UNICAMP

MARIA ALICIANE FONTENELE DOMINGUES

AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE EMULSIFICANTES SOBRE AS PROPRIEDADES DE CRISTALIZAÇÃO DE GORDURAS INDUSTRIAIS

CAMPINAS
2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA ALIMENTOS

MARIA ALICIANE FONTENELE DOMINGUES

AVALIAÇÃO DA INCORPORAÇÃO DE EMULSIFICANTES SOBRE AS PROPRIEDADES DE CRISTALIZAÇÃO DE GORDURAS INDUSTRIAIS

ORIENTADORA PROFª DRª**: LIRENY APARECIDA GUARALDO GONÇALVES**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutora em Tecnologia de Alimentos.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA MARIA ALICIANE FONTENELE DOMINGUES E ORIENTADA PELA PROFª. DRª. LIRENY A. G. GONÇALVES

Assinatura do Orientador (a)

_____

CAMPINAS
2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano de Souza - CRB 8/5816

Domingues, Maria Aliciane Fontenele, 1983-
D713a Avaliação da incorporação de emulsificantes sobre as propriedades de cristalização de gorduras industriais / Maria Aliciane Fontenele Domingues. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Cristalização. 2. Óleos e gorduras. 3. Emulsificantes. 4. Industriais. 5. Polimorfismo. I. Gonçalves, Lireny Aparecida Guaraldo. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Evaluation of emulsifiers addition on the crystallization properties of industrial fats
Palavras-chave em inglês:
Crystallization
Oils and fats
Emulsifiers
Industries
Polimorphism
Área de concentração: Tecnologia de Alimentos
Titulação: Doutora em Tecnologia de Alimentos
Banca examinadora:
Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves [Orientador]
Ana Paula Badan Ribeiro
Renato Grimaldi
Denise Fabiana Silvestre Becker de Almeida
Adenilson Oliveira dos Santos
Data de defesa: 25-09-2013
Programa de Pós-Graduação: Tecnologia de Alimentos

Banca Examinadora

_____

Profª. Drª Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
(Orientadora)

_____

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

_____

Profª. Dr. Adenilson de Oliveira dos Santos
(Membro Titular)
UFMA

_____

Drª Denise Fabiana Silvestre Becker de Almeida
(Membro Titular)
Ingredion Brasil

_____

Dr. Renato Grimaldi
(Membro Titular)
UNICAMP

_____

Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch
(Membro suplente)
UNICAMP

_____

Drª. Andrea M. Maciel Guedes
(Membro suplente)
EMBRAPA

_____

Profª. Drª. Juliana N. Rodrigues Ract
(Membro suplente)
USP

“As adversidades preparam pessoas comuns para destinos extraordinários.”

C.S. Lewis

À minha família com todo amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela minha vida e por renovar minhas forças a cada dia.

À minha mãe Fátima, pelo amor, apoio e dedicação. Ao meu pai Francisco, pelo exemplo de trabalho e honestidade. Aos meus queridos irmãos Adriana e Alexandre, vocês são os melhores irmãos do mundo. Ao meu querido sobrinho Pedro Isac, que ilumina nossas vidas com sua existência.

A minha orientadora, Profª Lireny A. G. Gonçalves, por ter aceitado me orientar e assim, estar aprendendo com os melhores profissionais do Brasil na área de óleos e gorduras.

Ao Edgar, pela amizade, companheirismo, afeto, apoio, por compartilhar a sua vida comigo e por fazer a minha vida mais feliz a cada dia.

À Alaíde, pela grande amizade, pela alegria e pelo apoio em todos os momentos. Você é muito preciosa para mim.

À Ana Paula, pela amizade, por todos os conselhos e ensinamentos e por ter escrito o Projeto Temático – FAPESP, através do qual foi possível a realização deste trabalho.

Ao Professor Theo Guenter Kieckbusch, pela coordenação do Projeto Temático – FAPESP e pela gentileza com que fui recebida em seu laboratório.

À banca examinadora, pelo auxílio para melhorar o trabalho através das correções.

Aos amigos: Eriksen, Katrina, Maria Cristina, Kelly, Camília, Thaís, Ruann e Chiu, pela amizade, apoio e convivência agradável.

À Universidade Estadual de Campinas, pelo suporte acadêmico e pela oportunidade de estudar em uma das melhores universidades do mundo.

À CAPES, pela bolsa de estudos e o apoio financeiro.

Ao Professor Luiz Antonio Gioielli, pela gentileza e grande auxílio nas análises de microscopia.

Ao Professor Lisandro Pavie Cardoso, pela alegre recepção em seu laboratório e apoio com as análises de difração de Raios-X.

A todos os colegas do laboratório de óleos e gorduras, da Faculdade de Engenharia de Alimentos, da Faculdade de Engenharia Química e da Faculdade de Ciências Aplicadas, pela amizade e pelo prazer de tê-los conhecido.

Resumo

A cristalização de gorduras é um fator crítico associado à estruturação e propriedades de grande parte dos alimentos. No Brasil, as questões controversas acerca do papel dos ácidos graxos *trans* na alimentação ocasionaram modificações progressivas na legislação e no uso industrial de gorduras, levando à substituição das gorduras parcialmente hidrogenadas por gorduras interesterificadas, fracionadas ou *blends*. Considerando que este processo de substituição foi ampliando, os problemas de comportamento de cristalização devido à não adequação das novas frações gordurosas são inúmeros e agravados, principalmente, pelas diferenças climáticas regionais e condições de transporte e estocagem. Logo, a adequação da cinética de cristalização destas bases gordurosas é de extrema importância para que o uso das mesmas possa ser ajustado às limitações dos processos industriais e para melhorar o controle de etapas de processamento que envolva recristalização da fração gordurosa, garantindo a qualidade do produto final. Caso contrário, os tempos de processamento e equipamentos já padronizados precisam ser alterados segundo as características da gordura utilizada. Emulsificantes são aditivos funcionais de extrema importância na indústria de alimentos, que podem ser utilizados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase gordurosa. O estudo dos efeitos de emulsificantes em sistemas gordurosos é de grande interesse para o melhoramento de novas bases gordurosas com finalidades específicas, uma vez que propriedades apropriadas de cristalização são de difícil obtenção quando da ausência de ácidos graxos *trans*. O papel destes compostos como modificadores de cristalização em gorduras naturais e comerciais é pouco explorado, constituindo-se em um assunto inovador sob o ponto de vista da indústria de alimentos. Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da incorporação de ésteres de sorbitana e sacarose sobre as propriedades de cristalização da gordura interesterificada base soja, do óleo de palma e da fração mediana de palma (*soft* PMF). Estas gorduras industriais apresentam algumas limitações quanto a sua aplicação, especialmente relacionadas com determinadas propriedades, tais como: consistência e plasticidade dos produtos durante as etapas de produção e estocagem; propriedades sensoriais, como sensação de fusão na boca; estabilidade física, com respeito à formação ou sedimentação de cristais e exsudação de óleo; e aparência visual, a exemplo do brilho em chocolates e coberturas. Portanto, o presente trabalho mostra grande relevância para o setor produtivo de óleos e gorduras.

Palavras-chave: cristalização de gorduras industriais, behenato de sacarose, estearato de sacarose, propriedades físicas, polimorfismo, triestearato de sorbitana.

Abstract

Fat crystallization is a critical factor associated with either structuring or properties of most foods. In Brazil, controversial issues about the role that *trans* fatty acid plays on food gave rise to progressive changes in the legislation as well as in the industrial use of fat, which leads to partial substitution of hydrogenated fat by interesterified, fractionated or blended fat. Considering that this substitution process was expanded, problems regarding crystallization behavior are countless and even aggravated because the new fat fractions are not adequate, mainly for regional climatic differences, transportation and storage conditions. Therefore, the crystallization kinetic inadequacy of such fatty bases is extremely important, so that their use can fit the industrial process limitation purposes and improve the control on processing stages that involve recrystallization of fat fractions, ensuring the quality of the final product. Otherwise, time processing and equipment already brought into line need to be changed according to the characteristics of the fat used. Emulsifiers are extremely important functional additives in food industry and can be used to either control or modify the crystallization properties in the fatty stage. The study of emulsifiers effects on fatty systems is of great interest to improve new fatty bases with specific purposes, since appropriate crystallization properties are difficult to obtain when *trans* fatty acid lacks. The role of these compounds as crystallization modifiers in natural and commercial fat is not much investigated, thus constituting an original subject under the food industry point of view. In this context, the aim of this study was to evaluate the effect of addition of sorbitan and sucrose esters on the crystallization properties of interesterified fat based soy, palm oil and palm median fraction (soft PMF). These industrial fats present some limitations regarding their application, especially related to certain properties, such as: product consistency and plasticity during the stages of production and storage; sensory properties like melting sensation in the mouth; physical stability with respect to crystal formation or sedimentation and oil exudation; and visual appearance, like the glint in chocolates and coatings. Therefore, this work shows highly relevant to the productive sector of oils and fats.

Keywords: industrial fats crystallization, physical properties, polymorphism, sorbitan tristearate, sucrose behenate, sucrose stearate.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS xxi
LISTA DE TABELAS xxv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS xxvii

Introdução 1

Capítulo 1

Revisão de Literatura

1. Óleos e gorduras 7
2. Propriedades físicas dos óleos e gorduras 7
   2.1. Comportamento de cristalização 7
      2.1.1. Mecanismos de cristalização dos lipídios 8
      2.1.2. Nucleação 9
      2.1.3. Recristalização 10
      2.1.4. Cinética de cristalização 11
      2.1.5. Polimorfismo 13
      2.1.6. Microestrutura 16
3. Controle da cristalização 19
4. Gorduras para uso industrial 21
   4.1. Gorduras interesterificadas 21
   4.2. Óleo de palma 22
   4.3. Fração mediana de palma (PMF) 24
5. Problemas de cristalização em matérias-primas de grande importância industrial ... 26
6. Características gerais dos emulsificantes 28
   6.1. Uso de emulsificantes como modificadores de cristalização 32
   6.2. Emulsificantes baseados em açúcares 34
      6.2.1. Ésteres de sorbitana 34
      6.2.2. Ésteres de sacarose 36
7. Referências Bibliográficas 38

Capítulo 2

Caracterização das propriedades físicas do triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose.

Resumo 47

1. Introdução 50
2. Material e Métodos 50

2.1. Material 50
2.2. Métodos 50
2.2.1. Cinética de cristalização 50
2.2.2. Microestrutura 51
2.2.3. Estudo de superfície por MEV 51
2.2.4. Comportamento térmico 52
2.2.5. Polimorfismo e Difração de Raios-X 52
3. Resultados e Discussão 53
3.1. Cinética de cristalização 53
3.2. Microestrutura óptica e estrutura de superfície 55
3.3. Comportamento térmico e polimórfico 59
4. Conclusões 62
5. Referências Bibliográficas 63

Capítulo 3

Uso de ésteres de sorbitana e sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura zero-*trans* base soja

Resumo 67

1. Introdução 68
2. Material e Métodos 70
2.1. Material 70
2.1.1. Matérias-Primas 70
2.1.2. Mistura e Interesterificação química 71
2.1.3. Preparação das amostras 71
2.2. Métodos 71
2.2.1. Composição em ácidos graxos 71
2.2.2. Composição Triacilglicerólica 72
2.2.3. Quantificação de lipídios minoritários 72
2.2.4. Distribuição regioespecífica 73
2.2.5. Conteúdo de gordura sólida (SFC) 73
2.2.6. Ponto de fusão 74
2.2.7. Consistência 74
2.2.8. Microestrutura.....74
2.2.9. Visualização da rede cristalina tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 75
2.2.10. Cinética de cristalização 75
2.2.11. Comportamento térmico 76
2.2.12. Polimorfismo e Difração de Raios-X 77
2.2.13. Análise estatística.....77

3. Resultados e Discussão 77
3.1. Composição da gordura interesterificada zero-trans base soja 77
3.2. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o conteúdo de gordura sólida 79
3.3. Diagramas de compatibilidade 83
3.4. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a consistência da gordura 84
3.5. Microestrutura 86
3.6. Estrutura de superfície 91
3.7. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a cinética de cristalização Isotérmica 93
3.7.1. Tempo de indução 93
3.7.2. Análise dos parâmetros de Avrami 95
3.8. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento térmico 98
3.9. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento polimórfico 104
4. Conclusões 108
5. Referências Bibliográficas 109

Capítulo 4

Efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado

Resumo 117

1. Introdução 118
2. Material e Métodos 120
2.1. Matérias-Primas 120
2.1.1. Preparo das amostras 120
2.2. Métodos 120
2.2.1. Composição em ácidos graxos 120
2.2.2. Composição Triacilglicerólica 121
2.2.3. Quantificação de lipídios minoritários 121
2.2.4. Distribuição regioespecífica 122
2.2.5. Conteúdo de gordura sólida (SFC) 122
2.2.6. Ponto de fusão 122
2.2.7. Consistência 123
2.2.8. Microestrutura.....123
2.2.9. Visualização da rede cristalina tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 124
2.2.10. Cinética de cristalização 124
2.2.11. Comportamento térmico 125
2.2.12. Polimorfismo e Difração de Raios-X 125
2.2.13. Análise estatística 126

3. Resultados e Discussão 127
3.1. Composição química do óleo de palma 127
3.2. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o conteúdo de gordura sólida 129
3.3. Diagramas de compatibilidade e ponto de fusão 131
3.4. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a consistência do óleo de palma ..134
3.5. Microestrutura 136
3.6. Visualização da rede cirstalina tridimensional 141
3.7. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a cinética e parâmetros de Avrami 143
3.7.1. Tempo de indução 143
3.7.2. Efeito sobre os parâmetros de Avrami 145
3.8. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento térmico 147
3.9. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento polimórfico 153
4. Conclusões 157
5. Referências Bibliográficas 158

Capítulo 5

Modificação das propriedades de cristalização da *soft* PMF pela adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose

Resumo 165

1. Introdução 166
2. Material e Métodos 167
2.1. Matérias-Primas 167
2.1.1. Preparação das amostras 168
2.2. Métodos 168
2.2.1. Composição em ácidos graxos 168
2.2.2. Composição Triacilglicerólica 168
2.2.3. Quantificação de lipídios minoritários 169
2.2.4. Distribuição regioespecífica 169
2.2.5. Conteúdo de gordura sólida (SFC) 170
2.2.6. Ponto de fusão 170
2.2.7. Consistência 170
2.2.8. Microestrutura 171
2.2.9. Visualização da rede cristalina tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 171
2.2.10. Cinética de cristalização 172
2.2.11. Comportamento térmico 172
2.2.12. Polimorfismo e Difração de Raios-X 173
2.2.13. Análise estatística 173
3. Resultados e Discussão 174

3.1. Composição química da soft PMF 174
3.2. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o conteúdo de gordura sólida 176
3.3. Diagramas de compatibilidade e ponto de fusão 178
3.4. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a consistência da gordura 181
3.5. Efeito da adição dos emulsificantes sobre a microestrutura da soft PMF 183
3.6. Visualização da superfície por MEV 188
3.7. Efeito sobre a cinética de cristalização isotérmica 190
3.7.1. Tempo de indução 190
3.7.2. Efeito sobre os parâmetros de Avrami 192
3.8. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento de fusão 194
3.9. Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento polimórfico 199
4. Conclusões 204
5. Referências Bibliográficas 205

Capítulo 6

Estudo da modificação da cristalização de gorduras industriais zero *trans* a partir da adição de behenato de sacarose

Resumo 213

1. Introdução 214
2. Material e Métodos 215
2.1. Matérias-Primas 215
2.1.1. Preparação das amostras 215
2.2. Métodos 216
2.2.1. Composição em ácidos graxos 216
2.2.2. Composição Triacilglicerólica 216
2.2.3. Conteúdo de gordura sólida (SFC) 217
2.2.4. Consistência 217
2.2.5. Cinética de cristalização 218
2.2.6. Microestrutura.....218
2.2.7. Comportamento térmico 219
2.2.8. Polimorfismo e Difração de Raios-X 219
3. Resultados e Discussão 220
3.1. Composição Química 220
3.2. Efeito sobre o perfil de sólidos das gorduras 221
3.3. Efeito sobre a consistência das gordura industriais 222
3.4. Efeito sobre a cinética de cristalização das gorduras 224
3.5. Efeito sobre a microestrutura das gorduras industriais 228
3.6. Efeito sobre o comportamento térmico das gorduras industriais 231
3.7. Efeito sobre o comportamento polimórfico das gorduras industriais 235

4. Conclusões 238
5. Referências Bibliográficas 239

Conclusões Gerais 243

LISTA DE FIGURAS

Capitulo 1

Revisão de Literatura

Figura 1. Projeções espaciais das formas cristalinas α, β' e β 14
Figura 2. Resumo do processo envolvendo a cristalização e estocagem de gorduras 21
Figura 3. Etapas do fracionamento a seco do óleo de palma 25
Figura 4. Caracaterística anfifílica dos emulsificantes 29
Figura 5. Configurações em DCL (*double chain length*) e SCL (*single chain length*) 30
Figura 6. Estruturas esquemáticas das mesofases termotrópicas e liotrópicas formadas por n-octil β-D-glicopiranosidio 31
Figura 7. Estrutura química do Triestearato de Sorbitana (STS) 34
Figura 8. Estruturas químicas do estearato e behenato de sacarose 37

Capitulo 2

Caracterização das propriedades físicas do triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose.

