 ± 0,49	15,48 ± 0,36	8,53 ± 0,30	4,26 ± 0,37	0,86 ± 0,06	0,15 ± 0,08
RPO + 0,5% (m/m) SMLa B	49,78 ± 0,65	37,28 ± 0,42	25,86 ± 0,68	15,25 ± 0,38	8,51 ± 0,29	4,15 ± 0,41	0,69 ± 0,08	0,66 ± 0,07
RPO + 0,5% (m/m) SMLa C	50,51 ± 0,38	37,75 ± 0,37	26,18 ± 0,53	15,29 ± 0,61	8,33 ± 0,61	4,19 ± 0,25	0,82 ± 0,13	0,45 ± 0,05
RPO + 0,5% (m/m) SMLa D	47,03 ± 0,66	33,14 ± 0,36	21,02 ± 0,37	10,90 ± 0,33	5,42 ± 0,43	1,79 ± 0,04	0,51 ± 0,05	0,41 ± 0,03
RPO + 0,5% (m/m) SMS C	50,04 ± 0,45	37,77 ± 0,35	25,53 ± 0,50	15,17 ± 0,50	8,46 ± 0,28	4,17 ± 0,10	0,94 ± 0,04	0,47 ± 0,06
RPO + 0,5% (m/m) SMS D	49,91 ± 0,37	37,44 ± 0,41	25,31 ± 0,60	14,60 ± 0,57	8,02 ± 0,45	3,88 ± 0,25	0,55 ± 0,06	0,26 ± 0,04
RPO + 0,5% (m/m) SMS E	50,54 ± 0,27	37,54 ± 0,34	25,60 ± 0,57	15,17 ± 0,43	8,56 ± 0,53	4,20 ± 0,33	0,70 ± 0,06	0,33 ± 0,03

*Média ± desvio padrão.

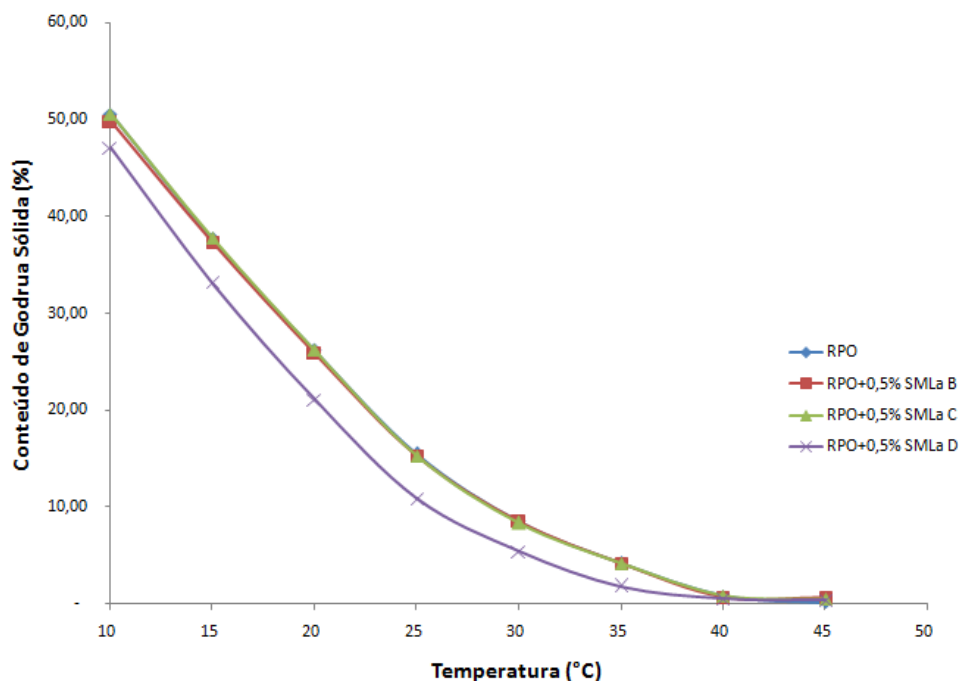


Figura 21. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D.

Foi possível observar, pelas curvas das Figuras 21 e 22, que apenas o SMLa D alterou o conteúdo de gordura sólida de RPO. Na faixa de 10°C a 35°C, foi observada diminuição do conteúdo de gordura sólida do RPO após adição desse SMLa.

Na cristalização isotérmica de RPO realizada a 25°C (item 5.3), somente o SMLa D promoveu a diminuição do teor máximo de gordura sólida ($SFC_{Máx}$), de 9% para 6%, o que está em concordância com a diminuição dos teores de gordura sólida observada tanto na temperatura de 25°C quanto nas temperaturas de 10, 15, 20, 30 e 35°C (Figura 21).

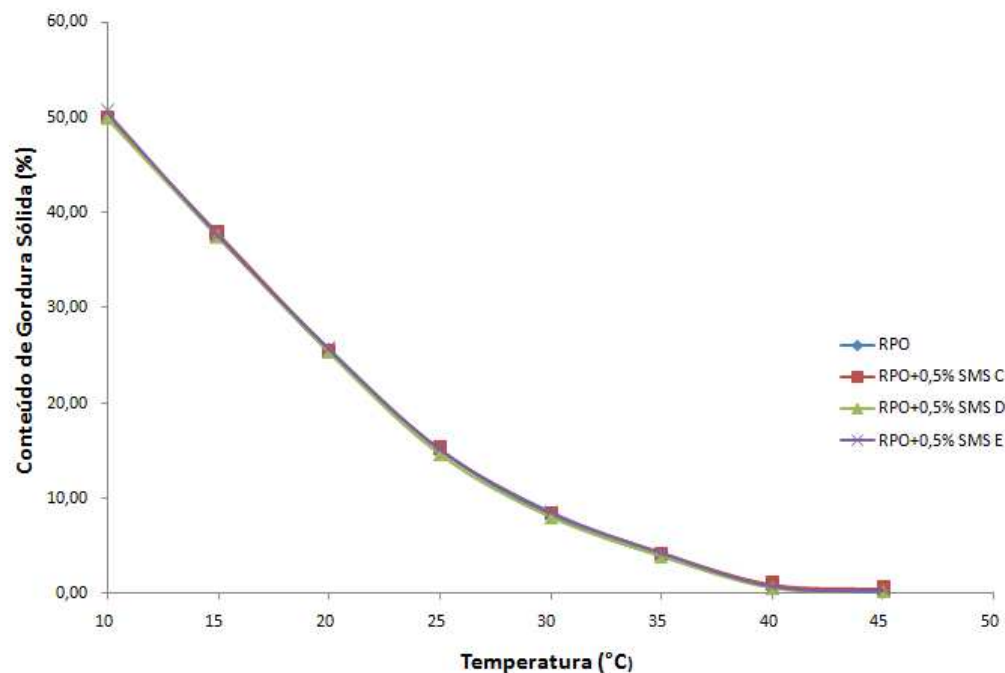


Figura 22. Conteúdo de gordura sólida (%) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E.