Figura 1. Isotermas de cristalização dos emulsificantes a 25°C 53
Figura 2. Microscopia sob luz polarizada dos emulsificante 56
Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura dos emulsificantes 58
Figura 4. Fenômenos térmicos de fusão e cristalização dos emulsificantes 60
Figura 5. Padrões de difração dos emulsificantes 61

Capitulo 3

Uso de ésteres de sorbitana e sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura zero-*trans* base soja

Figura 1. Perfis de sólidos da gordura interesterificada base soja e de suas misturas com triestearato de sobitana (a) e estearato de sacarose (b) 80
Figura 2. Diagramas de compatibilidade entre a gordura interesterificada base soja e os emulsificantes triestearato de sorbitana e estearato de sacarose nas concentrações de 1%, 3% e 5% 84

Figura 3. Valores de consistência da gordura interesterificada base soja e adicionada dos emulsificantes STS e SE nas proporções de 1%, 3% e 5% 85
Figura 4. Microestrutura da gordura interesterificada e sua mistura com STS e ES a 25°C (ampliação de 40x) 90
Figura 5. Microscopia eletronica de varredura (MEV) da superfície das amostras de gordura interesterificada base soja e adicionada de STS e ES nas concentrações de 1%, 3% e 5% 92
Figura 6. Isoterma de cristalização da gordura interesterificada sem e com a adição dos emulsificantes STS e ES por RMN a 25°C 94
Figura 7. Fenômeno térmico de cristalização das amostras de gordura interesterificada base soja e sua mistura com STS e ES 101
Figura 8. Fenômeno térmico de fusão das amostras de gordura interesterificada base soja e sua mistura com STS e ES 103
Figura 9. Padrões de difração de Raios-X da gordura interesterificada e sua mistura com STS 106
Figura 10. Padrões de difração de Raios-X da gordura interesterificada e sua mistura com STS 107

Capitulo 4

Efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado

Figura 1. Perfis de sólidos do óleo de palma (OP) e sua mistura com (a) STS e (b) ES nas proporções de 1%, 3% e 5% 130
Figura 2. Diagramas de compatibilidade do óleo de palma e sua mistura com (a STS e (b) ES nas concentrações de 1%, 3% e 5% 133
Figura 3. Valores de consistência do óleo de palma e sua mistura com (a) STS e (b) ES nas proporções de 1%, 3% e 5% 135
Figura 4. Microscopia sob luz polarizada das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS e ES nas proporções de 1%, 3% e 5% a 20°C 140

Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície do corte vertical das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS e ES nas concentrações de 1%, 3% e 5% 142
Figura 6. Isoterma de cristalização do óleo de palma (OP) e sua mistura com STS e ES na temperatura de 20°C 144
Figura 7. Fenômeno térmico de cristalização do óleo de palma (OP) e sua mistura com STS e ES nas proporções de 1%, 3% e 5%.....149
Figura 8. Fenômeno térmico de fusão do óleo de palma (OP) e sua mistura com STS e ES nas proporções de 1%, 3% e 5%.....152
Figura 9. Padrões de difração de Raios-X do óleo de palma e de sua mistura com triestearato de sorbitana nas concentrações de 1%, 3% e 5% estabilizadas na temperatura de 25°C. 154
Figura 10. Padrões de difração de Raios-X do óleo de palma e de sua mistura com estearato de sacarose nas concentrações de 1%, 3% e 5% estabilizadas na temperatura de 25°C. 156

Capitulo 5

Modificação das propriedades de cristalização da *soft* PMF pela adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose

Figura 1. Conteúdo de gordura sólida da soft PMF e das misturas com STS e ES 177
Figura 2. Diagramas de compatibilidade das misturas *soft* PMF/STS (a) e *soft* PMF/ES (b) 180
Figura 3. Valores de consistência das amostras de soft PMF e sua mistura com STS e SE.....182
Figura 4. Microestrutura sob luz polarizada das amostras de soft PMF e sua mistura com STS e ES estabilizadas na temperatura de 20°C 186
Figura 5. Microscopia eletronica de varredura (MEV) da superfície do crote vertical das amostras de soft PMF e sua mistura com STS e ES.....189
Figura 6. Isoterma de cristalização das amostras de soft PMF e sua mistura com STS e ES na temperatura de 15°C 191

Figura 7. Fenômeno térmico de fusão da soft PMF (a) e das misturas com 1% de STS (b), 3% de STS (c) e 5% de STS (d), a uma taxa de 2°C/min 196
Figura 8. Fenômeno térmico de fusão da soft PMF (a) e das misturas com 1% de ES (b), 3% de ES (c) e 5% de ES (d), a uma taxa de 2°C/min 198
Figura 9. Padrões de difração de Raios-X da soft PMF e das misturas com STS estabilizadas a 25°C 201
Figura 10. Padrões de difração de Raios-X da soft PMF e das misturas com ES estabilizadas a 25°C.....203

Capitulo 6

Estudo da modificação da cristalização de gorduras industriais zero *trans* a partir da adição de behenato de sacarose

Figura 1. Conteúdo de gordura sólida (SFC) das gorduras industriais e sua mistura com 1% de Behenato de sacarose (B-370) 221
Figura 2. Valores de consistência das gorduras industriais usadas neste estudo e suas misturas com 1% de behenato de sacarose (B-370) 223
Figura 3. Isoterma de cristalização a 20°C (a) e a 25°C (b) das gorduras industriais e suas misturas com 1% de behenato de sacarose (B-370) 225
Figura 4. Microscopia sob luz polarizada das amostras de gordura interesterificada (A1); gordura interesterificada+1% de B-370 (A2); óleo de palma (B1); óleo de palma+1% de B-370 (B2); PMF (C1); PMF+1% de B-370 (C2) na temperatura de 20°C.....230
Figura 5. Fenômeno térmico de cristalização das gorduras industriais suas misturas com 1% de behenato de sacarose 233
Figura 6. Fenômeno térmico de fusão das gorduras industriais suas misturas com 1% de behenato de sacarose 234
Figura 7. Padrões de difração de Raios-X das amostras de gordura e suas misturas com behenato de sacarose (B-370), estabilizadas na temperatura de 25°C.237

LISTA DE TABELAS

Capitulo 1

Revisão de Literatura

Tabela 1. Valores do expoente de Avrami (n) para diferentes tipos de nucleação e crescimento cristalino 17

Capitulo 2

Caracterização das propriedades físicas do triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose

Tabela 1. Especificações dos emulsificantes 50

Tabela 2. Tempo de indução (tSFC), conteúdo máximo de gordura sólida (SFCmáx), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R2) das de emulsificantes 55

Tabela 3. Parâmetros termodinâmicos de cristalização dos emulsificantes avaliados por calorimetria diferencial de varredura (DSC) 59

Capitulo 3

Uso de ésteres de sorbitana e sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura zero-*trans* base soja

Tabela 1. Composição em ácidos graxos e triacilglicerólica da gordura interesterificada base soja 78

Tabela 2. Distribuição regioespecífica dos ácidos graxos na gordura interesterificada 79

Tabela 3. Ponto de fusão das amostras de gordura interesterificada e sua mistura com STS e ES 82

Tabela 4. Diâmetro médio, dimensão fractal e porcentagem de área cristalizada da gordura interesterificada e sua mistura com STS e ES a 25°C 88

Tabela 5. Tempo de indução (tSFC), conteúdo máximo de gordura sólida (SFCmáx), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R2) das amostras de gordura interesterifica base soja sem e com emulsificantes 97

Tabela 6. Parâmetros termodinâmicos de cristalização das amostras avaliados por calorimetria diferencial de varredura 99
Tabela 7. Formas polimórficas e *short spacings* da amostra de gordura interesterificada e sua mistura com STS 105
Tabela 8. Formas polimórficas e *short spacings* da amostra de gordura interesterificada e sua mistura com ES 107

Capitulo 4

Efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado

Tabela 1. Composição química do óleo de palma refinado: ácidos graxos, diacilgliceróis, triacilgliceróis e índice de iodo 127
Tabela 2. Distribuição regioespecífica dos ácidos graxos saturados, oleico, linoleico no óleo de palma 128
Tabela 3. Ponto de fusão das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS e ES 132
Tabela 4. Número de cristais, diâmetro médio, dimensão fractal e porcentagem de área cristalizada do óleo de palma e sua mistura com STS e ES analisados na temperatura de 20°C 137
Tabela 5. Parâmetros de Avrami das amostras em estudo determinados a partir da isoterma de cristalização na temperatura de 20°C 146
Tabela 6. Análise dos fenômenos térmicos de cristalização e fusão das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS e ES 150
Tabela 7. Efeito da adição de STS sobre o polimorfismo do óleo de palma (temperatura de estabilização de 25°C) 153
Tabela 8. Efeito da adição de ES sobre o polimorfismo do óleo de palma (temperatura de estabilização de 25°C) 155

Capitulo 5

Modificação das propriedades de cristalização da *soft* PMF pela adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose

Tabela 1. Composição em ácidos graxos e triacilglicerólica da *soft* PMF 175
Tabela 2. Distribuição regioespecífica dos ácidos graxos oleico, linoleico e saturados da soft PMF 176
Tabela 3. Perfil de fusão da soft PMF e sua mistura com STS e ES 179
Tabela 4. Número de cristais, diâmetro médio, dimensão fractal e porcentagem de área cristalizada da soft PMF e sua mistura com STS e ES analisados na temperatura de 20°C 184
Tabela 5. Parâmetros de Avrami das amostras de soft PMF e sua mistura com STS e ES determinados a partir da isoterma de cristalização na temperatura de 15°C 193
Tabela 6. Efeito da adição de STS sobre o polimorfismo da soft PMF (temperatura de estabilização de 25°C) 200
Tabela 7. Efeito da adição de ES sobre o polimorfismo da soft PMF (temperatura de estabilização de 25°C) 202

Capitulo 6

Estudo da modificação da cristalização de gorduras industriais zero *trans* a partir da adição de behenato de sacarose

Tabela 1. Teor de ácidos graxos insaturados e triacilgliceróis SUU+UUU e SSS das gorduras industriais em estudo.....220
Tabela 2. Tempo de indução (tSFC), conteúdo máximo de gordura sólida (SFCmáx), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R2) das amostras em estudo cristalizadas a 20°C 226
Tabela 3. Tempo de indução (tSFC), conteúdo máximo de gordura sólida (SFCmáx), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R2) das amostras em estudo cristalizadas a 25°C 227

Tabela 4. Diâmetro de cristal e Dimensão Fractal das gorduras industriais e sua mistura com 1% de behenato de sacarose 229
Tabela 5. Fenômenos térmicos de cristalização e fusão das gorduras industriais e suas misturas com 1% de behenato de sacarose 232
Tabela 6. Formas polimórficas e *short spacings* das gorduras industriais e suas mistruas com 1% de behenato de sacarose 235

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B-370	Behenato de sacarose
DAGs	Diacilgliceróis
ES	Estearato de sacarose
GI	Gordura interesterificada
HLB	Balanço hidrofílico-lipofílico
K	Constante de Avrami
MAGs	Monoacilgliceróis
n	Expoente de Avrami
OP	Óleo de palma
PMF	Fração mediana de palma
S-370	Estearato de sacarose
SFC	Conteúdo de gordura sólida
STS	Triestearato de sorbitana
TAGs	Triacilgliceróis

Introdução Geral

O segmento industrial de óleos e gorduras tornou-se, nos últimos anos, uma importante área de pesquisa e desenvolvimento tecnológico. O número de pesquisas relacionadas às propriedades físicas de óleos e gorduras mostra-se crescente, e em resumo, podem ser definidos como comportamento de fusão e cristalização, estabilidade cristalina e oxidativa.

O comportamento de cristalização de lipídios tem implicações importantes no processamento industrial de produtos alimentícios cujas características físicas dependem em grande parte de cristais de gorduras. Tais produtos incluem chocolates, margarinas, *spreads*, gorduras para confeitaria e panificação, produtos lácteos e *shortenings* de uso geral (SATO, 2001). Entretanto, a cristalização é o problema físico mais importante no que se refere aos óleos e gorduras (LIDEFELT, 2007), destacando-se problemas como as transições polimórficas indesejáveis, exsudação de óleo, desenvolvimento de *fat bloom*, formação de aglomerados cristalinos, além de bases gordurosas com teor máximo de gordura sólida ou períodos de indução incompatíveis com determinadas aplicações industriais. Assim, pesquisas recentes procuram entender os fenômenos envolvidos na cristalização de lipídios, na tentativa de propor soluções efetivas para a estabilização ou modificação deste processo, conforme a natureza da matéria-prima e sua aplicação industrial. Neste sentido, o uso de emulsificantes como agentes modificadores de cristalização tem marcado tendência em pesquisas da área de óleos e gorduras. Inicialmente, os estudos foram baseados nos efeitos dos emulsificantes sobre a cristalização de triacilgliceróis puros ou sistemas-modelo (ARONHIME *et al*., 1987; ARONHIME *et al*., 1988; ARONHIME *et al*., 1990) e recentemente as pesquisas tem focado o efeito dos emulsificantes sobre as propriedades de cristalização dos diferentes tipos de gorduras, como a gordura de leite (PUPPO *et al*., 2002; CERDEIRA *et al*., 2003; CERDEIRA *et al*., 2005) gorduras *low-trans* (HERRERA *et al*., 2006; MARTINI e HERRERA, 2008), óleo de palma e suas frações (MISKANDAR *et al*, 2006; MISKANDAR *et al*., 2007), manteiga de cacau (TORO-VASQUEZ *et al*., 2005; MASUCHI *et al*., 2012; MIYASAKI *et al*., 2012) na cristalização de emulsões (AWAD e SATO., 2001; SONODA *et al*., 2006) e na produção

de organogéis, que consiste na estruturação de óleos a partir do uso de emulsificantes (PERNETTI *et al*., 2007). Embora o estudo dos efeitos de emulsificantes em sistemas gordurosos seja de grande interesse para o melhoramento de bases industriais, particularmente em relação às gorduras para uso em chocolates, confeitaria e panificação, o papel destes compostos como modificadores de cristalização em gorduras naturais e comerciais ainda é pouco explorado na literatura técnica (HASENHUETTL, 2008).

A cristalização de lipídios figura como um problema crônico na indústria de alimentos, com respeito aos processos industriais propriamente ditos e aos eventos pós-cristalização. No Brasil, contudo, a problemática da cristalização apresenta agravantes adicionais, relacionados a grandes diferenças climáticas do território nacional e as condições de transporte e estocagem impostas por longas distâncias entre regiões produtoras e distribuição final. Assim, verifica-se de forma contundente a necessidade de se disponibilizar soluções adequadas para os processos envolvendo a cristalização e estabilização de matérias-primas de significativa relevância industrial, a exemplo do óleo de palma e das gorduras fracionadas e interesterificadas, que passaram a substituir as gorduras parcialmente hidrogenadas (ou gorduras *trans*) na grande maioria das aplicações industriais. Portanto considera-se este estudo como pesquisa de base e seus objetivos mostram grande relevância para o setor produtivo de óleos e gorduras.

O Capítulo 1 consiste de uma revisão bibliográfica sobre as propriedades de cristalização de lipídios, assim como dos principais métodos de caracterização destas propriedades. A revisão também aborda as pesquisas relativas ao controle da cristalização de gorduras industriais a partir da adição de emulsificantes.

O Capítulo 2 caracteriza as propriedades de cristalização dos emulsificantes triestearato de sorbitana (STS), estearato de sacarose (ES) e behenato de sacarose, que foram utilizados como aditivos nas gorduras industriais com o objetivo de controlar ou modificar as propriedades de cristalização das mesmas.

O Capítulo 3 aborda o uso dos emulsificantes triestearato de sorbitana e estearato de sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura interesterificada zero *trans* base soja.

O Capítulo 4 apresenta os resultados da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado.

O Capítulo 5 apresenta uma discussão sobre as propriedades de cristalização da fração mediana de palma (*soft* PMF) e o efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre propriedades físicas da mesma.

O Capítulo 6 baseia-se no estudo da modificação das prorpriedades de cristalização da gordura interesterificada base soja, do óelo de palma refinado e da *soft* PMF a partir da adição de behenato de sacarose.

Os resultados apresentados neste trabalho servirão como base de informação para as indústrias alimentícias, assim como para futuras pesquisas científicas que abordem o uso de emulsificantes como controladores ou modificadores das propriedades de cristalização de óleos e gorduras.

Capítulo 1

Revisão de Literatura

Revisão de Literatura

1. Óleos e gorduras

Óleos e gorduras comestíveis são nutrientes essenciais da dieta humana, apresentando papel vital mediante o fornecimento de ácidos graxos essenciais e energia. Quimicamente, óleos e gorduras naturais consistem de misturas multi-componentes de triacilgliceróis (TAGs), que são ésteres de glicerol e ácidos graxos. Adicionalmente, lipídios polares (ou minoritários), como diacilgliceróis (DAGs), monoacilgliceróis (MAGs), ácidos graxos livres, fosfolipídios, glicolipídios e esteróis encontram-se solubilizados na matriz triacilglicerólica. Em especial, a composição triacilglicerólica determina as propriedades físicas dos óleos e gorduras, afetando a estrutura, estabilidade, sabor, aroma, qualidade de estocagem, características sensoriais e visuais dos alimentos (O'BRIEN, 2004).

As propriedades físicas de um óleo ou gordura são de importância fundamental para determinar sua utilização. Isto é particularmente verdade para a grande quantidade e variedade de óleos e gorduras utilizados em várias formas, como alimentos. A diferença entre as palavras "óleo" e "gordura" refere-se a uma propriedade física fundamental, a fluidez ou consistência na temperatura ambiente. Os componentes das gorduras as caracterizam como um material composto por uma mistura íntima das fases líquida e sólida, e seu estado físico pode variar entre um líquido fluido viscoso a um sólido plástico ou quebradiço (TIMMS, 1990).

2. Propriedades físicas dos óleos e gorduras

2.1 Comportamento de cristalização

Gorduras plásticas consistem de uma rede cristalina em uma matriz oleosa contínua. O processo de cristalização é a ordenação espontânea do sistema, caracterizado por restrição total ou parcial de movimento ocasionada por ligações químicas ou físicas entre as moléculas triacilglicerólicas. Diferenças nas formas cristalinas resultam de diferentes empacotamentos moleculares. Um cristal, portanto,

consiste de moléculas arranjadas em um padrão fixo conhecido como reticulado. Seu alto grau de complexidade molecular permite que um mesmo conjunto de TAGs empacote-se em diversas estruturas diferentes e relativamente estáveis (KAWAMURA, 1979).

O comportamento de cristalização de lipídios tem implicações importantes no processamento industrial de produtos alimentícios cujas características físicas dependem em grande parte de cristais de gorduras. Tais produtos incluem chocolates, margarinas, *spreads*, gorduras para confeitaria e panificação, produtos lácteos e *shortenings* de uso geral (SATO, 2001).

A cristalização de gorduras determina importantes propriedades dos alimentos: (i) a consistência e plasticidade de produtos ricos em gordura, como manteiga, margarina e chocolates, durante as etapas de produção e estocagem; (ii) propriedades sensoriais, como sensação de fusão na boca; (iii) estabilidade física, com respeito à formação ou sedimentação de cristais, exsudação de óleo e coalescência de partículas e emulsões; (iv) aparência visual, a exemplo do brilho em chocolates e coberturas (FOUBERT *et al.*, 2007). Na maioria dos alimentos, a cristalização isolada dos TAGs é considerada o evento de maior importância, embora a cristalização dos lipídios minoritários, como DAG's, MAG's e fosfolipídios, represente papel fundamental na qualidade de diversos produtos (METIN, HARTEL, 2005).

2.1.1 Mecanismo de cristalização dos lipídios

A cristalização é geralmente dividida em quatro fases distintas. Inicialmente, a fim de obter a formação de cristais a partir do estado líquido, o sistema tem que alcançar a zona de supersaturação, em que há uma força motriz para a cristalização. Uma vez que a força motriz adequada para superar a barreira de energia para a cristalização é alcançada, a nucleação ocorre, e moléculas em estado líquido se unem de forma a criar um núcleo estável. Depois da formação de núcleos estáveis, ocorre uma transição rápida para a próxima fase da cristalização, o crescimento do cristal, ou seja, durante o qual as moléculas adicionais (ou unidades de crescimento) são incorporadas à rede cristalina, diminuindo a força motriz de supersaturação. A não ser verificado por alguma

restrição cinética, o crescimento continua até que o sistema entre em equilibrio, momento em que a força motriz para a cristalização chega a zero e o volume máximo da fase de cristais foi obtido (HARTEL, 2013).