O SMLa D apresentou maior teor de triésteres (trilaurato) que os demais SMLa (item 5.2), o que poderia explicar essa diminuição do teor de gordura sólida de RPO somente para esta amostra aditivada.

Apesar das amostras de RPO com adição de SMS dos diferentes fornecedores apresentarem o mesmo perfil de sólidos (Figura 22), a microestrutura observada para estas amostras (Figura 20) indicou diferenças na morfologia, no tamanho e no número de cristais na amostra de RPO com adição de SMS E, conforme discutido no item 5.5. A constatação de que mesmo apresentando os mesmos valores de teor de gordura sólida as gorduras possam mostrar diferenças na microestrutura cristalina está de acordo com o trabalho de Braipson-Danthine e Deroanne (2004). Os autores estudaram o efeito do SFC, da

microestrutura e do polimorfismo na textura (dureza) de misturas binárias de gorduras, envolvendo PO e óleo de soja, ambos totalmente hidrogenados e o óleo de colza. Em três destas misturas, que possuíam o mesmo SFC medido a 20°C, foram notadas diferenças na microestrutura cristalina.

5.7. Consistência

Os SMLa diminuíram a consistência de RPO em praticamente todas as temperaturas avaliadas, o que pôde ser observado pelos valores de *yield value* (Tabela 17). O perfil associado consta na Figura 23. Uma das desvantagens do uso de RPO na produção de margarinas é o seu problema de endurecimento, no qual o produto pode chegar a apresentar o dobro do valor de sua consistência ou dureza em uma semana após sua produção, característica indesejável para um produto que precisa ser macio e com boa espalhabilidade (DUNS, 1985). Com o uso dos SMLa, esse problema de endurecimento da margarina à base de RPO poderia ser amenizado, já que a sua adição propiciou maior maciez.

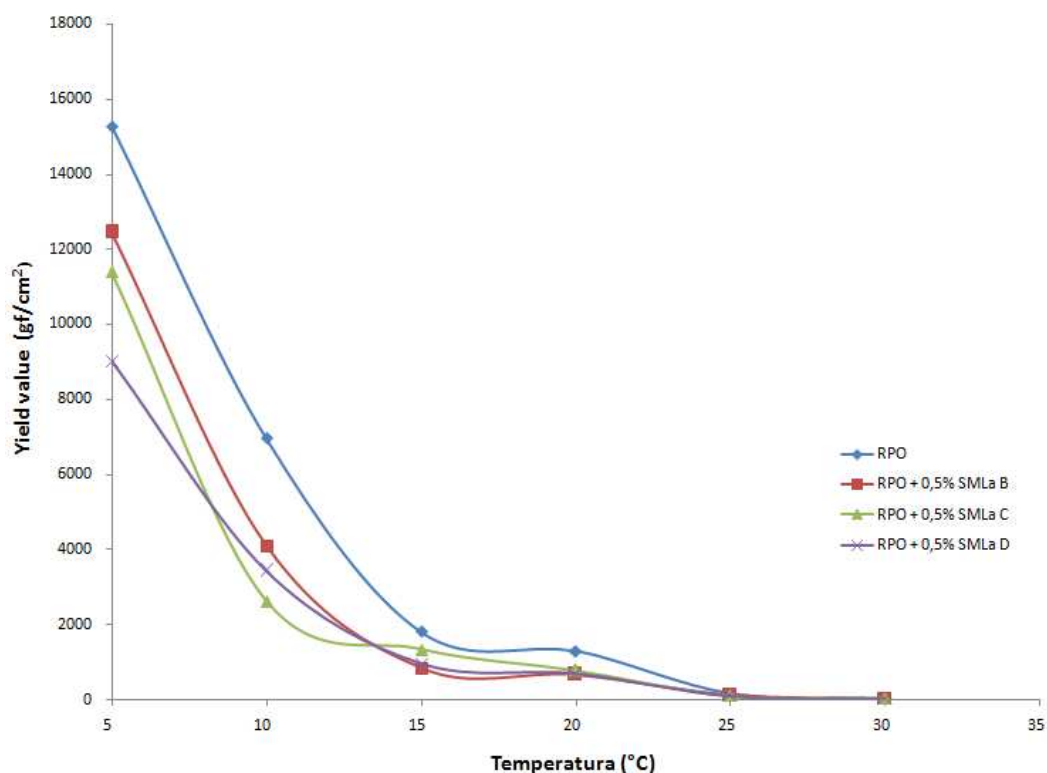


Figura 23. Valores de *yield value* (gf/cm²) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato de sorbitana dos fornecedores B, C e D.

Na temperatura de 15°C, o RPO pôde ser classificado como uma gordura muito dura, por apresentar valor de *yield value* acima de 1500 gf/cm², de acordo com a classificação dada pela Tabela 3 (item 2.1.2.6). Com a adição de SMLa B e SMLa D, a gordura se tornou satisfatoriamente espalhável (respectivamente, 827,87 e 945,40 gf/cm²).

Além disso, na temperatura de 20°C, os três SMLa possibilitaram a transformação de RPO, de uma gordura muito dura (1294,74 gf/cm²) em uma gordura plástica e espalhável (entre 657,06 e 768,16 gf/cm²), atributo este importante para margarinas. Por outro lado, a 25°C o SMLa D foi o que promoveu maior maciez no RPO tornando-o, no entanto, não espalhável, o que pode ser considerado como uma desvantagem no seu uso.

Na temperatura de 5°C, os três SMS proporcionaram redução nos valores de *yield value* de RPO, ocasionando aumento na sua maciez (Figura 24). Na temperatura de 15°C, efeitos opostos passaram a ser observados nas amostras de dois dos SMS. Enquanto o SMS D promoveu redução significativa ($p < 0,05$) do valor da consistência de RPO, o SMS E promoveu o seu aumento (Tabela 17).

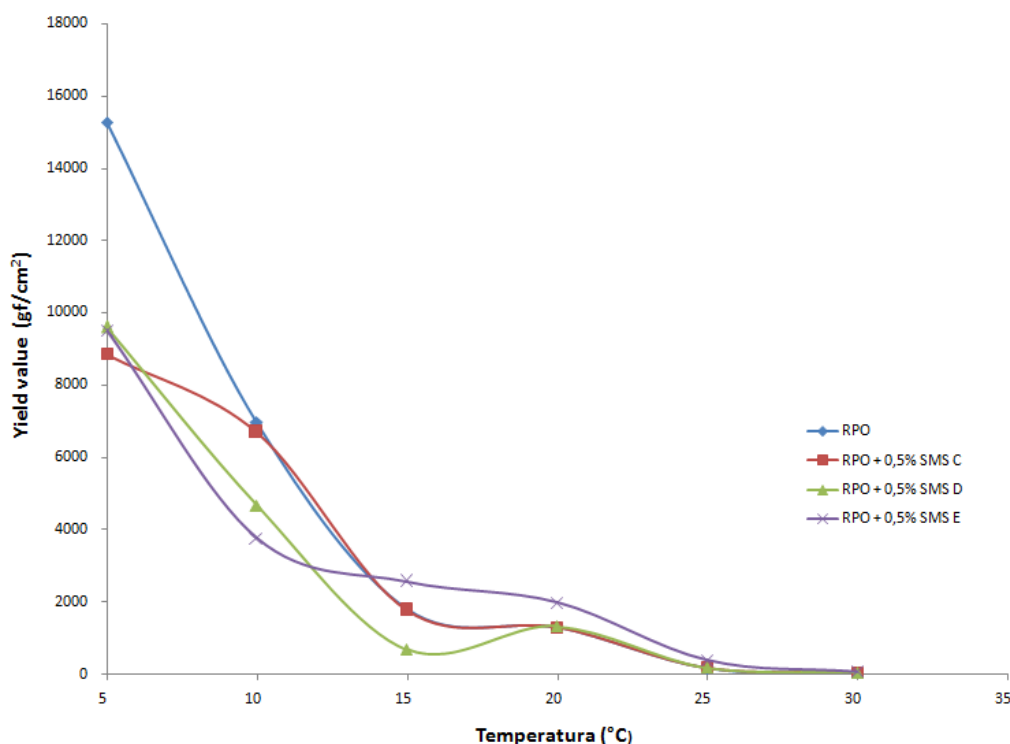


Figura 24. Valores de *yield value* (gf/cm²) em função da temperatura (°C) das amostras do óleo de palma refinado sem e com adição de monoestearato de sorbitana dos fornecedores C, D e E.

Tabela 17. Valores de *yield value* (gf/cm²) em função da temperatura (°C) das amostras de óleo de palma refinado sem e com adição de monolaurato e de monoestearato de sorbitana dos diferentes fornecedores.

Amostra	Yield Value (gf/cm ²)*					
	5°C	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C
RPO	15262,44 ± 393,22	6960,32 ± 90,39	1804,9 ± 34,73 ^a	1294,74 ± 4,11 ^a	161,22 ± 15,01 ^a	37,77 ± 2,40
RPO + 0,5% (m/m) SMLa B	12434,64 ± 41,08	3875,12 ± 85,91	827,87 ± 6,01	657,06 ± 47,62	133,84 ± 4,20	24,63 ± 1,00
RPO + 0,5% (m/m) SMLa C	11387,42 ± 112,01	2612,61 ± 95,39	1331,41 ± 80,26	768,16 ± 4,10	97,86 ± 1,40	29,66 ± 6,32
RPO + 0,5% (m/m) SMLa D	9018,08 ± 178,90	3422,88 ± 124,88	945,40 ± 85,20	681,18 ± 8,16	91,34 ± 2,18	27,23 ± 4,19
RPO + 0,5% (m/m) SMS C	8853,89 ± 92,63	6681,07 ± 88,79	1755,58 ± 108,09 ^a	1292,17 ± 83,78 ^a	174,37 ± 2,26 ^a	46,59 ± 6,35
RPO + 0,5% (m/m) SMS D	9595,37 ± 98,36	4660,58 ± 12,16	666,45 ± 24,16 ^b	1316,29 ± 23,60 ^a	177,73 ± 5,16 ^a	42,63 ± 7,03
RPO + 0,5% (m/m) SMS E	9511,25 ± 177,14	3754,22 ± 78,14	2548,85 ± 109,02 ^c	1977,89 ± 22,71 ^b	371,28 ± 23,88 ^b	65,84 ± 5,42

*Média ± desvio padrão. Letras iguais ao lado da média, em uma mesma coluna, indicam que não há diferença significativa a 5% (p < 0,05).

Estes resultados antagônicos mostraram que diferenças na composição do SMS E, que apresenta maior teor de monoésteres (Tabela 10 do item 5.2), em especial do monoestearato, em comparação com os demais SMS, foram capazes de alterar diferentemente as características microestruturais, no que se refere às diferenças observadas no comportamento isotérmico de cristalização (maior velocidade de cristalização), na morfologia (tipo de crescimento do cristal, diâmetro médio e número de cristais) discutidos respectivamente nos itens 5.3 e 5.5, e nas características macroestruturais da rede cristalina (consistência).

Além disso, nas temperaturas de 20°C e de 25°C, o SMS E foi o único SMS que aumentou significativamente ($p < 0,05$) a dureza de RPO, representada pelo aumento no valor de *yield value*.

Não pôde ser estabelecida relação entre o número de cristais e o tamanho deles na análise da microestrutura, com o aumento da dureza ou consistência medida em analisador de textura. A amostra de RPO com adição de SMS E mostrou apresentar o mesmo diâmetro médio (em torno de 7 μm) e aumento do número de cristais muito parecido com o que ocorreu nas amostras com adição de SMLa, e no entanto, os dados de *yield value* ou consistência, nas temperaturas de 15°C, 20°C e 25°C, revelaram efeitos opostos após adição dos SMLa e do SMS E.

Enquanto que nas amostras com SMLa houve amolecimento de RPO, na amostra com SMS E houve endurecimento da gordura, o que nos mostrou que as propriedades mecânicas das gorduras não são influenciadas apenas pela rede microcristalina formada durante a cristalização, mas por uma série de fatores que incluem o SFC e o tipo de polimorfismo no estado sólido (MARANGONI e NARINE, 2002).

6. Conclusão

A composição dos monolauratos e monoestearatos de sorbitana comerciais, determinada por EASI-MS, comprovou o uso da mistura de ácidos graxos de diferentes tamanhos de cadeia na reação de produção dos emulsificantes e também confirmou a presença não somente do monoéster, mas de diésteres e triésteres nestes produtos, apesar de comercializados como monoésteres.

As amostras comerciais de diferentes fornecedores do mesmo emulsificante apresentaram divergências na composição com relação ao tamanho de cadeia do ácido graxo esterificado na molécula de sorbitana e na quantidade relativa de mono-, di- e triésteres de sorbitana. Dentre os SMLa, o SMLa D foi o que apresentou o maior teor de trilaurato e de triésteres. Os SMS C, D e E apresentaram quantidade expressiva tanto do monopalmitato quanto do monoestearato de sorbitana, sendo o SMS E o único que apresentou o maior teor de monoestearato, o maior teor de monoésteres e o menor teor de diésteres.