2.1.2 Nucleação

De acordo com Boistelle (1988) a nucleação envolve a formação de agregados de moléculas que excederam um tamanho crítico e são, portanto, estáveis. Uma vez que um núcleo cristalino se formou, este começa a crescer pela incorporação de outras moléculas provenientes da camada de líquido adjacente, que é continuamente preenchida pelo líquido supersaturado que está ao redor do cristal (BOISTELLE, 1988).

Um núcleo é o menor cristal que pode existir em uma solução a determinada temperatura e concentração. A formação de um núcleo a partir da fase líquida, ou o processo de nucleação, requer a organização das moléculas em um reticulado cristalino de tamanho crítico, a partir da superação de uma barreira energética. Os mecanismos de nucleação são geralmente classificados como nucleação primária, que pode ser homogênea ou heterogênea, e nucleação secundária. Atualmente sugere-se que a nucleação ocorre através de um processo de duas etapas. Oscilações moleculares na fase líquida conduzem a organização local de moléculas em aglomerados amorfos (em vez de embriões de cristais, tal como postulado pela teoria da nucleação clássica – Gibbs, 1800), que em seguida, se agregam para formar um aglomerado amorfo de tamanho crítico. Esta formação de agregados amorfos é o primeiro passo na nucleação. Em algum momento, as moléculas no aglomerado transformam-se em uma estrutura cristalina, que é o segundo passo para a formação de um núcleo estável. A combinação destes dois eventos caracteriza o tempo de indução antes do início da nucleação visual. Este tipo de nucleação, entretanto, raramente ocorre sob as condições dos processos industriais. Na prática, a nucleação, na maioria dos sistemas, é usualmente dominada pelo mecanismo heterogêneo, no qual superfícies ou sítios catalíticos externos, como moléculas de composição diferenciada, servem como redutores da barreira energética. Embora o mecanismo exato da nucleação heterogênea não seja ainda totalmente elucidado, o fenômeno pode ser descrito como o resultado de interações entre a

partícula sólida e o fluido supersaturado, acarretando a ordenação local de moléculas para a formação do núcleo. A nucleação secundária consiste na formação de um novo núcleo na presença de cristais já existentes, podendo ocorrer se elementos cristalinos microscópicos forem separados de uma superfície cristalina já formada, resultando, portanto, na fratura de cristais em pequenos núcleos estáveis (HARTEL, 2013; ERDEMIR *et al.*, 2009; METIN, HARTEL, 2005; LAWLER, DIMICK, 2002).

Quando os núcleos formados atingem as dimensões favoráveis, estes elementos tornam-se cristalitos, cujo crescimento depende não somente de fatores externos (supersaturação, solventes, temperatura, impurezas), mas também de fatores internos (estrutura, ligações, defeitos). Consequentemente, a taxa de crescimento cristalino pode variar por diversas ordens de magnitude. O crescimento ocorre pela ligação de moléculas a uma superfície cristalina. Ao mesmo tempo, moléculas são também desligadas. Existe uma movimentação contínua de moléculas na superfície do cristal, e o resultado destes processos determina a velocidade do crescimento, que se mostra diretamente proporcional ao sub-resfriamento e varia inversamente com a viscosidade do sistema (FOUBERT *et al.*, 2007). Embora a nucleação e o crescimento cristalino sejam muitas vezes considerados eventos distintos, os mesmos não são mutuamente exclusivos. A nucleação ocorre também enquanto os cristais crescem a partir dos núcleos já existentes (WRIGHT, NARINE, MARANGONI, 2000).

2.1.3 Recristalização

A recristalização foi definida por Fennema *et al.* (1973) como qualquer alteração do número, tamanho, forma, orientação ou perfeição dos cristais após a conclusão da solidificação inicial.

O mecanismo básico do processo de recristalização é o equilíbrio dependente do tamanho (temperatura de fusão ou solubilidade) documentado pelo efeito de Gibbs-Thomson. Os pequenos cristais, devido ao reduzido raio de curvatura da superfície, são ligeiramente mais solúveis ou tem um ponto de fusão ligeiramente mais baixo do que os cristais maiores. Ao longo do tempo, estas diferenças promovem o desaparecimento dos pequenos cristais e o crescimento dos cristais maiores. Essas alterações ocorrem,

geralmente sem uma mudança no volume da fase cristalina, e são movidos pela diferença no comportamento de equilíbrio termodinâmico com base no tamanho dos cristais. Estes cristais ocorrem lentamente a uma temperatura constante, mas sua presença é reforçada com a temperatura oscilando conforme o fenômeno chamado de Fusão-Recristalização se torna dominante. Quando a temperatura sobe em um ciclo de temperatura, os cristais derretem-se ou dissolvem-se para manter o equilíbrio de fase. Os pequenos cristais, por serem menos estáveis, desaparecem primeiro. Quando a temperatura volta a diminuir no ciclo térmico, o volume da fase cristalina aumenta, porém, apenas através do crescimento, sem a formação de novos núcleos. A massa dos pequenos cristais que derreteram é redispersada entre os cristais maiores. Tal como o aumento do tamanho médio dos cristais, o número de cristais diminui em decorrência destes efeitos termodinâmicos. Deste modo, uma dispersão de numerosos pequenos cristais tende a minimizar a energia de superfície (e uma área de superfície) através de recristalização (HARTEL, 1998; HARTEL, 2013).

A fase final da cristalização em alimentos ocorre durante o armazenamento, e uma população de cristais passa por uma etapa de recristalização, atingindo um estado de equilíbrio mais global. Este fenômeno é de preocupação primária durante a estocagem de alimentos, sendo responsável por alteração na textura de sorvetes, *fat bloom* em chocolates e coberturas e exudação de óleo em produtos ricos em gordura. Em sistemas lipídicos, o processo de recristalização envolve a alteração na disposição interna da estrutura cristalina, através da transformação polimórfica (LONCHAMPT & HARTEL, 2004).

2.1.4 Cinética de cristalização

A cinética de cristalização influencia intensivamente a estrutura final das gorduras e mostra-se intrinsecamente relacionada às suas propriedades reológicas e de plasticidade. Monitorando-se a formação do material sólido cristalino em função do tempo é possível verificar a natureza do processo de cristalização. A caracterização da cinética de cristalização pode ser realizada segundo o tempo de indução (τ_{SFC}) ou período de nucleação (relativo ao início da formação dos cristais) e o teor máximo de

sólidos - $SFC_{máx}$. O tempo de indução reflete o tempo necessário para que um núcleo estável de tamanho crítico seja formado na fase líquida (HIMAWAN; STAROV; STAPLEY, 2006). Como definição, τ_{SFC} é o tempo requerido para a obtenção de um núcleo cristalino por unidade de volume. O τ_{SFC} geralmente aumenta com o aumento da temperatura de cristalização isotérmica e com o decréscimo do ponto de fusão da amostra. Outro parâmetro de grande utilidade para a avaliação da cristalização isotérmica é o tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}), definido como o tempo total para a estabilização do conteúdo de gordura sólida a uma determinada temperatura. Este parâmetro consiste da somatória dos tempos característicos para a nucleação e para o crescimento cristalino (HACHIYA, KOYANO, SATO, 1989).

O modelo mais utilizado para descrição da cinética de transformação de fase isotérmica é o modelo de Avrami, desenvolvido em 1940, que relaciona a cinética determinada experimentalmente com a forma de crescimento e estrutura final da rede cristalina (NARINE, HUMPHREY, BOUZIDI, 2006). A equação de Avrami dá uma indicação da natureza do processo de crescimento dos cristais e é dada por

$$\frac{SFC\ (t)}{SFC\ (\infty)} = 1 - e^{-kt^n},$$

onde *SFC(t)* descreve o conteúdo de gordura sólida (%) como função do tempo, *SFC(∞)* é o limite do conteúdo de gordura sólida quando o tempo tende ao infinito, k é a constante de Avrami (min^{-n}), que leva em consideração tanto a nucleação quanto a taxa de crescimento dos cristais e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais (WRIGHT *et al.*, 2000). O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$ reflete a magnitude de k e n de acordo com a relação

$$t_{1/2} = \left(\frac{0{,}693}{k}\right)^{1/n}.$$

Atualmente, a técnica analítica mais comum para a investigação da cinética de cristalização de gorduras consiste da ressonância magnética nuclear (RMN). Contudo, diversas técnicas analíticas como a calorimetria de varredura diferencial (DSC), a microscopia sob luz polarizada (MLP), bem como técnicas reológicas e turbidimétricas podem ser empregadas com sucesso. A compreensão dos fenômenos envolvidos na

cinética de cristalização é tanto melhor quando do uso combinado de vários métodos instrumentais (CERDEIRA, CANDAL, HERRERA, 2004).

2.1.5 Polimorfismo

Compostos de cadeia longa, como os ácidos graxos e seus ésteres, podem existir em formas cristalinas diferenciadas. Sólidos de mesma composição que podem existir em mais de uma forma cristalina são denominados polimorfos. O polimorfismo pode ser definido em termos da habilidade de manifestação de diferentes estruturas de unidade celular, resultantes de diversos empacotamentos moleculares. O hábito cristalino é definido como a forma do cristal. De uma perspectiva cristalográfica, o hábito reflete a direção de crescimento dentro do cristal, enquanto a morfologia descreve o conjunto de faces determinado por meio dos elementos simétricos do cristal. Esta distinção permite que cristais de mesma morfologia apresentem diferentes hábitos cristalinos (LAWLER, DIMICK, 2002).

Em uma gordura, os cristais são sólidos com átomos arranjados em um padrão tridimensional periódico. Uma célula é a unidade de repetição que compõe a estrutura integral de um determinado cristal. Uma sub-célula, por sua vez, é a menor estrutura periódica existente na unidade real da célula, sendo definida como o modo de empacotamento transversal das cadeias alifáticas nos TAGs. As formas polimórficas de uma gordura são identificadas com base em sua estrutura de sub-célula (BOISTELLE, 1988). Nos lipídios predominam três tipos específicos de sub-células, referentes aos polimorfos α, β' e β, segundo a atual nomenclatura polimórfica (Figura 1). A forma α é metaestável, com empacotamento de cadeia hexagonal. A forma β' possui estabilidade intermediária e empacotamento perpendicular ortorrômbico, enquanto a forma β possui maior estabilidade e empacotamento paralelo triclínico. A temperatura de fusão aumenta com o aumento da estabilidade ($\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$), como resultado das diferenças de densidade do empacotamento molecular (MARTINI, AWAD, MARANGONI, 2006).

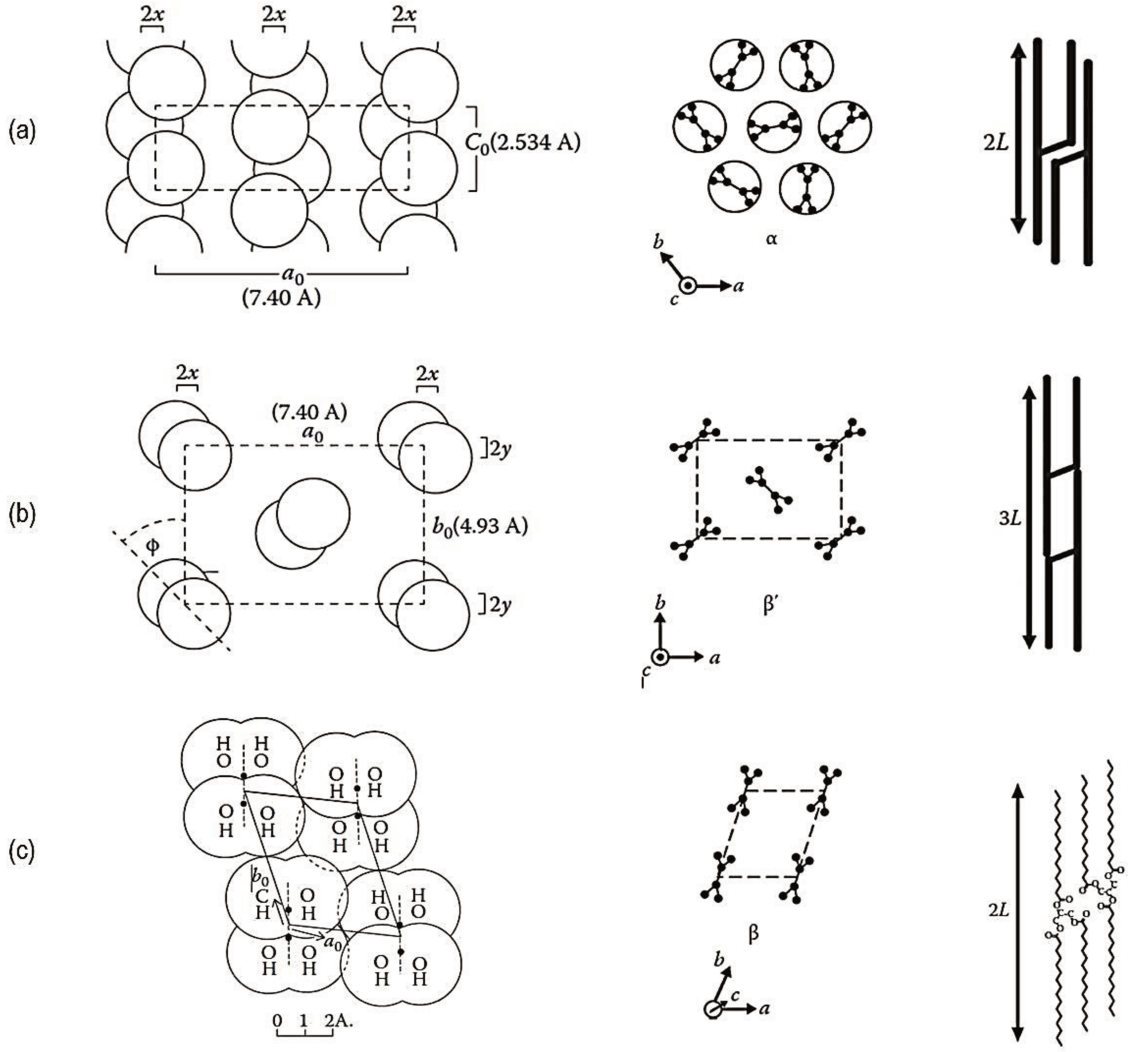


Figura 1. Projeções espaciais das formas cristalinas α, β' e β. Empacotamentos: (a) H: hexagonal; (b) O: ortorrômbico; (c) T: triclínico (MARANGONI, 2012).

A natureza polimórfica dos TAGs está bem estabelecida. É também bem conhecido que a mistura de diferentes frações de ácidos graxos em um TAG produz um comportamento polimórfico mais complexo. Assim, os TAGs monoácidos saturados apresentam polimorfismo mais simples, seguido por TAGs com ácidos graxos mistos, saturados. Os ácidos graxos mistos saturados/insaturados apresentam o mais complexo polimorfismo (SATO E UENO, 2001). Os TAGs geralmente cristalizam inicialmente nas formas α e β', embora a forma β seja a mais estável. Este fenômeno relaciona-se ao fato de que a forma β possui maior energia livre de ativação para nucleação. A transformação polimórfica é um processo irreversível da forma menos estável para a mais estável (transformação de fase monotrópica), dependendo da

temperatura e tempo envolvidos. A temperatura constante, as formas α e β' podem transformar-se, como função do tempo, na forma β através dos mecanismos líquido-sólido ou sólido-sólido (HERRERA, MARQUEZ ROCHA, 1996). A velocidade de transformação é dependente do grau de homogeneidade dos TAGs. Gorduras com baixa variabilidade de TAGs transformam-se rapidamente na forma estável β. Gorduras que consistem em distribuição randômica de TAGs podem apresentar a forma β' indefinidamente. Além disso, fatores como formulação, velocidade de resfriamento, calor de cristalização e nível de agitação, afetam o número e tipo dos cristais formados. Entretanto, como gorduras são misturas complexas de TAGs, podem coexistir, a determinada temperatura, as diferentes formas polimórficas e óleo líquido (SATO, 2001).

Gorduras com tendência de cristalização na forma β' incluem os óleos de soja, amendoim, canola, milho e oliva, além da banha. Contrariamente, os óleos de palma e algodão, a gordura do leite e o sebo tendem a produzir cristais β' que tendem a persistir por longos períodos (FOUBERT *et al*., 2007). Em particular, para a manteiga de cacau são verificadas seis formas polimórficas, como resultado de sua composição triacilglicerólica diferenciada, em que predominam TAGs simétricos monoinsaturados. A nomenclatura característica dos polimorfos da manteiga de cacau baseia-se no sistema de numeração romano (I a VI), em que a forma I é a de menor estabilidade e a forma V é associada ao hábito cristalino desejável em chocolates, podendo-se transformar durante a estocagem na forma VI, que apresenta maior estabilidade. Entretanto, geralmente se verifica combinações desta nomenclatura com a nomenclatura grega, onde as formas V e VI são reconhecidas como βV e βVI (LOISEL *et al*., 1998; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

A estrutura cristalina das gorduras é importante na formulação de *shortenings*, margarinas e produtos gordurosos em geral, uma vez que cada forma cristalina apresenta propriedades únicas em relação à plasticidade, textura, solubilidade e aeração. Gorduras com cristais na forma β' apresentam maior funcionalidade, pois são mais macias, propiciam boa aeração e propriedades de cremosidade. Logo, a forma β' é o polimorfo de interesse para a produção de alimentos ricos em gordura, como margarinas e produtos de confeitaria e panificação. Para a produção de chocolates com

boas características físicas e sensoriais, entretanto, a forma βV é o polimorfo desejável, pois está associada a propriedades como brilho, uniformidade, *snap* característico e melhoria da vida de prateleira (O'BRIEN, 2004).

A difração de Raios-X é a técnica analítica utilizada para identificar o polimorfismo de cristais, através da determinação das dimensões da unidade cristalina e sub-células. Devido às diferentes configurações geométricas, os polimorfos difratam os Raios-X a diferentes ângulos. Em gorduras, difrações em ângulos altos correspondem aos *short spacings* (distâncias entre os grupos acila paralelos no TAG) das sub-células e permitem verificar os diferentes polimorfos (CAMPOS, 2005).

2.1.6 Microestrutura

A composição lipídica e as condições de cristalização influenciam o hábito cristalino - diferentes morfologias cristalinas são possíveis. Os cristais agregam-se em estruturas maiores formando uma rede, que caracteriza o nível microestrutural de uma gordura. O conceito de microestrutura engloba informações sobre o estado, quantidade, forma, tamanho, relação espacial e interação entre todos os componentes da rede cristalina e apresenta enorme influência sobre as propriedades macroscópicas das gorduras (SHI, LIANG, HARTEL, 2005).