Essas diferenças na composição puderam ser associadas aos efeitos distintos observados no comportamento de cristalização, após a adição desses emulsificantes ao RPO, demonstrados através da discussão dos resultados das análises das isotermas de cristalização, do perfil de sólidos, do comportamento térmico, da microestrutura dos cristais e da consistência.

7. Bibliografia

AFOAKWA, E.O. *et al.* Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. **Food Research International**, v. 42, p. 200–209, 2009.

ANDRIKOPOULOS ,N.K. Triglyceride species composition of common edible vegetable oils and methods used for their identification and quantification. **Food Reviews International**, v. 18, n. 1, p. 71-102, 2002.

AINI, I.N.; MISKANDAR, M.S. Utilization of palm oil and palm products in shortenings and margarines. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, p. 422-432, 2007.

ALANDER, J.T.; ERIKSSON, A. The effect of emulsifiers on the crystallization kinetics of fats. In: BERGER, K.G; HAMILTON, R.S. Emulsifiers: **Functionality and Applications**. London: SCI, 1998. p. 41-45.

ALBERICI, R.M. *et al.* Ambient mass spectrometry: bringing MS into the “real world”. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 398, n.1, p. 265-294, 2010.

ANTONIOSI FILHO, N.; MENDES, O.L.; LANÇAS, F.M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC, **Chromatographia**, v. 40, p. 557-562, 1995.

ANVISA. **Visa Legis: Legislação em Vigilância Sanitária**. Disponível em: <www.e-legis.bvs.br/leisref>. Acesso em: 16 Set. 2011.

AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 6th ed., Champaign, 2009.

APOC. American Palm Oil Council. 2011. Disponível em: <<http://www.americanpalmoil.com/faq.html>>. Acesso em: 04 Set. 2011.

ARONHIME, J.S.; SARIG, S.; GARTI, N. Dynamics Control of Polymorphic Transformation in Triglycerides by Surfactants: The Button Syndrome. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 65, n. 7, p. 1144-1150, 1988.

AWARD, T.; SATO, K. Acceleration of crystallisation of palm kernel oil in oil-in-water emulsion by hydrophobic emulsifier additives. **Colloids and Surfaces Biointerfaces**. v. 25, p. 45–53, 2002.

BAILEY, A.E. **Melting and Solidification of Fats**. New York: Interscience Publishers, 1950, p. 1-353.

BASIRON, Y. Palm Oil. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6th ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2005, p. 333-429.

BERGER, K.G.; WRIGHT, W.B. Crystallization Behaviour of Palm Oil. **PORIM Occasional Paper**, n. 17, 1986.

BOISTELLE, R. Fundamentals of Nucleation and Crystal Growth. In: GARTI, N.; SATO, K. **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. New York: Marcel Dekker, 1988 *apud* TORO-VÁZQUEZ *et al.*, 2002.

BRAIPSON-DANTHINE, S.; DEROANNE, C. Influence of SFC, microstructure and polymorphism on texture (hardness) of binary blends of fats involved in the preparation of industrial shortenings. **Food Research International**, v. 37, p. 941-948, 2004.

CAMPOS, R. Experimental Methodology. In: MARANGONI, A.G. **Fat Crystal Networks**. New York: Marcel Dekker, 2005, p. 267-348.

CAMPOS, R.; OLLIVON, M.; MARANGONI, A.G. Molecular Composition Dynamics and Structure of Cocoa Butter. **Crystal Growth & Design**, v. 10, p. 205-217, 2010.

CERDEIRA, M. *et al.* Effect of sucrose ester addition on nucleation and growth behavior of milk fat-sunflower oil blends. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Columbus, v. 51, p. 6550-6557, 2003.

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

CHE MAN, Y.B. *et al.* Composition and Thermal Profile of Crude Palm Oil and Its Products. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 76, n. 2, p. 237-242, 1999.

COTTRELL, T.; VAN PEIJ, J. Sorbitan esters and polysorbates. In: WHITEHURST, R.J. **Emulsifiers in Food Technology**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004, p. 162-167.

DASS, C. Basics of Mass Spectrometry. In: DASS, C. **Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry**. John Wiley & Sons, 2007, p. 3-14.

DEMAN, J.M. Functionality of Palm Oil in Foods. **Journal of Food Lipids**, v. 5, p. 159-170, 1998.

DEMAN, J. M.; DEMAN, L. Texture of fats. In: MARANGONI, A. G.; NARINE, S.S. **Physical properties of lipids**. New York: Marcel Dekker, 2002.

DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M.F. Importance of algae as a source of biodiesel. **Energy and Conversion and Management**, v. 52, n. 1, p. 163-170.

DOBARGANES, M.C.; VELASCO, J.; DIEFFENBACHER, A. Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in oils and fats. **Pure and Applied Chemistry**, v. 72, p. 1563-1575, 2000.

DUNS, M.L. Palm Oil in Margarine and Shortenings. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 62, n. 2, p. 408-410, 1985.

DYSSEL, S.M.; BAISH, S.K.; Characterization of Tropical oils by DSC. **Thermochimica Acta**, v. 212, p. 39-49, 1992.

ERICKSON, D.R. Bleaching and Adsorption Treatment. In: ERICKSON, D.R. **Practical Handbook of Soy Oil Processing and Utilization**. Champaign, Illinois: AOCS Press, 1995, p. 203-217.

FAERGEMAND, M.; KROG, N. Interactions of emulsifiers with other components in foods. In: GAONKAR, A.G.; MCPHERSON, A. **Ingredients Interactions – Effects on Food Quality**. 2nd ed., Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006, p. 390-421.

FERNANDES, A.M.A.P. *et al.* Free and Total Glycerin in Biodiesel: Accurate Quantitation by Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry. **Energy & Fuels**, v. 26, n. 5, p. 3042-3047, 2012.

FOUBERT, I. *et al.* Dynamic mathematical model of the crystallization kinetics of fats. **Food Research International**, v. 35, p. 945–956, 2002.

FOUBERT, I. *et al.* Physical properties: Structural and Physical Characteristics. In: GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J.L.; DIJKSTRA, A.J. **The Lipid Handbook**. 3th ed., Boca Raton: CRC Press, 2007, p. 471-490.

GAMBOA, O.W.D.; GIOIELLI, L.A. Comportamento de cristalização de lipídios estruturados a partir de gorduras de palmiste e óleo de peixe. **Química Nova**, v. 29, p. 646-653, 2006.

GARBOLINO, C.; BARTOCCINI, M.; FLOTER, E. The influence of emulsifiers on the crystallization behavior of a palm oil-based blend. **Europe Journal Lipid Science Technology**, v. 107, n. 9, p. 616-626, 2005.

GARTI, N. *et al.* Analysis of Sorbitan Fatty Acid Esters by HPLC. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 6, p. 1151-1154, 1983.

GARTI, N. Effects of surfactants on crystallization and polymorphic transformation of fats and fatty acids In: GARTI, N.; SATO, K. **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. New York: Marcel Dekker, 1988, p. 267–303.

GARTI, N.; ARONHIME, J. S.; SARI, S. The role of chain length and an emulsifier on the polymorphism of mixtures of triglycerides. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, p. 1085–1089, 1989 *apud* SMITH *et al.*, 2011.

GARTI, N. Food Emulsifiers: Structure-Reactivity. Relationships, Design, and Applications. In: MARANGONI, A.G.; NARINE, S. **Physical Properties of Lipids**. New York, 2002, p. 265-386.

GEE, P. T. Analytical characteristics of crude and refined palm oil and fractions. **Europe Journal Lipid Science Technology**, n. 109, p. 373-379, 2007.

GOH, E.M. Formulation of lauric oil-containing food products and their performance. **Proceedings of the World Conference on Lauric Oils: Sources, Processing and Applications**, p. 98-103, 1994.

GRIMALDI, R.; GONÇALVES, L.A.G.; ESTEVES, W. Características de gorduras comerciais brasileiras. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 3, p. 159-164, 2000.

GUNSTONE, F.D. Production and Trade of Vegetable Oils. In: GUNSTONE, F.D. **Vegetable Oils in Food Technology – Composition, Properties and Uses**. 2nd ed., Oxford: Willey-Blackwell, 2011, p. 1-24.

GUTH, O.J.; ARONHIME, J.; GARTI, N. Polymorphic transition of mixed triglycerides, SOS, in the presence of sorbitan monostearate. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 66, p. 1606–1613, 1989.

HADDAD, R.; SPARRAPAN, R.; EBERLIN, M.N. Desorption sonic spray ionization for (high) voltage-free ambient mass spectrometry. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 19, p. 2901-2905, 2006.

HADDAD, R. *et al.* Easy Ambient Sonic-Spray Ionization-Membrane Interface Mass Spectrometry for Direct Analysis of Solution Constituents. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 898-903, 2008 (a).

HADDAD, R. *et al.* Easy Ambient Sonic-Spray Ionization Mass Spectrometry Combined with Thin-Layer Chromatography. **Analytical Chemistry**, v. 80, n. 8, p. 2744-2750, 2008 (b).

HAIGHTON, A. J. The measurement of the hardness of margarine and fats with cone penetrometers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 36, p. 345-348, 1959.

HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P.A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. **Biotechnology Advances**, v. 3, n. 3, p. 709-732, 2012.

HASENHUETTL, G.L. Overview of Food Emulsifiers. In: HASENHUETTL, G.L.; HARTEL, R.W. **Food Emulsifiers and their applications**. New York: Chapman & Hall, 1997, p. 1-26.

HARTMAN, L.; LAGO, R. **Rapid preparation of fatty acid esters from lipids**. Lab. Pract., v. 22, p. 475-476, 1973.

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

HIRABAYASHI, A.; SAKAIRI, M.; KOIZUMI, H. Sonic Spray Ionization Method for Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 24, p. 4557-4559, 1994.

JECFA. **Combined Compendium of Food Additive Specifications**. Disponível em: <<http://www.fao.org/ag/agn/jecfa-additives/index.html#S>>. Acesso em: 30 Out. de 2012.

KALNIN, D. *et al.* Fat Crystallization in Emulsion: Influence of Emulsifier Concentration on Triacylglycerol Crystal Growth and Polymorphism. **Crystal Growth & Design**, v. 4, n. 6, p. 1283-1293, 2004.

KAMM, W. *et al.* Authenticity Assessment of fats and oils. **Food Reviews International**. v. 17, p. 249-290, 2001.

KATSURAGI, T. Interactions between surfactants and fats. In: WIDLAK, N. **Physical Properties of Fats, Oils and Emulsifiers**. Champaign, 1999, p. 1-32.

KRITCHEVSKY, D. *et al.* Cholesterol Vehicle in Experimental Atherosclerosis. Effects of Specific Synthetic Triglycerides, **Lipids**, v. 35, n. 6, p. 621-625, 2000.

LARSSON, K. Classification of glyceride crystal forms. **Acta Chemica Scandinavica**, v. 20, p. 2255–2260, 1966.

LARSSON, K. Physical Properties-Structural and Physical Characteristics. In: GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J.L.; PADLEY, F.B. **The Lipid Handbook**. London, 1986, p. 321–384.

LO, S. K. *et al.* Diacylglycerol oil— properties, processes and products: a review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 1, n. 3 p. 223–233, 2008.

LOISEL, C. *et al.* Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 75, p. 425-439, 1998.

MADISEN, J. Emulsifiers used in margarine, low calorie spread, shortening, bakery compound and filling. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 89, n. 4, p. 165–172, 1987.

MAHUNGU, S.M.; ARTZ, W.E. Emulsifiers. In: BRANEN, A.L. *et al.* **Food Additives**. 2nd.ed., New York: Marcel Dekker, 2002. Cap. 23.

MARANGONI, A.G.; ROUSSEAU, G.D. Plastic fat rheology is governed by the fractal nature of the fat crystal network and crystal habit. In: WIDLAK, N. **Physical Properties of Fats, Oils and Emulsifiers**. Champaign, 1999, p. 97–128.

MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. Identifying key structural indicators of mechanical strength in networks of fat crystals. **Food Research International**, v. 35, p. 957-969, 2002.

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

MARKLEY, K.S. Esters and esterification. In: MARKLEY, K.S. **Fatty acids: Their Chemistry, Properties and Uses**. New York: Interscience, 1961, p. 757-764.

MENSINK, R.P.; KATAN, M.B. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. **The New England Journal of Medicine**, v. 323, p. 439-445, 1990.

METIN, S.; HARTEL, R.W. Crystallization of Fats and Oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6th ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2005, p. 45-76.

MISKANDAR, M.S. *et al.* Quality of Margarine: Fats selection and processing parameters. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 14, n. 4, p. 387-395, 2005.

MISKANDAR, M.S. *et al.* Effects of emulsifiers on crystallization properties of low-melting blends of palm oil and olein. **Journal of Food Lipids**, v. 13, p. 57-72, 2006.

MURATA, M.; HARA, K.; IDE, T. Alteration by diacylglycerols of the transport and fatty acid composition of lymph chylomicrons in rats. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 58, p. 1416–1419, 1994.

NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Relating structure of fat crystal networks to mechanical properties: a review. **Food Research International**, v. 32, n. 4, p. 227-248, 1999.

NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Structure and Mechanical Properties of Fat Crystal Networks. In: NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. **Physical Properties of Lipids**. New York, 2002.