Segundo Narine e Marangoni (2005), o nível microestrutural ou meso-escala da rede cristalina de uma gordura pode ser definido como o conjunto de estruturas com dimensões entre 0,5μm e 200μm. Sua quantificação é obtida principalmente através da visualização de sua geometria. Os níveis de estrutura em uma rede cristalina típica são definidos quando a gordura cristaliza a partir de sua fusão completa. Como elementos nanoestruturais (0,4-250nm), os TAGs cristalizam em estados polimórficos particulares. A maioria dos TAGs cristaliza como esferulitos, o que implica que o crescimento cristalino ocorre radialmente. Os cristais formados crescem até dimensões de 1 a 4 μm e então se unem formando aglomerados (superiores a 100μm), através de um processo governado pela transferência de massa e calor. O processo de agregação continua até que uma rede tridimensional contínua é formada a partir da junção destas microestruturas, aprisionado a fase líquida da gordura (MARANGONI, NARINE, 2002).

Esta hierarquia estrutural foi reconhecida por vários pesquisadores. Entretanto, o arranjo das moléculas no estado cristalino depende também de fatores como taxa de resfriamento, temperatura de cristalização e velocidade de agitação, caso necessária (TANG, MARANGONI, 2007).

O crescimento do cristal pode ocorrer em uma, duas ou três dimensões, caracterizando a formação de cristais em forma de agulhas, discos ou esferulitos, respectivamente (McGAULEY, MARANGONI, 2002) e estas formas podem ser previstas pelos resultados apresentados pelo valor do expoente de Avrami (n) (Tabela 1). Segundo Herrera *et al.* (1998), a aplicação de gorduras em produtos alimentícios exige que o diâmetro médio dos cristais seja inferior a 30μm para evitar a sensação de arenosidade na boca.

Tabela 1. Valores do expoente de Avrami (n) para diferentes tipos de nucleação e crescimento cristalino.

Expoente de Avrami (n)	**Tipo de crescimento cristalino**	**Nucleação esperada**
3+1 = 4	crescimento em esferulitos	nucleação esporádica
3+0 = 3	crescimento em esferulitos	nucleação instantânea
2+1 = 3	crescimento em discos	nucleação esporádica
2+0 = 2	crescimento em discos	nucleação instantânea
1+1 = 2	crescimento em hastes	nucleação esporádica
1+0 = 1	crescimento em hastes	nucleação instantânea

(SHARPLES, 1966)

Outro fator que caracteriza a formação da rede microestrutural das gorduras é a dimensão fractal. A dimensão fractal é um parâmetro que descreve a distribuição espacial da massa no interior da rede cristalina (MARANGONI, 2002). A geometria fractal foi proposta por Benoit Mandelbrot (1982) como uma forma de quantificação de objetos naturais com uma estrutura geométrica complexa que desafiou a quantificação por métodos geométricos regulares (geometria Euclidiana). Na geometria euclidiana clássica, os objetos têm dimensões inteiras: o leitor estaria familiarizado com o raciocínio de que a linha é um objeto unidimensional, um plano um objeto bidimensional

e um volume de um objeto é tridimensional. Desta forma, a geometria Euclidiana é adequada para quantificar objetos que são ideais, ou regulares. Pode-se imaginar que se torções suficientes são colocados em uma linha ou um plano, o resultado é ter um objeto que pode ser classificado como intermediário entre uma linha e um plano. A dimensão de tal objeto é fracionada (ou seja, entre 1 e 2 ou entre 2 e 3) e tal objeto pode ser classificado como um objeto fractal, a partir do fato de que em vez de apresentar uma dimensão Euclidiana (inteiro), ele mostra uma dimensão fracionada (NARINE E MARANGONI, 1999). Uma das características mais importantes dos objetos fractais é sua similaridade, ou, em outras palavras, objetos fractais parecem iguais em diferentes magnitudes, pelo menos em uma certa faixa de escalas.

A maioria das pesquisas científicas na área de cristalização de gorduras tem sido dirigida a estabelecer relações entre composição lipídica ou polimorfismo e propriedades macroscópicas de gorduras, sem considerar em profundidade a microestrutura da rede cristalina, o que pode levar a falhas na previsão das propriedades macroscópicas (MARANGONI E HARTEL, 1998). Marangoni e Rousseau (1996) verificaram a possibilidade de que não seja o conteúdo de gordura sólida e/ou a forma polimórfica do cristal determinantes das propriedades mecânicas de misturas de gordura de leite com óleo de canola, mas sim a estrutura macroscópica da rede de cristais na matriz líquida oleosa. A partir do estudo das dimensões fractais e da aplicação desta teoria aos estudos de reologia das misturas de gordura de leite com óleo de canola, foi observado que a dimensão fractal (D_b) foi o único "indicador" que em conformidade com as mudanças associadas à reologia do produto decorrentes da interesterificação. Os indicadores físicos tradicionais, como polimorfismo e conteúdo de gordura sólida, falharam em demonstrar as mudanças esperadas. Assim, o estudo confirmou a importância da dimensão fractal, um indicador fundamental da rede cristalina capaz de explicar mudanças na reologia das gorduras não atribuídas a outras propriedades mensuráveis da rede (NARINE E MARANGONI, 1999). De acordo com Wrigth *et al*. (2001) sistemas com maiores valores de dimensão fractal demonstram maior ordem de empacotamento dos elementos microestruturais.

Um dos métodos mais utilizados para calcular a dimensão fractal é o método de contagem de caixas ou *box-counting*, onde grades com comprimento l_i são colocadas

sobre as micrografias das redes cristalinas de gordura obtidas na técnica de microscopia sob luz polarizada. Qualquer rede contendo partículas com mais de um valor limite é considerada como uma rede ocupada (cheia). O número de grades ocupadas N_i de comprimento lateral l_i é contado. Este processo é repetido para grades com diferentes comprimentos laterais. A dimensão fractal de *box-counting*, D_b, é calculada como o oposto da inclinação da curva de regressão linear do gráfico log-log do número de caixas ocupadas N_b versus o comprimento lateral l_b, isto é

$$D_b = -\frac{\Delta \ln N_b}{\Delta \ln l_b}.$$

Para reduzir erros, as caixas com tamanhos extremos devem ser isentas do cálculo (AWAD E MARANGONI, 2005). A microscopia sob luz polarizada (MLP) é a técnica mais utilizada para visualização da rede microestrutural de gorduras e tem sido aplicada com intuito de explicar as diferenças de textura de misturas gordurosas, mostrar tipos cristalinos e alterações morfológicas no crescimento de cristais (GIOIELLI, SIMÕES, RODRIGUES, 2003).

3. Controle da cristalização

Controlar a cristalização quer para a prevenção do crescimento cristalino ou para alcançar os atributos cristalinos desejados, é fundamental para a obtenção de produtos com a mais alta qualidade e com uma vida útil prolongada. Compreender os princípios que sustentam os fenômenos de cristalização é necessário para atingir esse controle (HARTEL, 2013). A Figura 2 apresenta um esquema do processo de cristalização, estocagem de gorduras e mecanismos associados.

O comportamento de cristalização, transformação polimórfica e microestrutura de uma gordura devem-se à combinação entres propriedades físicas individuais de cada TAG e comportamento de fase da mistura entre os diferentes TAGs. Em geral, a composição específica de uma gordura é um dos fatores de maior importância para o desenvolvimento final da estrutura cristalina (VEREECKEN *et al.*, 2009).

A cristalização de gorduras é um fator crítico associado à estruturação e propriedades de grande parte dos alimentos. A estabilidade de muitos produtos processados é influenciada por mudanças no estado físico das gorduras e alterações

nos processos de cristalização, uma vez que os eventos de nucleação e crescimento cristalino ocorrem simultaneamente a diferentes taxas, pois são afetados por condições como grau e taxas de super-resfriamento, viscosidade e agitação (TORO-VAZQUEZ *et al.*, 2005).

Nos estágios iniciais do processamento de alimentos, as velocidades relativas de nucleação e de crescimento cristalino determinam a distribuição, forma e tamanho dos cristais, parâmetros que estão diretamente associados às características de consistência e textura. Contudo, durante a etapa de estocagem, diversos fenômenos pós-cristalização podem ocorrer, afetando consideravelmente as propriedades e a estabilidade dos alimentos. Estes incluem transições polimórficas para fases termodinamicamente mais estáveis, formação de novos cristais e crescimento cristalino, migração de óleo ou de pequenos cristais. É necessário observar, entretanto, que tais eventos não são cronológicos; as transições polimórficas podem ocorrer mesmo nos estágios iniciais do processamento (HIMAWAN, STAROV, STAPLEY, 2006).

Adicionalmente, nos processos de pós-cristalização podem-se verificar os fenômenos reconhecidos como a aglutinação de superfícies adjacentes ou *sinterização;* e a dissolução espontânea, conhecida também como *maturação de Ostwald.* O termo *sinterização* é descrito como a formação de pontes sólidas entre os cristais de gordura, com formação de uma rede coesa associada ao indesejável aumento de dureza da fase gordurosa. A *maturação de Ostwald,* por sua vez, está associada à dissolução de pequenos cristais previamente existentes na fase gordurosa e desenvolvimento de cristais de dimensões indesejáveis e de redes cristalinas mais fracas, que acarreta perda de consistência dos produtos (JOHANSSON, BERGENSTAHL, 1995).

Além disso, em alguns produtos específicos, controlar a cristalização significa, sobretudo, evitar este processo, mesmo que o mesmo seja favorecido termodinamicamente ou por condições de processamento ou estocagem (CERDEIRA *et al.*, 2005). Assim, o controle da cristalização e das transições polimórficas em gorduras consiste em um fator de fundamental importância para a indústria de alimentos.

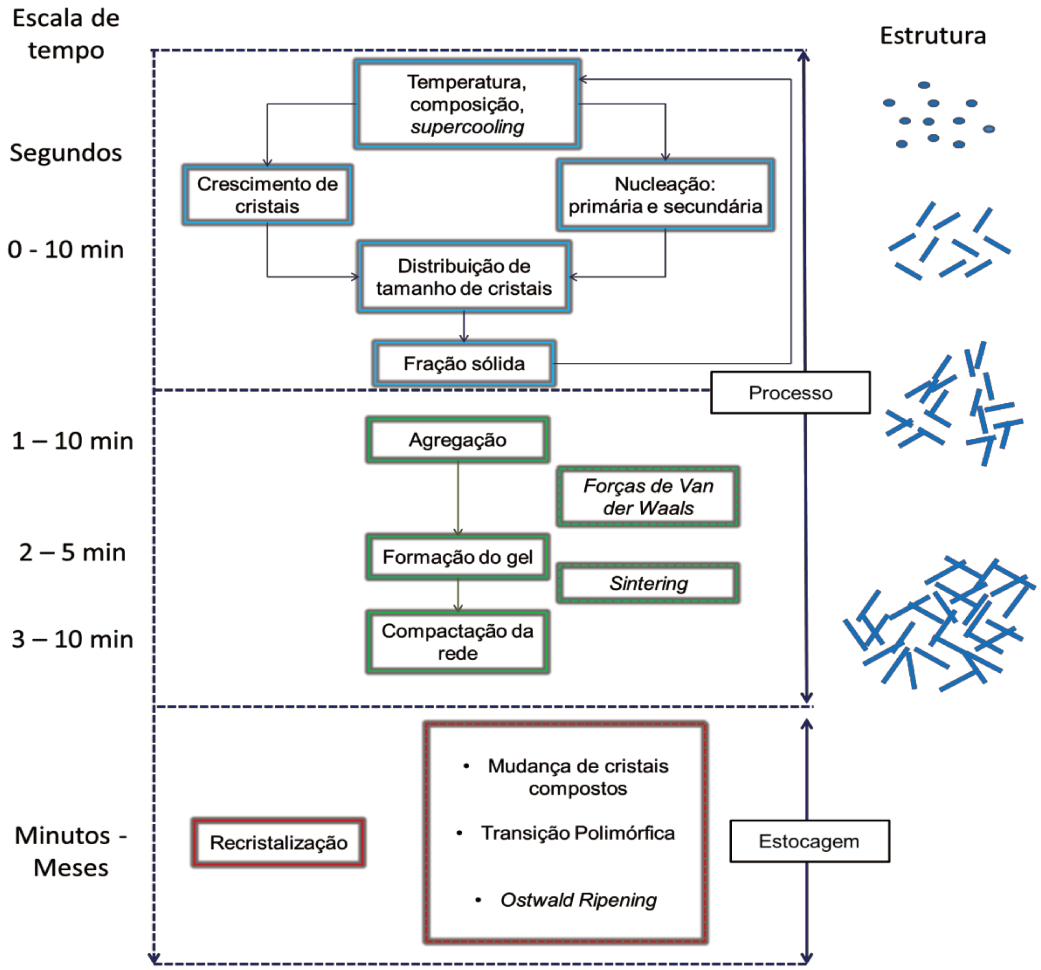


Figura 2. Esquema do processo envolvendo a cristalização e estocagem de gorduras (Adaptado de WALSTRA *et al.*, 2001).

4. Gorduras para uso industrial

4.1 Gorduras interesterificadas

A interesterificação consiste em alternativa tecnológica ao processo de hidrogenação parcial, uma vez que viabiliza a produção de óleos e gorduras com funcionalidades específicas. Devido à crescente preocupação sobre o impacto nutricional dos ácidos graxos *trans* na saúde, a interesterificação tem-se mostrado como o principal método para a obtenção de gorduras plásticas com baixos teores de isômeros *trans* ou mesmo ausência destes compostos. Em contraste à hidrogenação, este processo não promove a isomerização de duplas ligações dos ácidos graxos e não

afeta o grau de saturação dos mesmos (HAUMANN, 1994; PETRAUSKAITE *et al.*, 1998; NORIZZAH *et al.*, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2007).

No processo de interesterificação os ácidos graxos são reorganizados na molécula de glicerol. A interesterificação é promovida por um catalisador alcalino (interesterificação química) ou por lipases (interesterificação enzimática). Os catalisadores alcalinos mais utilizados são metóxido de sódio e etilato de sódio (VAN DUIJN, 2005). Na interesterificação química os ácidos graxos são distribuídos aleatoriamente na molécula de glicerol, ao longo das três posições disponíveis dentro de cada molécula. Quando lipases específicas são utilizadas para catalisar a reação de interesterificação, podem ocorrer rearranjos nas posições *sn1* e *sn3* da molécula de glicerol, mantendo a posição *sn2* (ROZENDAAL, 1997).

A interesterificação química é o processo atual mais utilizado pela indústria. A distribuição aleatória dos ácidos graxos ao longo das moléculas de glicerol conduz a mudanças na composição triacilglicerólica, que em geral alteram o perfil de sólidos da gordura. Nas gorduras interesterificadas, a distribuição randômica dos ácidos graxos resulta em grande variabilidade de TAG com pontos de fusão intermediários (S_2U e U_2S). Tal variabilidade em TAGs, associada à formação de acilgliceróis parciais promove cristalização mais lenta e a manutenção da forma polimorfica β´ indefinidamente (VAN DUIJN, 2005; ROUSSEAU E MARANGONI, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2009). Outras observações, como diminuição do tamanho dos cristais além da distribuição na rede cristalina também foram verificados em alguns estudos (MENG *et al.,* 2010).

4.2 Óleo de palma

O óleo de palma é obtido do mesocarpo do fruto *Elaesis guineensis*. É semi-sólido a temperatura ambiente, consistindo principalmente de TAGs dos ácidos palmítico e oléico. O óleo de palma é o óleo vegetal de maior utilização mundial na indústria de alimentos. Em junho de 2013, a produção mundial de óleo de palma atingiu 58 milhões de toneladas, ultrapassando a produção de óleo de soja (USDA, 2013). Em consequência dessa produção crescente, inúmeros estudos são focados no óleo de

palma, sobretudo no comportamento de cristalização e em seus aspectos nutricionais. Em relação aos demais óleos vegetais, o óleo de palma apresenta composição em ácidos graxos única e diferenciada, contendo percentuais similares de ácidos graxos saturados e insaturados. Ainda, apresenta significativo teor de ácidos graxos saturados (10 a 16%) na posição *sn-2* dos TAG's, além de expressivo teor de ácido palmítico (44%). Em adição a estas características, o óleo de palma contém pequenas porcentagens de MAG's e DAG's como componentes minoritários, que são produzidos durante a maturação dos frutos da palma e processamento do óleo. Os DAG's, especificamente, correspondem a 4 - 8% da composição do óleo de palma, com variações segundo a origem e condições de processamento. A remoção destes compostos, contudo, é difícil mesmo sob condições ótimas de refino (O'BRIEN, 2004; SMITH, 2000; OKAWACHI, SAGI, 1985).

O comportamento de cristalização do óleo de palma é extremamente importante do ponto de vista comercial, pois caracteriza-se pelo hábito cristalino β', fato que, aliado às suas características de plasticidade, garante sua aplicação em margarinas, *spreads*, gorduras para panificação e confeitaria e *shortenings* de uso geral. As propriedades funcionais do óleo de palma e suas frações mostram-se fortemente relacionadas à sua composição e à quantidade e tipo de cristais formados na temperatura de aplicação. Entretanto, os cristais do óleo de palma necessitam de longo tempo para a transição $\alpha \rightarrow \beta$', fator considerado inadequado sob a perspectiva de processamentos industriais. A resistência para se transformar em β' é principalmente atribuída aos DAG's. Estudos recentes sobre as interações entre os TAG's e DAG's do óleo de palma durante a cristalização mostram que os últimos apresentam efeito deletério sobre as características de cristalização, de intensidade proporcional à concentração destes lipídios minoritários no óleo de palma ou suas frações (CHE MAN *et al.*, 2003; CHONG *et al.*, 2007). Segundo Watanabe *et al.* (1992), o efeito negativo dos DAG's sobre a cristalização do óleo de palma estaria relacionado à baixa taxa de nucleação dos TAG's na presença destes compostos.

Em adição à lenta cristalização do óleo de palma, outro fator de grande preocupação na indústria é sua estabilidade pós-processamento. O óleo de palma é frequentemente associado a problemas de endurecimento durante a estocagem. Em alguns produtos à

base desta matéria-prima, ocorre crescimento indesejável dos cristais, que resulta em textura arenosa e baixa espalhabilidade (OMAR *et al.*, 2005). Estas formas cristalinas podem atingir dimensões superiores a 50 μm em algumas semanas de estocagem, ocasionando a não uniformidade dos produtos processados (WATANABE *et al.*, 1992). Em margarinas, especificamente, verifica-se a formação de aglomerados de cristais com diâmetro médio entre 0,1 a 3mm, que podem ser facilmente observados a olho nu (GARBOLINO, BARTOCCINI, FLOTER, 2005). Tanaka, Miura e Yoshioka (2007) verificaram que os principais TAGs do óleo de palma, 1-palmitil-2-oleoil-palmitina (POP) e 1-palmitil-dioleína (POO), apresentam miscibilidade limitada entre si, que resulta em formação de grandes cristais de POP envolvidos por POO. Quando estes aglomerados se formam, ocorre a junção de outros TAGs saturados, em um processo que promove a transição $\beta' \rightarrow \beta$. Portanto, assegurar a estabilidade do polimorfo β' em produtos à base de óleo de palma é uma questão de grande interesse industrial, dada a grande relevância econômica associada ao uso desta matéria-prima.