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

NG, W.L. Thermal decomposition in the solid state. **Australian Journal of Chemistry**, v. 28, p. 1169–1178, 1975.

NG, W.L. A study of the kinetics of nucleation in a palm oil melt. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 67, p. 879-882, 1990.

NG, W.L.; OH, C.H. A kinetics study on isothermal crystallization of palm oil by solid fat content measurements. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 71, n. 10, p. 1135-1138, 1994.

NOOR LIDA, H.M.D. *et al.* TAG Composition and Solid Fat Content of Palm Oil, Sunflower Oil, and Palm Kernel Olein Blends Before and After Chemical Interesterification. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 11, p. 1137-1144, 2002.

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Processing. In: O'BRIEN, R.D. **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**, 3th ed., Boca Raton, 2009, p. 170-184 (a).

O'BRIEN, R.D. Raw Materials. In: O'BRIEN, R.D. **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**, 3th ed., Boca Raton, 2009, p. 1-66 (b).

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Formulation. In: O'BRIEN, R.D. **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**, 3th ed., Boca Raton, 2009, p. 263-345 (c).

OH, J. *et al.* Stabilizing polymorphic transitions of tristearin using diacylglycerols and sucrose polyesters. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 82, p. 13-19, 2005.

OKAWASHI, T.; SAGI, N. Confectionary Fats from Palm Oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 62, n. 2, p. 421-425, 1985.

OLIVEIRA, G. M. **Influência da adição de *hardfats* sobre as propriedades tecnológicas do óleo de palma visando a aplicação em chocolates**. 2011. 105f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OMAR, Z. *et al.* Crystallization and rheological properties of hydrogenated palm oil and palm oil blends in relation to crystal network. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, p. 634-640, 2005.

PARÉ, J.R.J.; YAYLAYAN, V. Mass Spectrometry: and Applications Principles. In: PARÉ, J.R.J.; BÉLANGER, J.M.R. **Instrumental Methods in Food Analysis**. Elsevier Science, 1997, p. 239-266.

PERNETTI, M. *et al.* Structuring edible oil with lecithin and sorbitan tri-stearate. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 855–861, 2007.

PORAM. **The Palm Oil Refiners Association of Malaysia**. Disponível em: <<http://www.poram.org.my/v1/poram/AR11.pdf>>. Acesso em: 04 Set. 2011.

RIBEIRO, A.P.B. *et al.* Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. **Food Analytical Methods**, v. 2, p. 282-302, 2009.

RIINER, U. Investigation Of the Polymorphism of Fats and Oils by Temperature Programmed X-Ray Diffraction. **Lebensmittel- Wissenschaft & Technologie**, London, v. 3, n. 6, p. 101-106, 1970.

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**, v. 23, p. 226-233, 2003.

RUXTON, C.H.S. *et al.* The health benefits of omega-3 polynsaturated fatty acid: a review of the evidence. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, v. 17, n. 5, p. 449-459, 2004.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K.; TAN, Y. **Progress in Lipid Research**, v. 39, p. 507-558, 2000

SABERI, A.H.; LAI, O.M.; TORO-VÁZQUEZ, J.F. Crystallization kinetics of palm oil in blends with palm-based diacylglycerol. **Food Research Internacional**, v. 44, p. 425-435, 2011.

SATO, K.; UENO, S.; YANO, J. Molecular interactions and kinetic properties of fats. **Progress in Lipid Research**, v. 38, p. 91-116, 1999.

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

SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in Fats and Oils. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6th ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2005, p. 77-120.

SATO, K. *et al.* Polymorphic Behavior of Structured Fats Including Stearic Acid and x-3 Polyunsaturated Fatty Acids. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, p. 297-300, 2009.

SATO, K; UENO, S. Crystallization, transformation and microstructures of polymorphic fats in colloidal dispersion states. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 16, p. 384–390, 2011.

SEAGRI. **Secretaria de Agricultura e irrigação e reforma agrária do governo da Bahia**. Disponível em: <http://www.seagri.ba.gov.br>. Acesso em: 04 Set. 2011.

SIEW, W.L. *et al.* Identity characteristics of Malaysian palm oil products: fatty acid and triglyceride composition and solid fat content. **Elaeis**, n. 5, p. 38–46, 1992.

SIEW, W.L.; NG, W.L. Effect of diglycerides on the crystallisation of palm oleins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 71, p. 496–500, 1996.

SIEW, W.L.; NG, W.L. Influence of diglycerides on crystallisation of palm oil. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 722-726, 1999.

SIEW, W.L. Characteristics of palm olein from *Elaeis guineensis* palm oil. **MPOB Technology**, n. 23, 2000 *apud* GEE, 2007.

SIEW, W.L. Palm Oil. In: GUNSTONE, F.D. **Vegetable Oils in Food Technology**, 2nd ed., Oxford, 2011, p. 25-58.

SHI, Y.; LIANG, B.; HARTEL, R.W. Crystal Morphology, Microstructure and Textural Properties of Model Lipid Systems. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, n. 6, p. 399-408, 2005.

SMITH, K.W. *et al.* Crystallization of Fats: Influence of Minor Components and Additives. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 88, n. 8, p. 1085-1101, 2011.

STAUFFER, C.E. Emulsifiers for the Food Industry. In: SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil & Fat Products**. 6th ed., New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. p. 229-267.

TAN, C.P.; CHE MAN, Y.B. Differential scanning calorimetric analysis of palm oil, palm oil based products and coconut oil: effects of scanning rate variation. **Food Chemistry**, v. 76, p. 89-102, 2002.

TANG, D.; MARANGONI, A.G. Microstructure and fractal analysis of fat crystal networks. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.83, n. 5, p.377-388, 2006.

TIMMS, R.E. Phase Behaviour of Fats and their mixtures. **Progress in Lipid Research**, v. 2, p. 31-38, 1984.

TORO-VÁSQUEZ, J.F.; GALLEGOS-INFANTE, A. Viscosity and Its Relationship to Crystallization in a Binary System of Saturated Triacylglycerides and Sesame Seed Oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 73, n.10, p.1237–1246, 1996.

TORO-VÁZQUEZ, J.F. *et al.* Triacylglyceride Crystallization in Vegetable Oils. In: WELTI-CHANES, J.; BARBOSA-CÁNOVAS, G.V.; AGUILERA, J.M. **Engineering and Food for the 21st Century**. CRC Press, 2002.

TORO-VÁZQUEZ, J.F. *et al.* Thermal and Textural Properties of Organogels Developed by *Candelilla* Wax in Safflower Oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 989-1000, 2007.

VIANNI, R.; BRAZ-FILHO, R. Ácidos graxos naturais: Importância e ocorrência em alimentos. **Química Nova**, v. 19, n. 4, p. 400-407, 1996.