4.3 Fração Mediana de Palma (PMF)

O produto obtido da primeira etapa de fracionamento da oleína de palma é denomidado como fração mediana de palma suave ou *soft* PMF, que apresenta níveis elevados de triacilgliceróis monoinsaturados, fusão rápida e tendência para cristalizar em β', o que a torna uma excelente matéria-prima na produção de margarinas e *shortenings* em geral (BRAIPSON-DANTHINE e GIBON, 2007; GIBON *et al.*, 2009).

Classicamente, duas vias são propostas (Figura 3), para a produção da *soft* PMF: a rota da oleína (mais comum na Ásia) e a rota da estearina, que é preferencialmente usada na América do Sul, devido à necessidade de oleína com alto índice de iodo na primeira etapa de fracionamento. As melhores CBE's são obtidas através da rota da oleína, onde na segunda etapa do fracionamento os triacilgliceróis SSU-SUS concentram-se seletivamente na *soft* PMF. No fracionamento a seco, a *soft* PMF concentra mais de 73% de triacilgliceróis SSU-SUS, e o conteúdo de triacilgliceróis SSS é baixo. Dessa forma, o refracionamento da *soft* PMF produz uma excelente *hard* PMF, particularmente enriquecida com triacilgliceróis SSU-SUS (85% -

90%), com baixo teor de triacilgliceróis SSS, e o conteúdo DAGs pode ser mantido suficientemente baixo a fim de evitar qualquer efeito adverso sobre as propriedades de cristalização da fração (GIBON, 2006).

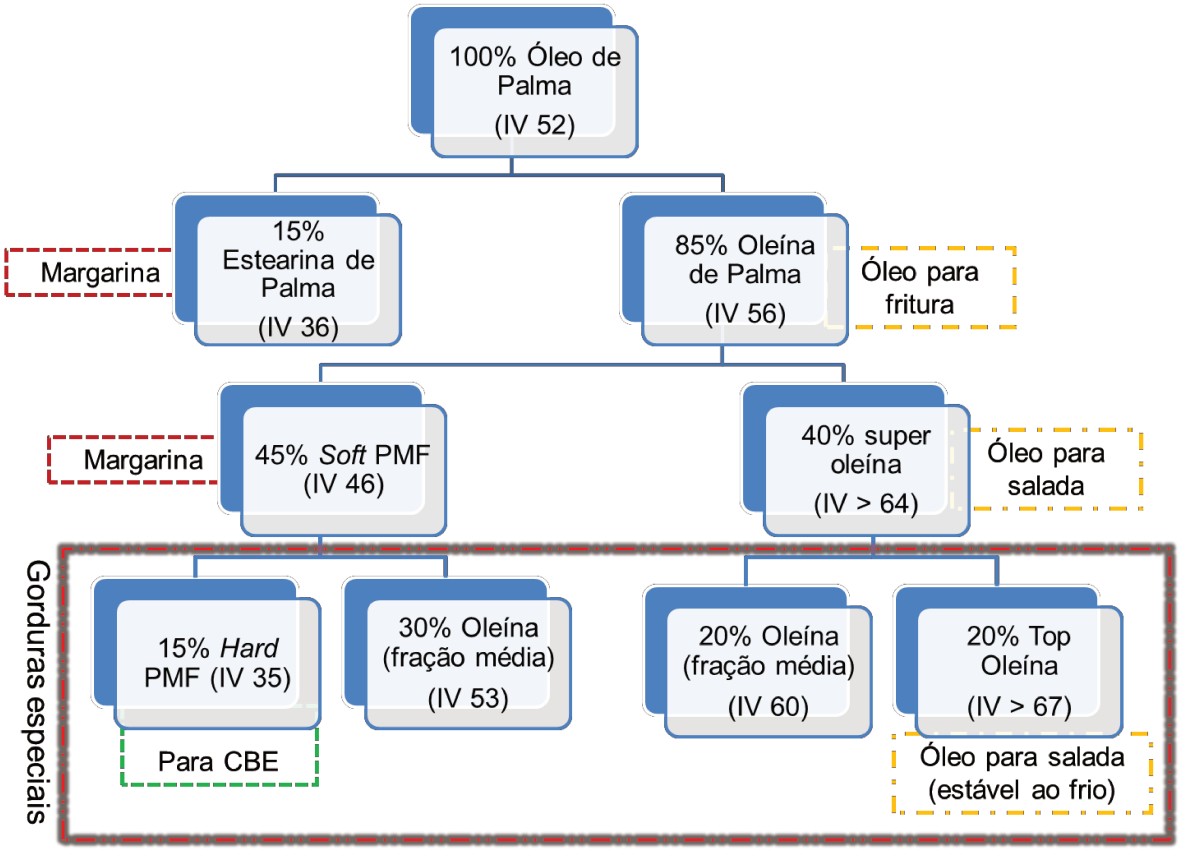


Figura 3. Etapas do fracionamento a seco do óleo de palma (Adaptado de GIBON *et al.*, 2009). * IV (índice de iodo); CBE (equivalente à manteiga de cacau).

Devido às propriedades estruturais estreitamente relacionadas, os TAGs podem produzir co-cristais por intersolubilidade; que mais frequentemente apresentam soluções sólidas, interações monotéticas, sistemas eutéticos e formação de compostos moleculares (SATO, 2001). Em consequência disto, a eficiência do fracionamento não dependente somente da eficiência de separação, mas é limitada pelo comportamento de fase dos TAGs em estado sólido. Assim a intersolubilidade dos TAGs consiste em um desafio no processo de fracionamento a seco, incluindo a rota: oleína → *soft* PMF → *hard* PMF.

5. Problemas de cristalização em matérias-primas de grande importância industrial

A maioria dos óleos e gorduras naturais apresenta aplicação limitada em suas formas inalteradas, impostas pela sua composição particular em ácidos graxos e TAGs. Desta forma, óleos e gorduras para diversas aplicações industriais são modificados quimicamente, através da hidrogenação ou interesterificação; ou fisicamente, por fracionamento ou mistura (ERICKSON, 1995). Embora utilizada durante muito tempo, a hidrogenação parcial resulta em expressiva formação de ácidos graxos *trans,* associados a efeitos negativos sobre a saúde (HUNTER, 2005).

No Brasil, as questões controversas acerca do papel dos ácidos graxos *trans* na alimentação ocasionaram modificações progressivas na legislação, visando a inclusão de maiores informações para os consumidores. A Resolução RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003, harmonizada no MERCOSUL, obrigou a declaração dos AGT na rotulagem nutricional dos alimentos. As empresas tiveram prazo até 31 de julho de 2006 para adequação, devendo o teor de gorduras *trans* ser declarado em relação à porção harmonizada para um determinado alimento, em conjunto com as declarações para gorduras totais e saturada (ANVISA, 2009). Em resposta, as indústrias brasileiras optaram pela substituição progressiva da gordura *trans* em diversos produtos, através do desenvolvimento de bases gordurosas com funcionalidade e viabilidade econômica equivalentes às gorduras parcialmente hidrogenadas, não acarretando, entretanto, aumento substancial do teor de ácidos graxos saturados nos alimentos (RIBEIRO *et al.*, 2007).

Neste sentido, a interesterificação mostrou-se a principal alternativa para a obtenção de gorduras plásticas com baixos teores de isômeros *trans* ou mesmo ausência destes compostos. Em especial, a interesterificação química de óleos líquidos com óleos totalmente hidrogenados (*hardfats*) consiste atualmente na alternativa de maior versatilidade para produção de gorduras zero *trans*, produzindo bases gordurosas com características favoráveis à preparação de *shortenings* de uso geral (RIBEIRO *et al.*, 2009). A utilização de *blends*, ou seja, misturas de gorduras com diferentes propriedades físicas, e o fracionamento, representam ainda alternativas adicionais para obtenção de bases gordurosas com propriedades físicas e plasticidade adequada ao

uso em diversos produtos, embora com potencial limitado pela própria composição química das próprias matérias-primas (FOUBERT *et al.*, 2007).

Ainda que os processos de interesterificação, fracionamento e mistura sejam muito funcionais sob o ponto de vista tecnológico, a substituição de gorduras parcialmente hidrogenadas em produtos alimentícios, principalmente em *shortenings* e produtos de confeitaria, consiste atualmente em um desafio, uma vez que apropriadas propriedades de cristalização e textura são de difícil obtenção quando da ausência de ácidos graxos *trans* (REYES-HERNÁNDEZ *et al.*, 2007).

Em particular, a adequação da cinética de cristalização destas bases gordurosas é de extrema importância para que o uso das mesmas possa ser ajustado às limitações dos processos industriais e para melhorar o controle de etapas de processamento que envolva recristalização da fração gordurosa, garantindo a qualidade do produto final (FOUBERT *et al.*, 2006). Caso contrário, os tempos de processamento e equipamentos já padronizados precisam ser alterados segundo as características da gordura utilizada. Este fato tornou-se particularmente importante à medida que novas frações gordurosas passaram a substituir as gorduras parcialmente hidrogenadas na maioria das aplicações industriais, principalmente na produção de biscoitos e produtos de panificação, em que se observou que gorduras com o mesmo perfil de sólidos aparente apresentavam propriedades de cristalização muito diferenciadas (BELL *et al.*, 2007). No caso específico das gorduras interesterificadas, a formação de acilgliceróis parciais, como MAGs e DAGs, em decorrência da interesterificação química, pode influenciar a cinética de cristalização, através de alterações no processo de nucleação dos cristais (HERRERA, GATTI, HARTEL, 1999). De acordo com Minal (2003), 0,1% do catalisador metóxido de sódio, empregado para randomização, pode produzir entre 1,2 e 2,4% de MAGs + DAGs. Uma vez que o teor típico de catalisador utilizado industrialmente varia entre 0,1 e 0,4%, os teores resultantes destes lipídios minoritários podem ser superiores a 9%. Embora os lipídios minoritários apresentem influência sobre as propriedades de cristalização destas gorduras, sua remoção completa ainda é difícil e de alto custo, principalmente em grande escala (METIN, HARTEL, 2005).

Considerando que na indústria brasileira este processo de substituição é relativamente recente, os problemas de comportamento de cristalização devido à não

adequação das novas frações gordurosas são inúmeros e agravados, principalmente, pelas diferenças climáticas regionais e condições de transporte e estocagem. Neste contexto, destacam-se problemas como as transições polimórficas indesejáveis, exsudação de óleo, desenvolvimento de *fat bloom*, formação de aglomerados cristalinos, além de bases gordurosas com teor máximo de gordura sólida ou períodos de indução incompatíveis com determinadas aplicações industriais. Os estudos de modificação, estabilização e controle da cristalização destas bases gordurosas, portanto, tem importância crucial para o desenvolvimento da indústria de óleos comestíveis.

6. Características Gerais dos Emulsificantes

Em uma definição clássica, emulsificante é uma expressão aplicada às moléculas que migram para as interfaces entre duas fases físicas e, portanto, estão mais concentradas na região interfacial do que na maior fase da solução (STAUFFER, 2005). A principal característica molecular de um emulsificante é sua natureza anfifílica, caracterizada por um grupo iônico (parte polar) e uma cadeia hidrocarbônica (parte apolar) (Figura 4). De acordo com suas regiões polares e apolares, os emulsificantes são designados como hidrofílicos ou lipofílicos, o que afeta sua solubilidade em água ou óleo (GARTI, 2001). Dessa forma, surgiu o conceito de balanço hidrofílico-lipofílico (HLB), que mede a afinidade de um emulsificante para óleo ou água. No que se refere aos emulsificantes em alimentos, as propriedades lipofílicas são geralmente as mais importantes, mas o balanço hidrofílico-lipofílico (HLB) pode variar consideravelmente de acordo com a composição química do emulsificante. A dupla afinidade dos emulsificantes resulta na formação de fase única entre substâncias inicialmente imiscíveis (emulsão). Além disso, estes compostos realizam funções que em alguns produtos, não estão relacionadas com emulsificação, incluindo modificação de hábito cristalino durante a cristalização de óleos e gorduras (STAUFFER, 2005).

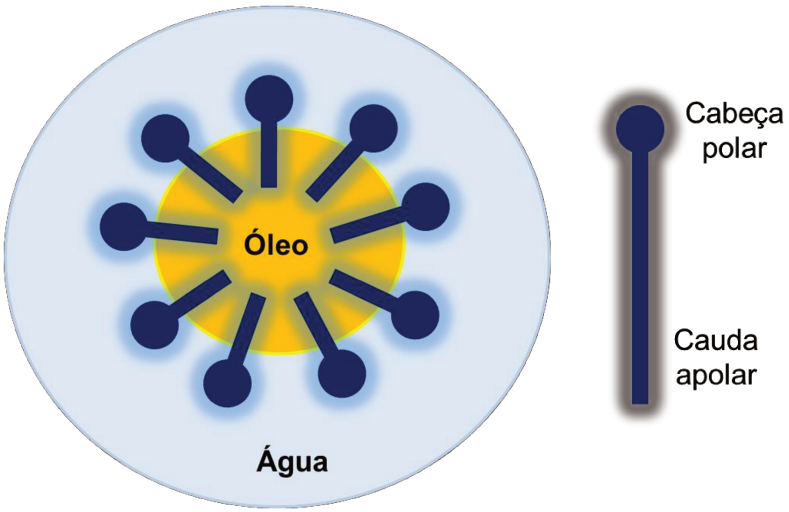


Figura 4. Característica anfifílica dos emulsificantes (exemplo de emulsão óleo em água).

O conceito de HLB torna possível a caracterização de vários emulsificantes ou misturas de emulsificantes. Em geral, as seguintes diretrizes são utilizadas para aplicação de um emulsificante baseado em seu HLB:

- HLB de 3-6: um bom emulsificante para emulsão água/óleo;
- HLB de 7-9: um bom agente umectante;
- HLB de 10-18: um bom emulsificante óleo/água.

Apesar disso, o valor de HLB é limitado, pois fornece uma descrição unidimensional das propriedades do emulsificante, e omite informações como o peso molecular e a dependência da temperatura. Também é difícil calcular os valores úteis de HLB para vários emulsificantes importantes em aplicações alimentares (ex: fosfolípidios). Em adição, os valores de HLB não incluem as importantes propriedades de cristalização dos emulsificantes (BERGENSTÅHL, 2008).

Em relação às propriedades de cristalização, na estrutura cristalina dos emulsificantes, o fator predominante é a parte hidrofílica, que é relativamente a maior parte da molécula. O tamanho do grupo hidrofílico, bem como a extensão e a distribuição espacial da ligação de hidrogênio entre os grupos adjacentes, mostra uma influência muito maior no empacotamento molecular do cristal do que a natureza da cadeia de ácido graxo. Um emulsificante simples, tal como um monoacilglicerol,

geralmente cristaliza na configuração de cadeia dupla (DCL), enquanto que aqueles com grupos hidrofílicos maiores cristalizam mais frequentemente na configuração SCL (STAUFFER, 1999) (Figura 5).

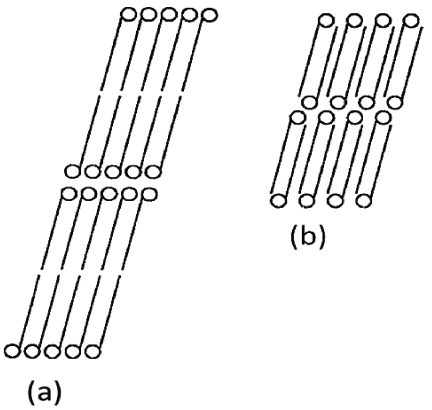


Figura 5. Configurações em (a) DCL (*double chain length*) e (b) SCL (*single chain length*) (STAUFFER, 1999)

Dentre as propriedades de cristalização, uma característica importante dos emulsificantes é sua habilidade para criar mesofases. As misturas de emulsificantes com água formam estruturas físicas diferentes, dependendo da razão emulsificante/água e da temperatura. Estas misturas são dispersões opalescentes, muitas vezes chamadas de “cristais líquidos”, mas são melhor denominadas mesofases. Este termo (que significa "entre as fases") reflete a natureza da mistura. Em uma escala micromolecular, o agente emulsificante e a água são fases separadas, mas em escala macro, a mistura se torna uniforme e é estável (ou seja, as fases não se separam) (GARTI, 2002). Os cristais líquidos são mesofases termodinâmicas da matéria condensada com um certo grau de ordenação entre o estado sólido cristalino e líquido (SASTRY *et al*. 2012). Existem duas grandes famílias de cristais líquidos, os termotrópicos e os liotrópicos. Os cristais líquidos termotrópicos são formados por moléculas, ou mistura de moléculas, que apresentam anisotropia de forma (também conhecida por anisometria). Essas moléculas podem ter forma de bastão (mais comuns), discos e arcos, entre outras. As diferentes estruturas e ordenamento dessas moléculas individuais ocorrem em função da temperatura, e por isso são chamados de

termotrópicos. Por outro lado, os cristais líquidos liotrópicos são misturas de moléculas anfifílicas e solventes polares, que em determinadas condições de temperatura, pressão e concentrações relativas dos diferentes componentes, apresentam a formação de superestruturas, agregados moleculares, que se organizam no espaço, exibindo algum grau de ordem (NETO E SALINAS, 2005). As moléculas anfifílicas como os emulsificantes podem apresentar ambos os comportamentos (termotrópico e liotrópico) neste caso, denomina-se cristais líquidos anfotrópicos (NETO E SALINAS, 2005; GOODBY *et al.*, 2007). Um esquema simplificado da formação de algumas estruturas de mesofases termotrópicas e liotrópicas é visualizado na Figura 6.