WALSTRA, P. Fat Crystallization. In: BLANSHARD, J.M.V.; LILLFORD, P. **Food Structure and Behaviour**. London: Academic Press, 1987, p. 67–85.

WASSEL, P.; YOUNG, N.W.G. Food application of trans fatty acid substitutes, **International Journal of Food Science and Technology**, v. 42, p. 503–517, 2007.

WATANABE, A. *et al.* On the formation of granular crystals in fat blends containing palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 69, n. 11, p.1077-1080, 1992.

WEYER, K.M. *et al.* Theoretical Maximum Algal Oil Production. **Bioenergy Research**, v. 3, n. 2, p. 204-213, 2010.

WOERFEL, J.B. Formulation of Soy Oil Products. **Grasas y Aceites**, v. 46, p. 357-365, 1995.

YAP, P.H.; DEMAN, J.M.; DEMAN, L. Polymorphism of Palm Oil and Palm Oil Products. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 5, p. 693-697, 1989.

ZHOU, P.; LABUZA, T.P. Differential Scanning Calorimetry. In: FUQUAY, J.W.; FOX, P.F.; MCSWEENEY, P.L.H. **Encyclopedia of Dairy Sciences**, 2nd ed., Academic Press, 2011, p. 256-263.

Anexos

Anexo 1. Especificação do monolaurato de sorbitana (Croda).

CRODA		Certificate of Analysis	
Certificate prepared at Croda Singapore Pte Ltd 30 Seraya Avenue Singapore 627884		A quality management system registered to the international standard ISO 9001 was used to manufacture and test this material.	
Customer details			
		Customer Ref. Inspection Lot C of A Printed. Croda Order No. Croda Del. No. Quantity.	 040000295122 14.09.2011 0,000
Batch Details			
Product Name: Product Code: Batch No:	 SPAN 20-LQ-(SG) SD82066/0018/8S06 22424		
Quality Control Results			
Analytical Test	Specification Limit		
Method No.	Characteristic	Lower	Upper
			Value Unit Status
	Addendum 00	PASS OR FAIL	Pass - P
AS039010	APPEARANCE @ 25°C	YELLOW, AMBER	Pass - P
	(COLOUR)		
AS039010	APPEARANCE @ 25°C	LIQUID	Pass - P
	(STATE)		
ES001010	ACID VALUE	0,0	7,0 5,0 mg KOH/g P
AS006010	COLOUR (GARDNER)	0,0	8,0 4,5 P
ES010010	HYDROXYL VALUE	330,0	358,0 343,6 mg KOH/g P
ES011010	IODINE VALUE	0,0	10,0 5,4 gl2/100g P
ES014030	PEROXIDE VALUE	0,0	5,0 0,1 meqO2/kg P
	(PH EUR)		
ES018010	SAPONIFICATION VALUE	158,0	170,0 165,9 mg KOH/g P
FS022010	WATER CONTENT	0,00	1,00 0,28 % P

Anexo 2. Especificação monolaurato de sorbitana (Lipo Chemicals).



CUSTOMER: LAMBENT TECHNOLOGIES CORP.
ADDRESS 3938 PORETT DRIVE

GURNEE
IL 60031

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: LUMISORB SML K
Lot Number: G168416
Customer Number: LAMBENT
Purchase Order Number:
Lambent Order Number:
Customer Product Code:
Customer Product Name:
Lambent Part Code: SMLK
Quantity Shipped:
Yard Mark:

<u>TESTS</u>	<u>LIMITS</u>	<u>RESULTS</u>	<u>TEST METHOD</u>
APPEARANCE @25C, CLEAR LIQUID		CLEAR LIQUID	QCGMM1019
ACID VALUE	0.000 to 7.000	3.593 mg KOH/g	QCGMM1000
SAPONIFICATION	158.00 to 170.00	166.38 mg KOH/g	QCGMM1021
HYDROXYL	330.00 to 358.00	348.07 mg KOH/g	QCGMM1020
WATER	0.00 to 1.00	0.15 %	QCGMM1024

This Certificate Of Analysis Has Been Produced Electronically And Is Valid Without A Signature.

3938 Porett Dr, Gurnee IL, 60031 USA ph: 847-244-3410

Anexo 3. Especificação do monolaurato de sorbitana (Oxiten).

**CERTIFICADO DE ANÁLISE**

No 577051

Pedido: 380341

N.F.: 17800

Produto: ALKEST SP 20 R

Lote: 091117M36705

Qtde: 0,001 t

Ensaio	Método Analítico	Limite Mínimo	Limite Máximo	Resultados
Cor Gardner, 25°C	MA-782	0.	6	5
Acidez, índice de, mgKOH/g	MA-638	0.	7	3.54
Saponificação, índice de, mgKOH/g	MA-810	154	170	163.9
Hidroxila, índice de, mg KOH/g	MA-525	330	358	330.3
Água, %p	MA-875		1	0.15

Anexo 4. Especificação do monopalmitato de sorbitana (Croda).

CRODA		Certificado de Qualidade				
Certificado elaborado em Croda Inc. 315 Cherry Lane New Castle DE 19720 USA		A quality management system registered to the international standard ISO 9001 was used to manufacture and test this material.				
Detalhes do Cliente		N° pedido cliente Lote de inspeção 040000342428 Data da impressão 15.09.2011 N° Pedido N° Remessa Quantidade 0,000				
Detalhes do Lote Descrição do Produto: SPAN 40-PW-(AP) Código do Produto: SD47027/0015/4F55 N° Lote: 0000513859						
Resultados de Controle de Qualidade						
N° Método	Característica	Limite de Especificação		Valor	Unidade	Status
		Inferior	Superior			
EU0100A0	ADENDO 00	PASSA / FALHA		De acordo	-	P
EU050400	INDICE DE ACIDEZ	0,0	8,0	5,3	mg KOH/g	P
EU0402A0	INDICE DE HIDROXILA	275	305	282	mg KOH/g	P
EU0402A0	INDICE DE SAPONIFICAÇÃO	140	150	145	mg KOH/g	P
FU2904H0	UMIDADE	0,0	1,5	0,9	%	P
FU020210	CINZAS SULFATADAS	0,00	0,50	0,10	%	P
FU700000	METAIS PESADOS (NF) STATISTICAL	MAX 10 PPM		De acordo	-	P
LU700050	POLYOLS			De acordo	-	P
LU077070	Distribuição Graxa (NF)			De acordo	-	P
LU700320	SOLVENTE RESIDUAL (NF) STATISTICAL	CONFORME NF		De acordo	-	P
Sorbitan Monopalmitate NF						

Anexo 5. Especificação do monopalmitato de sorbitana (Sigma Aldrich).

Certificate of Analysis		
SIGMA-ALDRICH		
Product Name	Sorbitan monopalmitate	
Product Number	388920	
Product Brand	ALDRICH	
CAS Number	26266-57-9	
Molecular Formula	$C_{22}H_{42}O_6$	
Molecular Weight	402.57	
TEST	SPECIFICATION	LOT MKBB7118 RESULTS
Appearance (Color)	White to Yellow	Yellow
Appearance (Form)	Crystal to Powder	Lumps/Chunks Solid
Infrared spectrum	Conforms to Structure	Conforms
Carbon	59.1 - 72.2 %	67.8 %
Water (by Karl Fischer)	≤1.0 %	0.2 %
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
Solubility (Color)	c = 50 mg/ml (5%); Ethanol Colorless to Yellow	Colorless

Anexo 6. Especificação do monoestearato de sorbitana (Croda).

CRODA Certificado elaborado em Croda Inc. 315 Cherry Lane New Castle DE 19720 USA	Certificado de Qualidade A quality management system registered to the international standard ISO 9001 was used to manufacture and test this material.				
Detalhes do Cliente					
	Nº pedido cliente Lote de inspeção 040000288515 Data da impressão 14.09.2011 Nº Pedido Nº Remessa Quantidade 0,000				
Detalhes do Lote Descrição do Produto: SPAN 60-NV-PW-(AP) Código do Produto: SD47031/0015/4F55 Nº Lote: 0000471986					
Resultados de Controle de Qualidade					
Nº Método	Característica	Limite de Especificação Inferior Superior	Valor	Unidade	Status
	ADENDO 00	PASSA / FALHA	De acordo	-	P
EU0100A0	INDICE DE ACIDEZ	5,0 10,0	8,5	mg KOH/g	P
EU050400	INDICE DE HIDROXILA	235 260	246	mg KOH/g	P
EU0402A0	INDICE DE SAPONIFICAÇÃO	147 157	152	mg KOH/g	P
FU2904H0	UMIDADE	0,0 1,5	0,8	%	P
FU700400	RESIDUO POR IGNIÇÃO	0,0 0,5	0,4	%	P

Anexo 7. Especificação do monoestearato de sorbitana (Lipo Chemicals).



CUSTOMER: LAMBENT TECHNOLOGIES CORP.
ADDRESS 3938 PORETT DRIVE

GURNEE
IL 60031

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: LUMISORB SMS KP FLAKE
Lot Number: G191371
Customer Number: LAMBENT
Purchase Order Number:
Lambent Order Number:
Customer Product Code:
Customer Product Name:
Lambent Part Code: SMSKP
Quantity Shipped:
Yard Mark:

<u>TESTS</u>	<u>LIMITS</u>	<u>RESULTS</u>	<u>TEST METHOD</u>
ACID VALUE	5 to 10	6 mg KOH/g	QCGMM1000
SAPONIFICATION	147.00 to 157.00	153.23 mg KOH/g	QCGMM1021
HYDROXYL	235.00 to 260.00	235.22 mg KOH/g	QCGMM1020
WATER	0.00 to 1.50	0.14 %	QCGMM1024
ARSENIC, 3.0 PPM MAX		< 3.0 PPM	QCGSOP40
HEAVY METALS, 10.0 PPM MAX		< 10.0 PPM	QCGSOP15

This Certificate Of Analysis Has Been Produced Electronically And Is Valid Without A Signature.

3938 Porett Dr, Gurnee IL, 60031 USA ph: 847-244-3410

Anexo 8. Especificação do monoestearato de sorbitana (Oxiten).


OXITENO

CERTIFICADO DE ANÁLISE

No 577047

Produto: ALKEST SP 60
Lote: 100801M100480

Pedido: 380341

N.F.: 17800

Qtde: 0,001 t

Ensaio	Método Analítico	Limite Mínimo	Limite Máximo	Resultados
Saponificação, índice de , mgKOH/g	MA-810	144	160	151.1
Hidroxila, índice de, mg KOH/g	MA-525	230	265	242.2
Água, %p	MA-875		2	0.8

Anexo 9. Especificação do monoestearato de sorbitana (Sigma Aldrich).

Certificate of Analysis SIGMA-ALDRICH		
Product Name	Span [™] 60	
Product Number	S7010	
Product Brand	SIGMA	
CAS Number	1338-41-6	
TEST	SPECIFICATION	LOT 060M0142V RESULTS
Appearance (Color)	White to Off-White	Off-White
Appearance (Form)	Powder	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Faint Yellow	Colorless
Solubility (Turbidity)	Clear	Clear
Water (by Karl Fischer)	50 mg/mL, EtOH	
Purity (GC)	≤5 %	2 %
	45 - 55 %	50 %
	Stearic acid (18:0) balance	
	primarily palmitic	
	acid (16:0)	
Note	-----	

	Span is a registered trademark of	
	Croda	
	International PLC.	

106

Anexo 11. Especificação do monooleato de sorbitana (Lipo Chemicals).



CUSTOMER: LAMBENT TECHNOLOGIES CORP.
ADDRESS 3938 PORETT DRIVE

GURNEE
IL 60031

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: LUMISORB SMO K
Lot Number: G197767
Customer Number: LAMBENT
Purchase Order Number:
Lambent Order Number:
Customer Product Code:
Customer Product Name:
Lambent Part Code: SMOK
Quantity Shipped:
Yard Mark:

<u>TESTS</u>	<u>LIMITS</u>	<u>RESULTS</u>	<u>TEST METHOD</u>
ACID VALUE	0.000 to 8.000	4.698 mg KOH/g	QCGMM1000
SAPONIFICATION	149.00 to 160.00	152.06 mg KOH/g	QCGMM1021
HYDROXYL	193.00 to 209.00	202.58 mg KOH/g	QCGMM1020
APPEARANCE @25C, CLEAR AMBER LIQUID		CLEAR AMBER LIQUID	QCGMM1019

This Certificate Of Analysis Has Been Produced Electronically And Is Valid Without A Signature.

3938 Porett Dr, Gurnee IL, 60031 USA ph: 847-244-3410

Anexo 12. Especificação do monooleato de sorbitana (Oxitenos).

 **OXITENO**

CERTIFICADO DE ANÁLISE

No577050

Produto: ALKEST SP 80
Lote: 101124M42673

Pedido: 380341
N.F.: 17800
Qtde: 0,001 t

Ensaio	Método Analítico	Limite Mínimo	Limite Máximo	Resultados
Aparência, 25°C	MA-742	líquido limpido amarelado		PASSA
Cor Gardner, 25°C	MA-782		8	8.
Acidez, índice de, mgKOH/g	MA-638		8	4.9
Saponificação, índice de, mgKOH/g	MA-810	145	160	156.4
Metais pesados, ppm	MA-724		10	10
Hidroxila, índice de, mg KOH/g	MA-525	190	215	201.9
Água, %p	MA-875		0.5	0.1

109