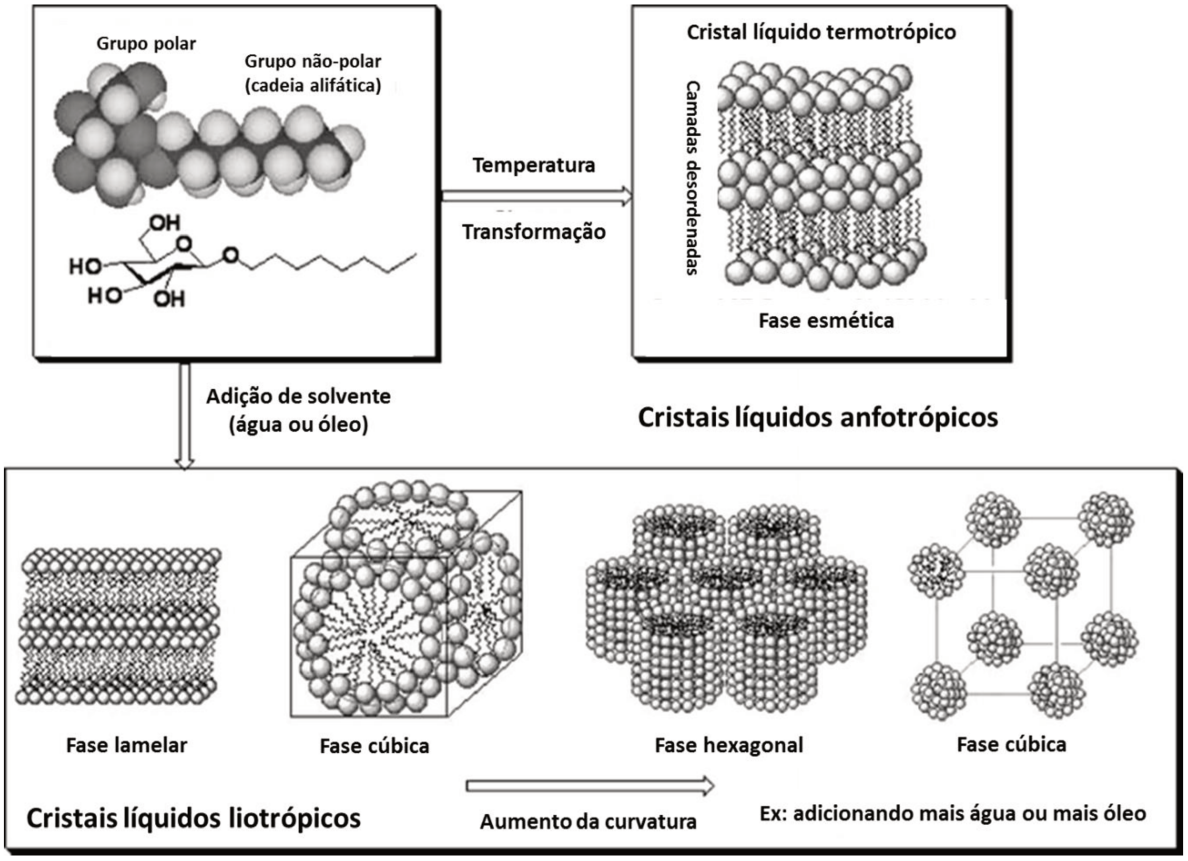


Figura 6. Estruturas esquemáticas das mesofases termotrópicas e liotrópicas formadas por n-octil β-D-glicopiranosidio. (Adaptado de GOODBY *et al.*, 2007)

6.1 Uso de emulsificantes como modificadores de cristalização

Em adição às suas funções conhecidas de emulsificação e estabilização de emulsões, os emulsificantes podem modificar o comportamento da fase contínua de um produto alimentício, conferindo-lhe benefícios específicos. Em produtos ricos em gorduras, os emulsificantes podem ser utilizados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase gordurosa. O estudo dos efeitos de emulsificantes em sistemas gordurosos é de grande interesse para o melhoramento de bases industriais, particularmente em relação às gorduras para uso em chocolates, confeitaria e panificação. No entanto, o papel destes compostos como modificadores de cristalização em gorduras naturais e comerciais é pouco explorado na literatura técnica (HASENHUETTL, 2008). Até o momento, a grande maioria dos estudos sobre o uso de emulsificantes como modificadores do processo de cristalização em gorduras foram realizados com óleos totalmente hidrogenados, sistemas-modelo ou TAGs puros, e não refletem, portanto, a necessidade do controle de cristalização em gorduras de aplicação industrial (ROUSSEAU *et al.*, 2005; CERDEIRA *et al.*, 2006).

De forma geral, o efeito dos emulsificantes mostra-se relacionado a diferentes organizações cristalinas e à criação de imperfeições. Alguns deles podem retardar as transformações via impedimento estérico, enquanto outros promovem estas transformações pelo favorecimento de deslocamentos moleculares (ARONHIME, SARIG, GARTI, 1987). Dois diferentes mecanismos têm sido reportados na literatura com o intuito de interpretar os efeitos dos emulsificantes na cristalização de gorduras. O primeiro deles refere-se à atuação destes aditivos como hetero-núcleos, acelerando a cristalização pela ação catalítica direta como impurezas. Durante o crescimento cristalino, os emulsificantes seriam adsorvidos na superfície dos cristais e conseqüentemente modificariam a taxa de incorporação dos TAGs e a morfologia cristalina. O segundo mecanismo, de maior consenso entre vários autores, considera que os TAGs e emulsificantes seriam passíveis de co-cristalizar devido à similaridade entre suas estruturas químicas. Assim, a dissimilaridade estrutural também acarretaria atrasos na nucleação e possível inibição do crescimento cristalino (CERDEIRA *et al.*, 2003; GARTI, 2002).

De acordo com este segundo mecanismo, os emulsificantes associam-se às moléculas triacilglicerólicas por seus grupos hidrofóbicos, especialmente através de interações acil-acil. O grupo acila dos emulsificantes determina sua funcionalidade com respeito aos TAGs. Os principais efeitos destes aditivos na cristalização de gorduras ocorreriam durante as etapas de nucleação, transição polimórfica e crescimento cristalino, alterando propriedades físicas como tamanho de cristal, conteúdo de gordura sólida e microestrutura. A questão da promoção ou inibição da cristalização, entretanto, é ainda discutível. Em geral, os estudos indicam que emulsificantes com grupos acila similares à gordura a ser cristalizada aceleram este processo (MISKANDAR *et al.*, 2007).

Atualmente, sabe-se que o comportamento dos emulsificantes durante a cristalização de gorduras pode ser dividido em três casos: (1) miscibilidade limitada entre as moléculas dos emulsificantes e os TAGs: nesta situação o emulsificante atua como uma impureza e a interação resulta em cristais imperfeitos, o que pode promover ou retardar o crescimento cristalino e as transições polimórficas, segundo a compatibilidade das terminações hidrofóbicas em suas estruturas (2) alto grau de miscibilidade entre emulsificantes e TAGs, que promove a formação de compostos moleculares; (3) total imiscibilidade entre emulsificantes e TAGs, em que os emulsificantes podem atuar como germens de cristalização e modificadores da microestrutura (GARTI 2002, MISKANDAR 2006).

Os emulsificantes com maior potencial para o controle de cristalização de bases gordurosas incluem os ésteres de sorbitana de ácidos graxos, os ésteres e poliésteres graxos de sacarose, a lecitina padrão comercial e lecitinas quimicamente modificadas, e o poliglicerol polirricinoleato (LONCHAMPT, HARTEL, 2004). Muitos estudos vêm confirmando que os emulsificantes afetam os tempos de indução da cristalização, a composição dos germens de nucleação, taxas de crescimento cristalino e transições polimórficas (WEYLAND, HARTEL, 2008). Contudo, os resultados são ainda muito incompletos, e precisam de maiores explicações.

6.2 Emulsificantes baseados em açúcares

Enquanto a derivatização de óleos e gorduras para produzir uma variedade de emulsificantes com ampla gama de aplicação mostra-se bem estabelecida há anos (HILL E FERRENBACH, 1999), a produção industrial de emulsificantes baseados em óleos, gorduras e carboidratos, é relativamente nova. Tais emulsificantes resultam de um conceito de produto baseado no uso exclusivo de recursos renováveis, sendo a sacarose, glicose e sorbitol as matérias-primas mais utilizadas industrialmente. Os emulsificantes baseados em açúcar mais utilizados na indústria de alimentos são os ésteres de sorbitana e sacarose.

6.2.1 Ésteres de sorbitana

O sorbitol é um álcool pertencente à família dos álcoois hexaídricos, obtido pela hidrogenação da glicose. Seus grupos hidroxila livres podem reagir com ácidos graxos para formar ésteres de sorbitana (ES). Na produção de ES, uma mistura reacional contendo um ácido graxo específico, sorbitol e o catalisador (hidróxido de sódio ou estearato de zinco) é aquecida em atmosfera inerte para promover reações simultâneas de esterificação e ciclização. A razão molar ácido graxo/sorbitol determina a formação de monoésteres ou triésteres. Os ES mais conhecidos e utilizados industrialmente incluem os ES dos ácidos láurico, palmítico, esteárico e oléico (HASENHUETTL, 2008). A Figura 7 mostra a estrutura química de um triestearato de sorbitana.

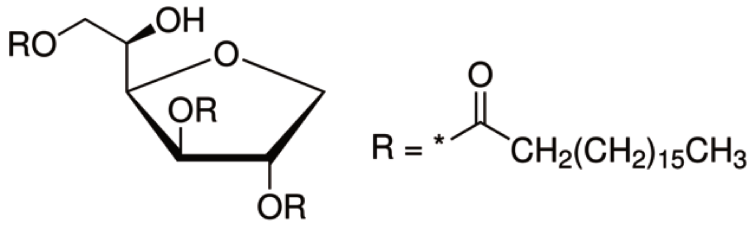


Figura 7. Estrutura química do Triestearato de Sorbitna (STS)

O triestearato de sorbitana (STS ou *Span* 65) juntamente com o monoestearato de sorbitana (SMS) são reconhecidos pela capacidade de modificar a morfologia cristalina e a consistência de gorduras, com eficácia como agentes *anti-bloom* em produtos de confeitaria contendo manteiga de cacau e em substitutos da manteiga de cacau, destacando-se como controladores potenciais da cristalização. Supõe-se que estes compostos possam retardar ou inibir a transição dos cristais de gordura para formas de maior estabilidade. Ainda, os ES mostram-se especialmente efetivos na estabilização do polimorfo β' em margarinas e na modificação do conteúdo de gordura sólida de gorduras em geral, para promoção de perfis de fusão adequados à temperatura corporal (O'BRIEN, 2004). Ou ainda, podem mostrar-se seletivos como controladores dinâmicos das transições polimórficas em gorduras, por sua capacidade de criar ligações de hidrogênio com os TAGs vizinhos, em um processo conhecido como *The Button Syndrome,* segundo o qual a presença de um emulsificante específico não dita a formação de um polimorfo preferencial, mas controla sobretudo o grau de mobilidade das moléculas e sua facilidade para sofrer alterações configuracionais. Neste processo, os emulsificantes podem modular as transformações polimórficas no estado sólido ou através do estado líquido, e o regime de temperatura utilizado controla o estado físico dos cristais durante a transição polimórfica e a extensão da mobilidade das moléculas, regulando, portanto, a taxa de transformação polimórfica (ARONHIME, SARIG, GARTI, 1987).

Segundo Weyland e Hartel (2008), o STS consiste no aditivo com maior potencial de modificação de cristalização da manteiga de cacau, em especial na inibição da transição βV → βVI e do *fat bloom*, devido ao seu alto ponto de fusão (55°C) e estrutura química similar aos TAGs presentes nos óleos e gorduras, permitindo a este emulsificante fácil co-cristalização e formação de soluções sólidas com estes TAGs. De acordo com Young e Wassel (2008) a adição de 0,5% (m/m) de STS em gorduras base para margarinas teve efeito estabilizador sobre o polimorfo β'. Enquanto que Miskandar *et al*. (2006) observaram a formação de pequenos agregados cristalinos em misturas de óleo de palma/oleína de palmiste quando da adição de 0,09% (m/m) de STS; em adição ao aumento da velocidade de cristalização destas misturas. Em um artigo de revisão, Pernetti *et al.* (2007) enfatizaram que o uso de STS e/ou suas combinações com outros

emulsificantes como a lecitina de soja, consiste na alternativa atual de maior interesse para o controle de transições polimórficas e estruturação da rede cristalina em gorduras, uma vez que a interação TAG's-STS promove a formação de cristais regulares que fundem-se a 40°C, ponto de fusão característico da grande maioria de bases gordurosas para aplicações industriais.

6.2.2 Ésteres de sacarose

Os ésteres graxos de sacarose podem ser utilizados em vasta gama de aplicações alimentícias e usados principalmente na indústria de panificação, confeitaria, sobremesas e emulsões especiais (VAN INGEN, 2013). Os ésteres de sacarose, particularmente os mono- e diésteres, são emulsificantes extremamente funcionais, pois caracterizam-se por uma série de vantagens únicas para a indústria de alimentos. São compostos atóxicos, sem gosto ou odor, facilmente digeridos a sacarose e ácidos graxos, além de biodegradáveis sob condições aeróbicas e anaeróbicas. São produzidos por interesterificação entre a sacarose e ácidos graxos mediante diversos tipos e condições de reação. Possuem estrutura típica de grupos polares e apolares na mesma molécula como os demais emulsificantes, mas as oito posições possíveis para esterificação com ácidos graxos permitem diferentes propriedades lipofílicas/hidrofílicas para estas moléculas. Os ésteres de sacarose parcialmente esterificados, principalmente os mono-, di- e triésteres, são os mais versáteis para aplicação em alimentos; sendo o grau de esterificação controlado pela razão ácidos graxos/sacarose na mistura reacional. Os monoésteres (~70% de monoésteres) são hidrofílicos, enquanto os di-, tri-, e poliésteres são cada vez mais hidrofóbicos (GARTI E YANO, 2001). O grau de saturação e tamanho de cadeia do ácido graxo utilizado também influencia significativamente as propriedades destes compostos (GARTI, 2002; HASENHUETTL, 2008). A Figura 8 mostra a estrutura química de um éster de sacarose do ácido esteárico e um do ácido behênico.

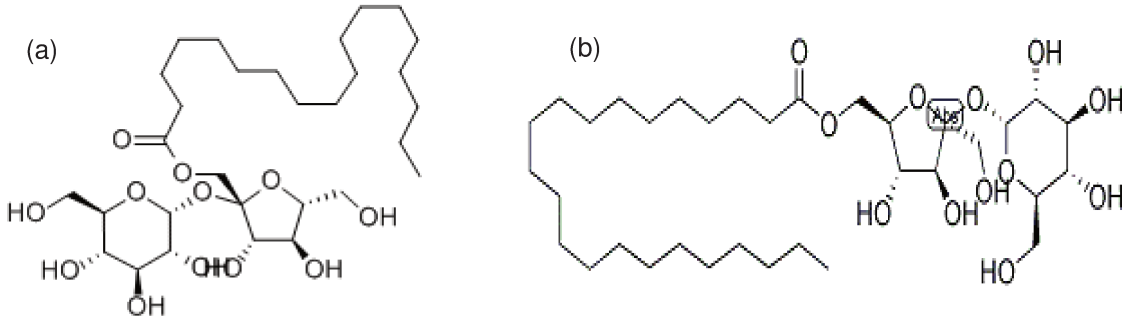


Figura 8. Estruturas químicas de: (a) estearato de sacarose e (b) behenato de sacarose.

Os ácidos graxos mais comuns usados em ésteres de sacarose são os ácidos láurico (C12), mirístico (C14), palmítico (C16), esteárico (C18), oleico (C18) e behenico (C22). Ao alterar a natureza ou o número dos grupos de ácidos graxos, uma vasta gama de valores de HLB podem ser obtidos. Os ésteres de sacarose comerciais são misturas com vários graus de esterificação, devido a sua complexidade, exibem comportamento muito diverso, como os lipídios. Em consequência, são utilizados nos estudos de cristalização de gorduras. Os ésteres de sacarose mais estudados até o momento são os ésteres do ácido esteárico e do ácido palmítico, especialmente nos estudos de Elisabettini, Desmedt e Durant (1996); Martini, Cerdeira e Herrera (2004) e Cerdeira *et al.* (2006). No entanto, de acordo com Cerdeira *et al* (2006), poucos trabalhos exploram o efeito destes emulsificantes sobre o período de indução e velocidade de cristalização e no desenvolvimento de formas polimórficas em sistemas gordurosos.

7. Referências Bibliográficas

ANVISA. **Visa Legis: Legislação em Vigilância Sanitária.** Disponível em:<www.e-legis.bvs.br/leisref>. Acesso em: 19abril 2009.

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

ARONHIME, J.S.; SARIG, S.; GARTI, N. Mechanistic considerations of polymorphic transformations of tristearin in the presence of emulsifiers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.64, p.529-533, 1987.

ARONHIME, J.S.; SARIG, S.; GARTI, N. Dynamic control of polymorphic transformation in triglycerides by surfactants: the Button Syndrome. **Journal of American Oil Chemists' Society.** Champaign, v.65, p.1144-1150, 1988.

ARONHIME, J.; SARIG, S.; GARTI, N. Emulsifiers as additives in fats: effect on polymorphic transformations and crystal properties of fatty acids and triglycerides. **Food structure**, v. 9, 1990.

ARRUDA, D.H.; DIMICK, P.S. Phospholipid composition of lipid seed crystal isolates from Ivory Coast cocoa butter. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.68, p.385-390, 1991.

AWAD, T; SATO, K. Effects of hydrophobic emulsifier additives on crystallization behavior of palm mid fraction in oil-in-water emulsion. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n. 8, p. 837-842, 2001.

BELL, A. *et al*. Effects of composition on fat rheology and crystallisation. **Food Chemistry**. Colney, v.101, p.799-805, 2007.

BOISTELLE, R. Fundamentals of nucleation and crystal growth. In: **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. Ed. GARTI, N.; SATO, K. Marcel Dekker, New York, p.189-226, 1988.

CAMPOS, R. Experimental Methodology. In: **Fat Crystal Networks**. Ed. MARANGONI, A.J. Marcel Dekker, New York, p.267-349, 2005.

CERDEIRA, M.; CANDAL, R.J.; HERRERA, M.L. Analytical techniques for nucleation studies in lipids: advantages and disadvantages. **Journal of Food Science**. Chicago, v.69, p.185-191, 2004.

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.

CERDEIRA, M. *et al*. Nucleation behavior of blended high-melting fractions of milk fat as affected by emulsifiers. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.107, p. 877-885, 2005.

CERDEIRA, M. *et al*. Polymorphism and growth behavior of low-*trans* fat blends formulated with and without emulsifiers. **Journal of American Oil Chemists' Society.** Champaign, v.83, p.489-496, 2006.

CHE MAN, Y.B. *et al*. A study on the crystal structure of palm oil-based whipping cream. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.80, p.409-415, 2003.

CHONG, C.L. *et al*. Thermal and structural behavior of crude palm oil: crystallization at very slow cooling rate. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.109, p.410-421, 2007.

ELISABETTINI, P.; DESMEDT, A.; DURANT, F. Polymorphism of stabilized and nonstabilized tristearin, pure and in the presence of food emulsifiers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.73, p.187-192, 1996.

ERICKSON, D.R. Practical Handbook of Soybean Processing and Utilization. Ed. ERICKSON, D.R. **American Soybean Association, St. Louis, Missouri and American Oil Chemists'Society**, Champaign, Illinois, p.227-296, 1995.

FOUBERT, I. *et al*. Modelling two-step isothermal fat crystallization. **Journal of Food Engineering**. Essex, v.75, p.551-559, 2006.

FOUBERT, I. *et al*. Physical properties: structural and physical characteristics. In: **The Lipid Handbook**. 3th ed. Ed. GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J.L.; DIJKSTRA, A.J. CRC Press, Boca Raton, p.471-508, 2007.

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

GARTI, N. Food emulsifiers and stabilizers. **Food shelf life stability, chemical, biochemical and microbiological changes. CRC Press, Boca Raton**, p. 211-263, 2001.

GARTI, N. Food Emulsifiers: Structure-Reactivity. Relationships, Design, and Applications In: **Physical Properties of Lipids**. Ed. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. C.C. CRC Press, Boca Raton, p.265-386, 2002.

GIOIELLI, L.A.; SIMÕES, I.S.; RODRIGUES, J.N. Crystal morphology and interactions of binary and ternary mixtures of hydrogenated fats. **Journal of Food Engineering**. Essex, v.57, p.347-355, 2003.

GOODBY, J. W., GÖRTZ, V., COWLING, S. J., MACKENZIE, G., MARTIN, P., LUSQUELLEC, D., FITREMANN, J. Thermotropic liquid crystalline glycolipids**. Chemical Society Reviews**, v. 36, n. 12, 1971-2032, 2007.

HACHIYA, I.; KOYANO, T.; SATO, K. Seeding effects on solidification behavior of cocoa butter and dark chocolate. I. Kinetics of solidification. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.66, p.1757-1762, 1989.

Hartel RW. 1998. Mechanisms and kinetics of recrystallization in ice cream. **In The Properties of Water in Foods: ISOPOW 6**, ed. DS Reid, pp. 287–319. London: Blackie

HARTEL, R.W. Advances in Crystallization in Foods. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 4, n. 1, 2013.

HASENHUETTL, G.L. Overview of Food Emulsifiers. In: **Food Emulsifiers and Their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 1-7, 2008.

HERRERA, M.L.; MARQUEZ ROCHA, F.J. Effects of sucrose ester on the kinetics of polymorphic transition in hydrogenated sunflower oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.73, p.321-326, 1996.

HERRERA, M.L. *et al*. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil: I – nucleation. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.75, p.1273-1280, 1998.

HERRERA, M.L.; GATTI, M.L.; HARTEL, R.W. A kinetic analysis of crystallization of a milk fat model system. **Food Research International**. Ontario, v.32, p.289 -298, 1999.

HUNTER, J.E. Dietary levels of *trans*-fatty acids: basis for health concerns and industry efforts to limit use. **Nutrition Research**. West Lafayette, v.25, p.499-513, 2005.

JOHANSSON, D.; BERGENSTHAL, B. Sintering of fat crystal networks in oil during post-crystallization processes. **Journal of American Oil Chemists' Society.** Champaign, v.72, p.911-920, 1995.

KAWAMURA, K. The DSC thermal analysis of crystallization behavior in palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.57, p.48-52, 1979.

LAWLER, P.J.; DIMICK, P.S. Crystallization and polymorphism of fats. In: **Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology**. Ed. AKOH, C.C. CRC Press, Boca Raton, p.275-300, 2002.

LIDEFELT J. Handbook vegetable oils and fats, 2nd AAK Press, Sweden, 2007.

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

LONCHAMPT, P.; HARTEL, R.W. Fat bloom in chocolate and compound coatings. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.106, p. 241-274, 2004.
McGAULEY, S.E., MARANGONI, A.G. Static crystallization behavior of cocoa butter and its relationship to network microstructure. In: **Physical Properties of Lipids**. Ed. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. C.C. CRC Press, Boca Raton, p.85-123, 2002.

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

MARTINI, S.; AWAD, T.; MARANGONI, A.G. Structure and properties of fat crystal networks. In: **Modifying Lipids for Use in Food**. Ed. GUNSTONE, F. Woodhead Publishing, Cambridge, p.142-169, 2006.

MARTINI, S.; CERDEIRA, M.; HERRERA, M.L. Effect of sucrose esters on the crystallization behavior of bulk oil systems. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.81, p.209-211, 2004.

MARTINI, S.; HERRERA, M.L. Physical properties of shortenings with low-trans fatty acids as affected by emulsifiers and storage conditions. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.110, p. 172-182, 2008.

MASUCHI, M.H.; GRIMALDI, R.; KIECKBUSCH, T.G. Efeito da adição de monoestearato e de monooleato de sorbitana no comportamento de cristalização de manteiga de cacau. XIX COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2012.

METIN, S.; HARTEL, R.W. Crystallization of fats and oils. In: **Bailey´s Industrial Oil and Fat Products**. Ed. SHAHIDI, F. Wiley Interscience, New York, v.1, p.45-76, 2005.

MINAL, J. An introduction to random interesterification of palm oil. Palm Oil Developments. Kuala Lumpur, v.39, p.1-6, 2003.

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

MISKANDAR, M.S. *et al*. Effects of emulsifiers on crystal behavior of palm oil blends on slow crystallization. **Journal of Food Lipids**. Trumbull, v.14, p.1-18, 2007.

MIURA, S. *et al*. Emulsifying properties of phospholipids in the reconstitution of cream using butter oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.108, p. 898-903, 2006.

MIURA, S.; YAMAMOTO, A.; SATO, K. Effect of monoacylglycerols on the stability of model cream using palm oil. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.104, p. 819–824, 2002.

MIYASAKI E.K., CHIU, M.C.; LUCCAS, V.; KIECKBUSCH T. Influencia da adição de lecitinas modificadas na cristalização e polimorfismo da manteiga de cacau. XIX COBEQ – Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2012.

NARINE, S.S.; HUMPHREY, K.L.; BOUZIDI, L. Modification of the Avrami model for application to the kinetics of the melt crystallization of lipids. **Journal of American Oil Chemists' Society.** Champaign, v.83, p.913-921, 2006.

NARINE,S.S.; MARANGONI, A.G. Microstructure. In: **Fat Crystal Networks**. Ed. MARANGONI, A.J. Marcel Dekker, New York, p.179-255, 2005.

O'BRIEN, R.D. Fats and Oils Analysis. In: **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications**. Ed. O'BRIEN, R.D. 2nd ed.CRC Press, New York, 2004.

OKAWACHI, T.; SAGI, N. Confectionery fats from palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.62, p.421-425, 1985.

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**. Weinheim, v.107, p. 634-640, 2005.

PERNETTI, M. *et al*. Structuring of edible oils by alternatives to crystalline fat. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**. Berkeley, v.12, p. 221-231, 2007.

REYES-HERNÁNDEZ, J. *et al*. Physicochemical and rheological properties of crystallized blends containing *trans*-free and partially hydrogenated soybean oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.84, p.1081-1093, 2007.

RIBEIRO, A.P.B. *et al*. Interesterificação química: alternativa para obtenção de gorduras zero *trans*. **Química Nova**. São Paulo, v.30, p. 1295-1301, 2007.

RIBEIRO, A.P.B. *et al*. Zero *trans* fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications. **Food Research International**. Ontario, v.42, p.401-410, 2009.

MARANGONI, Alejandro G.; ROUSSEAU, Dérick. Is plastic fat rheology governed by the fractal nature of the fat crystal network?. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 8, p. 991-994, 1996.

ROUSSEAU, D. *et al*. Regulating the $\beta' \rightarrow \beta$ polymorphic transition in food fats. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.82, p.7-12, 2005.

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

SATO, K.; KURODA, T. Kinetics of melt crystallization and transformation of tripalmitin polymorphs. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.64, p.124-127, 1987.

SATO, K.; UENO, S. Polymorphism in fats and oils. In: **Bailey´s Industrial Oil and Fat Products**. Ed. SHAHIDI, F. Wiley Interscience, New York, v.1, p.77-120, 2005.

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

SHI, Y.; LIANG, B.; HARTEL, R.W. Crystal morphology, microstructure, and textural properties of model lipid system. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.82, p.399-408, 2005.

SMITH, P.R. The effects of phospholipids on crystallisation and crystal habit in triglycerides. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.1, p. 122-127, 2000.

SONODA, T. et al. Effects of emulsifiers on crystallization behavior of lipid crystals in nanometer-size oil-in-water emulsion droplets. **Crystal growth & design**, v. 6, n. 1, p. 306-312, 2006.

STAUFFER, C. E. Emulsifiers for the Food Industry. In: **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 2005.

TANAKA, L.; MIURA, S.; YOSHIOKA, T. Formation of granular crystals in margarine with excess amount of palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.84, p.421-426, 2007.

TANG, D.; MARANGONI, A.G. Modeling the rheological properties and structure of colloidal fat crystal networks. **Trends in Food Science & Technology**. Colney, v.18, p.474-483, 2007.

TIMMS, R.E. Analytical methods. **Confectionery Fats Handbook**. England: The Oily Press, cap.3, p. 63-104, 2003.

TORO-VAZQUEZ, J.F. *et al*. Crystallization of cocoa butter with and without polar lipids evaluated by rheometry, calorimetry and polarized light microscopy. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.107, p. 641-655, 2005.

VAN INGEN, B. Sucrose esters, not a "sweet" solution. Disponível em: http://www.flavours.asia/uploads/7/9/8/9/7989988/white_paper_sucrose_esters_not_a_sweet_solution.pdf. Acesso em: Janeiro de 2013.

VEREECKEN, J. *et al*. Effect of SatSatSat and SatOSat on crystallization of model fat blends. **European Journal of Lipid Science and Technology**. Weinheim, v.111, p. 243-258, 2009.

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

WEYLAND, M.; HARTEL, R. Emulsifiers in Confectionery. In: **Food Emulsifiers and their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 285-304, 2008.

WRIGHT, A.J. *et al*. The effect of minor components on milk fat crystallization. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.77, p.463-475, 2000.

WRIGHT, A.J.; NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Comparison of experimental techniques used in lipid crystallization studies. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.77, p.1239-1242, 2000.

YOUNG, N.; WASSELL, P. Margarines and Spreads. In: **Food Emulsifiers and their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 307-325, 2008.

Capítulo 2

Caracterização das propriedades físicas dos emulsificantes triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose

Maria Aliciane Fontenele Domingues, Lireny Aparecida Guraldo Gonçalves

(Será submetido para a revista Molecules)

Caracterização das propriedades físicas dos emulsificantes triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose

Resumo

Os emulsificantes comerciais utilizados em alimentos são misturas de compostos similares obtidos a partir de matérias-primas naturais. A região hidrofóbica, consiste nas cadeias de ácidos graxos e reflete a natureza da fonte lipídica usada durante a produção, enquanto que a parte hidrofílica consiste em uma vasta gama de moléculas com propriedades químicas diferenciadas, como os polióis, o poliglicerol e a sacarose. A indústria de óleos e gorduras tem demonstrado grande interesse no conhecimento das características físicas dos emulsificantes, revertendo o foco de muitas pesquisas para o efeito da adição de emulsificantes sobre o processo de cristalização de óleos e gorduras. Neste sentido, o presente estudo teve por objetivo caracterizar as propriedades físicas dos emulsificantes triestearato de sorbitana (STS), estearato de sacarose (S-370) e behenato de sacarose (B-370), visando aplicação como modificadores de cristalização de óleos e gorduras. A cinética de cristalização foi analisada através da Equação de Avrami, e revelou que o STS e o S-370 apresentaram crescimento bidimensional a partir de núcleos heterogêneos, enquanto o B-370 apresentou mecanismos de crescimento unidimensional, com formação de grandes agregados cristalinos. Estruturalmente, os três emulsificantes se comportaram como cristais líquidos, com comportamento térmico característico e polimorfismo estável na forma α.

Abstract

The commercial emulsifier used in foods are mixtures of similar compounds obtained from natural raw materials. The hydrophobic region consists of fatty acid chains, reflecting the nature of the lipid source used in production, whereas the hydrophilic part consists of a wide range of molecules with different chemical properties such as polyols, polyglycerol and sucrose. The fats and oils industries have shown great interest in knowledge of the physical characteristics of emulsifiers, reverting the focus of researches for the effects of adding emulsifiers on the crystallization process of fats and

oils. Thus, this study aimed to characterize the physical properties of emulsifiers sorbitan tristearate (STS), sucrose stearate (S-370) and sucrose behenate (B-370), to use as modifiers crystallization of oils and fats. The Avrami's n parameter showed that the STS and the S-370 showed two-dimensional growth from heterogeneous nuclei, whereas the B-370 showed one-dimensional growth, with formation of large crystalline aggregates. Structurally, the three emulsifiers behaved as liquid crystals, with thermal behavior characteristic and α stable polymorphism.

1. Introdução

Emulsificantes são aditivos funcionais de extrema importância na indústria de alimentos. Consistem de moléculas anfifílicas, geralmente com cadeias hidrocarbônicas longas, caracterizadas por propriedades lipofílicas e hidrofílicas. Em adição às suas funções conhecidas de emulsificação e estabilização de emulsões, os emulsificantes podem modificar o comportamento da fase contínua de um produto alimentício, conferindo-lhe benefícios específicos. Em produtos ricos em gorduras, os emulsificantes podem ser utilizados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase gordurosa (HASENHUETTL, 2008). Grande atenção tem sido dada desde os anos 80 para os aditivos que visam à criação de morfologias cristalinas para o interesse industrial. As diferenças nas características estruturais dos aditivos são de forma específicas que, uma vez incorporados na estrutura do cristal, estes irão perturbar as sequências de ligações corretas na rede cristalina e interferir com o processo de crescimento na superfície do cristal (AQUILANO E SGUALDINO, 2001). Os ésteres de sorbitana e sacarose são conhecidos por tais caracterísitcas e por desempenharem papel importante no desenvolvimento dos produtos alimentícios industrializados.

Os ésteres de sorbitana são emulsificantes não iônicos, lipofílicos e com baixo HLB, mas suas propriedades lipofílicas/hidrofílicas dependem do grau e tipo de ácido graxo esterificado (Cottrell e Van Peij, 2004). São reconhecidos por sua capacidade de modificar a morfologia cristalina e a consistência de gorduras, com eficácia como agentes *anti-bloom* em produtos de confeitaria contendo manteiga de cacau e em substitutos da manteiga de cacau, destacando-se o monoestearato de sorbitana (SMS) e o triestearato de sorbitana (STS) como controladores potenciais da cristalização.

Supõe-se que estes compostos possam retardar ou inibir a transição dos cristais de gordura para formas de maior estabilidade. Os ésteres de sorbitana ainda mostram-se especialmente efetivos na estabilização do polimorfo β' em margarinas e na modificação do conteúdo de gordura sólida de gorduras em geral, para promoção de perfis de fusão adequados à temperatura corporal (O'BRIEN, 2004).

Os ésteres de sacarose de ácidos graxos, usualmente conhecidos como ésteres e oligo ésteres de sacarose, são emulsificantes baseados em açúcares e ácidos graxos comestíveis, obtidos por esterificação de um ou mais grupos hidroxila da molécula de sacarose com os ácidos graxos. São compostos atóxicos, sem sabor ou odor, facilmente digeridos, além de biodegradáveis sob condições aeróbicas e anaeróbicas. Possuem estrutura típica de grupos polares e apolares na mesma molécula como os demais emulsificantes, mas as oito posições possíveis para esterificação com ácidos graxos permitem diferentes propriedades lipofílicas/hidrofílicas para estas moléculas. Os ésteres de sacarose constituem uma gama única de emulsificantes não-iônicos, que além da função de emulsificação, apresentam funcionalidades adicionais para as quais são muitas vezes usados, incluindo aplicações como substitutos sintéticos das gorduras. Os estudos como modificadores ou controladores de cristalização são muito recentes, mas apresentam enorme potencial, principalmente quando se consideram a adequação de gorduras de uso industrial (GARTI, 2002; NELEN e COOPER, 2004; CERDEIRA *et al.*, 2006; HASENHUETTL, 2008).

Neste sentido, é de importância industrial significativa o conhecimento mais detalhado sobre estes emulsificantes. O presente estudo tem por objetivo caracterizar as propriedades físicas dos emulsificantes triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose, visando aplicação como modificadores de cristalização de óleos e gorduras.

2. Material e Métodos

2.1 Material

Foram utilizados os emulsificantes triestearato de sorbitana (STS), estearato de sacarose (S-370) e behenato de sacarose (B-370). As informações sobre os emulsificiantes indicadas pelos fornecedores se encontram na tabela abaixo.

Tabela 1. Especificações dos emulsificantes

Emulsificante	Nome Comercial	Fornecedor	Valor de HLB	Monoéster (%)	Forma
Triestearato de Sorbitana	GRINDSTED STS 30	DuPont	2.1	-	Pó
Estearato de Sacarose	S-370	Mitsubishi-Kagaku Foods	3	20	Pó
Behenato de Sacarose	B-370	Mitsubishi-Kagaku Foods	3	20	Pó

O teor de monoéster de 20% indica que o estearato e behenato de sacarose são oligo ésteres de sacarose. O triestearato de sorbitana não apresenta em sua informação técnica a porcentagem de monoéster, mas determina um índice de hidroxila de 80%.

2.2 Métodos

2.2.1 Cinética de cristalização

Amostras dos emulsificantes em pó foram inseridas em tubos de ressonância magnética nuclear (RMN) e aquecidas em micro-ondas até completa fusão. O aumento do conteúdo de sólidos em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado na temperatura de 25°C. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada segundo, durante 150 segundos. A caracterização da cinética de cristalização foi realizada segundo o período de indução (t_{SFC}), teor máximo de sólidos ($SFC_{máx}$) e tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami não linearizada, empregada para o estudo da cristalização é dada por (MARANGONI, 1998)

$$SFC=SFC_{max}\,(1-e^{-kt^{n}})\ ,$$

onde SFC_{max} é o conteúdo limite de gordura sólida, k é a constante de Avrami (min^{-n}), o qual considera tanto a nucleação e crescimento do cristal e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais. O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$ expressa a magnitude dos valores de k e n de acordo com

$$t_{1/2}=\left(\frac{0,693}{k}\right)^{1/n}.$$

2.2.2 Microesturutra

A determinação da microestrutura das amostras de emulsificantes foi realizada por microscopia sob luz polarizada (PLM). Uma pequena quantidade dos emulsificantes foi fundida sobre uma lâmina de vidro, sendo coberta com uma lamínula, e imediatamente realizada a visualização no microscópio óptico, para obtenção das imagens do material fundido. Cinco minutos após a preparação das lâminas, realizou-se uma nova visualização para obtenção de imagens do material cristalizado na temperatura de 25°C. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus, modelo BX51) acoplado a câmara colorida de vídeo digital (Media Cybernetics, modelo MicroPublisher 5.0 Mpixel). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à temperatura ambiente. As imagens foram capturadas pelo aplicativo Image Pro-Plus, versão 7.01 (Media Cybernetics), utilizando luz polarizada e com ampliação de 100 vezes.

2.2.3 Estudo de superfície por Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

Uma pequena quantidade de emulsificante foi fixada com grafite sobre um suporte metálico. As amostras de emulsificantes foram analisadas sob microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM-3000), com magnificação de x1000 e voltagem de 15kV.

2.2.4 Comportamento térmico

A análise térmica das amostras foi realizada por calorimetira diferencial de varredura (DSC) em um calorímetro modelo Q2000 – TA *Instruments*, utilizando o índio (TA *Instruments*) como padrão para calibração.

Adicionou-se entre 4mg a 10mg de amostra em panelas herméticas de alumíno. A análise foi realizada de acordo com o método AOCS Cj 1-94 (AOCS, 2009). As condições de análise foram:

- Eventos de cristalização: 1) Isoterma a 80°C/10min; 2) Rampa de 10°C/min até -60°C,
- Eventos de fusão: 1) Isoterma a -40°C/30min; 2) Rampa de 5°C/min até 80°C.

Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação dos resultados: temperatura *onset* de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c) e altura de pico de cristalização (Ap_c), seguindo os mesmos parâmetros para fusão, temperatura *onset* de fusão (T_f), entalpia de fusão (ΔH_f) e temperatura de fusão máxima ($T_{fmáx.}$).

2.2.5 Polimorfismo e Difração de Raios-X

A forma polimórfica dos cristais das amostras foi determinada por difração de Raios-X, segundo o método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2009). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-Bretano (Ɵ:2Ɵ) com radiação de Cu-Kα (λ = 1.54056Å, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,02° em 2Ɵ e tempo de aquisição de 2 segundos, com varreduras de 15 a 27° (escala 2Ɵ). As amostras dos emulsificantes foram analisadas na temperatura de 25°C. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais (AOCS, 2009; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

3 Resultados e Discussões

3.1 Cinética de cristalização

Os cristais de triacilgliceróis são regulados em sua formação, crescimento, tamanho e forma pela natureza dos ácidos graxos e como essas cadeias interagem em três dimensões. Diferentemente dos triacilgliceróis, na estrutura cristalina dos emulsificantes, o fator governante é a região polar (hidrofílica), que é a maior parte da molécula. O tamanho do grupo hidrofílico, bem como a extensão e a distribuição espacial das ligações de hidrogênio entre os grupos adjacentes, tem uma influência muito maior no empacotamento molecular do cristal do que a natureza da cadeia de ácido graxo (STAUFFER, 1999) Este fator interfere fortemente no comportamento de cristalização dos emulsificantes. A Figura 1 apresenta as isotermas de cristalização, a 25°C, obtidas para os três emulsificantes.

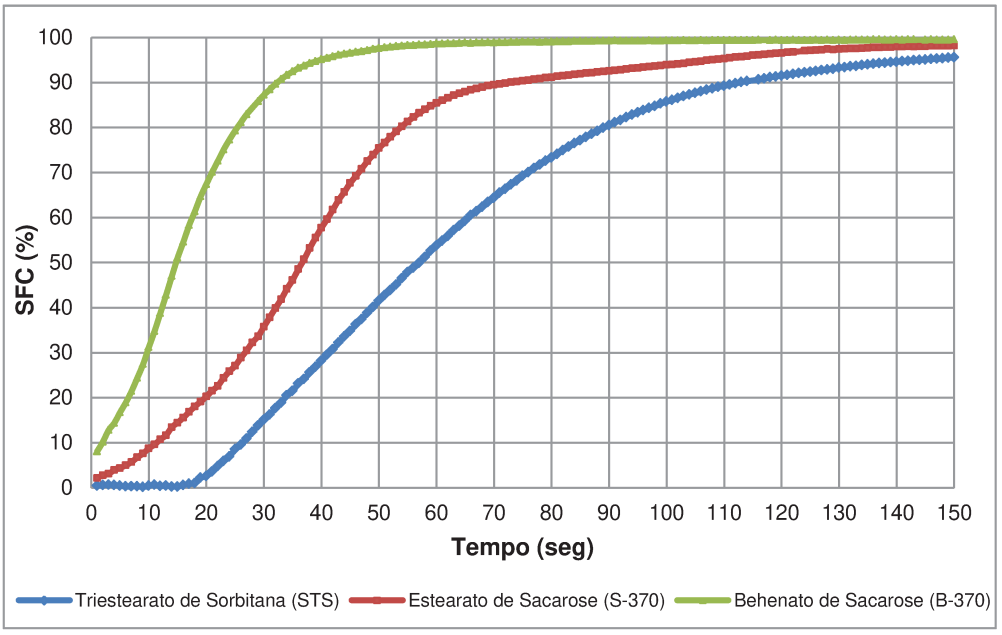


Figura 1. Isotermas de cristalização dos emulsificantes a 25°C.

Observou-se que o triestearato de sorbitana apresentou curto período de indução, enquanto o estearato de sacarose iniciou a cristalização com 2% de sólidos e o behenato de sacarose com 8% de sólidos. Neste caso, o período de indução foi mais influenciado pelo ácido graxo presente no emulsificante, onde a maior cadeia de ácido behênico permitiu a rápida solidificação do behenato de sacarose mesmo em temperaturas mais altas. Na tentativa de facilitar a compreensão dos mecanismos de cristalização destes emulsificantes, foram realizados os ajustes dos dados à Equação de Avrami não linearizada, e os resultados estão apresentados na Tabela 2.

Observou-se que a constante de cristalização k, que indica a velocidade do processo foi maior na seguinte ordem: behenato de sacarose > estearato de sacarose > triestearato de sorbitana. Verificou-se adicionalmente, que apesar da grande molécula de sacarose, a maior velocidade de cristalização foi definida em parte pelo tipo e quantidade de ácido graxo presente na estrutura do emulsificante. O triestearato de sorbitana tem apenas três moléculas de ácido esteárico esterificadas ao sorbitol, enquanto que teoricamente, a molécula de sacarose pode esterificar com até oito moléculas de ácidos graxos (NELEN e COOPER, 2004). Em conformidade com este resultado, o expoente de Avrami, n, também apresentou diferenças entre os emulsificantes, indicando diferentes mecanismos de cristalização para estes compostos. O expoente Avrami (n) fornece informações sobre a natureza qualitativa dos processos de nucleação e crescimento dos cristais. Quando n não apresenta um valor inteiro, verifica-se a combinação de diferentes mecanismos de nucleação (KALKAR *et al.*, 2009). O triestearato de sorbitana apresentou o maior valor de n, seguido pelo estearato de sacarose. De acordo com Liang *et al.* (2012), valores de n entre 1,8 – 2 ilustra uma cristalização quase bidimensional a partir de núcleos heterogêneos. Já o behenato de sacarose apresentou valor de n = 1,4 sugerindo um crescimento unidimensional. De acordo com a Herrera *et al.* (1999), o valor de n~1 pode indicar um mecanismo em que os núcleos são agregados para formar cristais, em vez de um aumento linear. O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$, definida como o tempo necessário para que 50% da cristalização seja alcançada (ZENDEHZABAN, SHAMSIPUR, 2013), foi maior para o triestearato de sorbitana, o que já era esperado

visto o padrão sigmoidal apresentado pela curva de cristalização, enquanto um menor tempo foi observado para o behenato de sacarose.

Tabela 2. Tempo de indução (t_{SFC}), conteúdo máximo de gordura sólida ($SFC_{máx}$), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) das de emulsificantes.

Emulsificante	t_{SFC} (seg)	$SFC_{máx}$ (%)	k (seg^{-n})	n	$t_{1/2}$ (seg)	R^2
STS	18	96,77	$0,16x10^{-3}$	2,0623	56,75	0,99
S-370	0	98,47	$0,96x10^{-3}$	1,8451	35,37	0,99
B-370	0	99,51	$13,61x10^{-3}$	1,4728	14,41	0,99

*STS (triestearato de sorbitana); S-370 (estearato de sacarose); B-370 (behenato de sacarose)

3.2 Microestrutura óptica e estrutura de superfície

A Figura 2 apresenta as imagens obtidas por microscopia sob luz polarizada para os diferentes emulsificantes avaliados. A visualização foi realizada imediatamente após a fusão dos emulsificantes e após sua solidificação. Observou-se que o triestearato de sorbitana e o estearato de sacarose, quando fundidos, apresentaram similaridades estruturais, confirmando os resultados obtidos para o expoente de Avrami (n), anteriormente reportados. Mesmo imediatamente após a fusão, o behenato de sacarose apresentou grandes estruturas cristalinas aglomeradas, também de acordo com o mecanismo de crescimento verificado pelo valor de n, o que pode estar relacionado ao forte efeito de memória cristalina deste emulsificante (WALSTRA, 2002; REID *et al.*, 2013). Quando cristalizado, o triestearato de sorbitana apresentou uma rede cristalina bem estruturada, enquanto observou-se que o estearato de sacarose inicia um processo de agregação de pequenos cristais, mostrando grandes estruturas cristalinas. O behenato de sacarose apresentou grandes dimensões estruturais, contudo, homogêneas em tamanho e distribuição.

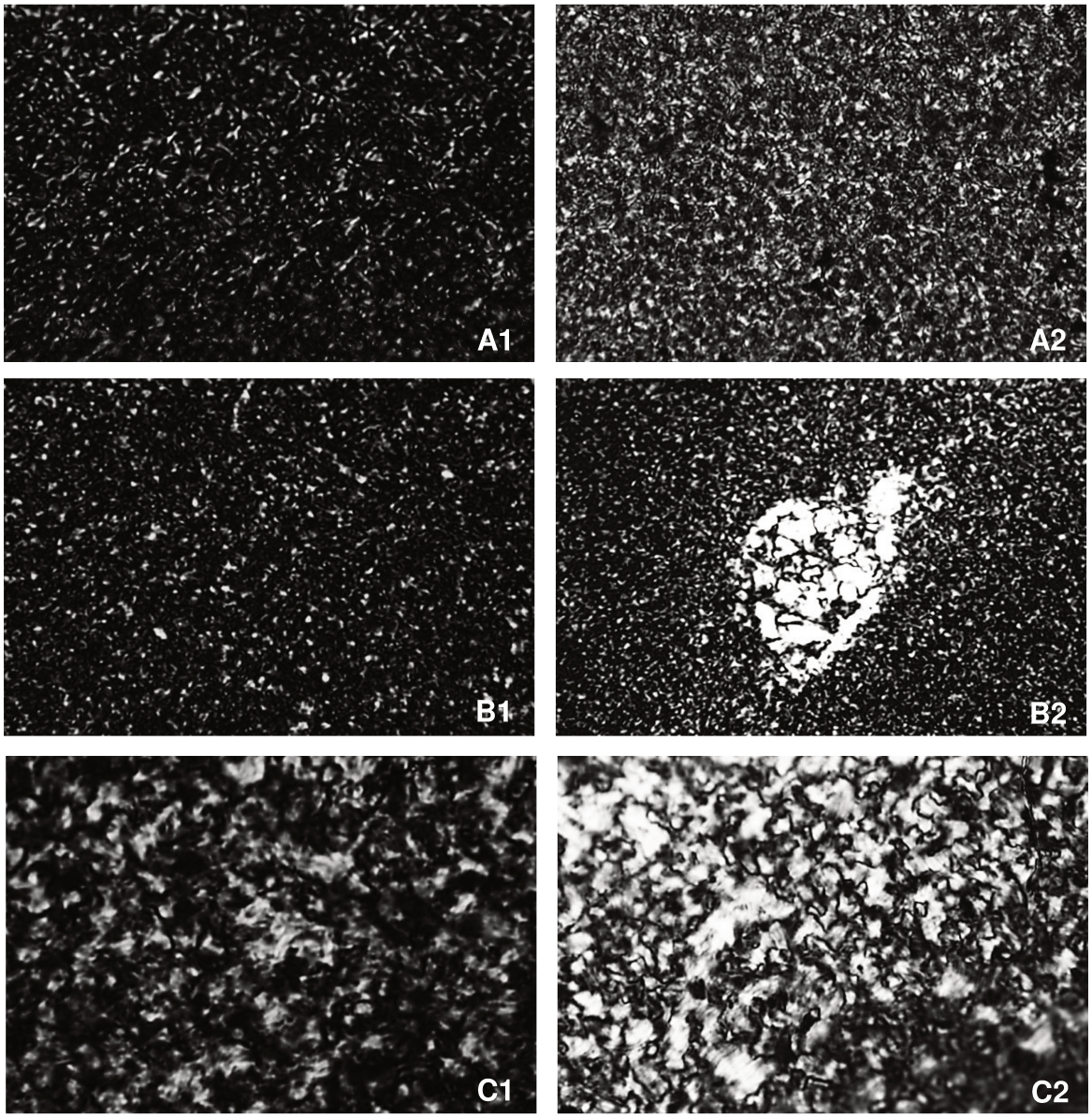


Figura 2. Microscopia sob luz polarizada dos emulsificantes: Triestearato de sorbitana fundido (A1) e cristalizado (A2); Estearato de sacarose fundido (B1) e cristalizado (B2); Behenato de sacarose fundido (C1) e cristalizado (C2) (ampliação de 100x).

De acordo com Fredrick *et al.* (2008) e Miskandar *et al.* (2006), quando emulsificantes como os monoacilgliceróis ou triestearato de sorbitana são dissolvidos em meio liquido oleoso, os mesmos podem adquirir características de cristais líquidos com uma certa ordem. A presença destas estruturas causa redução da barreira de energia para a nucleação dos TAGs. Segundo Neto e Salinas (2005), existem duas classes de cristais líquidos, os termotrópicos e os liotrópicos. A formação dos cristais líquidos liotrópicos ocorre na presença de solvente (ex: água ou óleo). Já os cristais líquidos termotrópicos são formados por moléculas, ou mistura de moléculas, que apresentam como principal característica a anisotropia de forma, que originam mesofases termotrópicas. Essas moléculas podem ter forma de bastão, discos e arcos, entre outras. As diferentes estruturas, ordenamento e transição de fase dessas moléculas individuais ocorrem em função da temperatura, por essa razão são denominados termotrópicos. Quando os emulsificantes foram fundidos, observou-se a formação de estruturas com características de cristais líquidos termotrópicos. Na solução de emulsificante/óleo, os cristais líquidos podem ser formados pela penetração do óleo nas moléculas do emulsificante (KIELMAN e STEEN, 1979; ENGELS e RYBINSKI, 1998).

A Figura 3 apresenta as imagens da superfície dos emulsificantes obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Nesta técnica análitica os emulsificantes foram visualizados apenas em seu estado cristalino, ou seja, na forma de pó. Observa-se que os cristais de triestearato de sorbitana são bem maiores que aqueles apresentados pelo estearato e behenato sacarose. Por sua vez, estes ésteres de sacarose diferem pouco em estrutura, onde a agregação dos pequenos cristais é bem maior no behenato de sacarose.

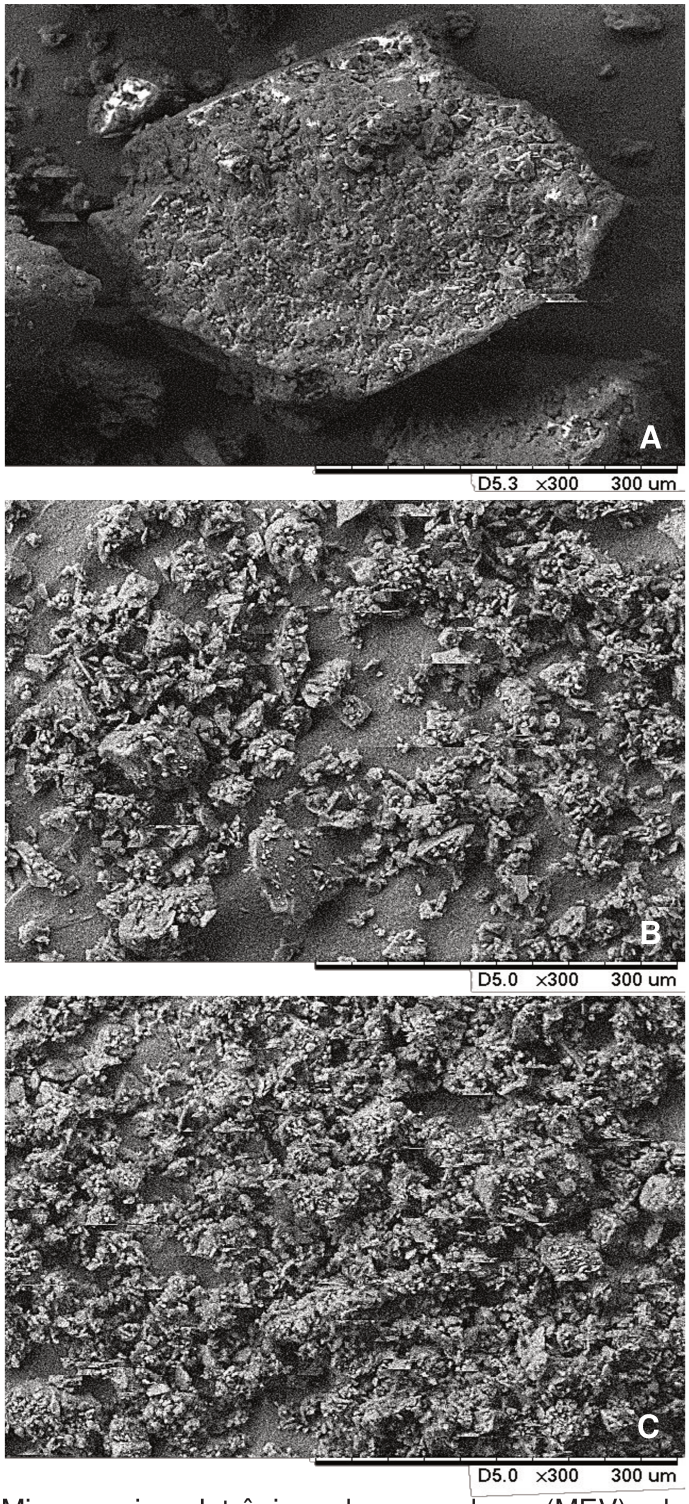


Figura 3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos emulsificantes: Triestearato de sorbitana (A); Estearato de Sacarose (B) e Behenato de sacarose (C).

3.3 Comportamento térmico e polimórfico

Observa-se na Figura 4 os eventos de cristalização e fusão dos emulsificantes. O triestearato de sorbitana foi o emulsificante que mais se aproximou do comportamento físico típico de uma gordura, especialmente pelo seu perfil de fusão. Essa proximidade foi intermediária para o estearato de sacarose, enquanto o behenato de sacarose apresentou características mais distintas em relação às gorduras industriais, como a cristalização e ponto de fusão em temperaturas acima de 70°C. Os eventos térmicos do triestearato de sorbitana mostraram ampla faixa de temperatura, o que sugere menor pureza para este produto. Por outro lado, os ésteres de sacarose apresentaram picos com grande intensidade, mas estreitos, indicando maior pureza. Consequentemente, o valor de entalpia dos eventos térmicos do triestearato de sorbitana são maiores, se comparados com a entalpia verificada para os eventos térmicos dos ésteres de sacarose (Tabela 3), ou seja, é necessário mais energia para fundir e cristalizar o triestearato de sorbitana. Os dois eventos exotérmicos e endotérmicos apresentados pelo estearato de sacarose, sugerem a cristalização e fusão de duas fases distintas, possivelmente relacionados com o comportamento polimórfico. Embora um pequeno ombro tenha sido observado no evento de cristalização do behenato de sacarose, o mesmo não foi visível no evento de fusão.

Tabela 3. Parâmetros termodinâmicos de cristalização e fusão dos emulsificantes avaliados por calorimetria diferencial de varredura (DSC).

Emulsificantes	Tc_{onset}(°C)	ΔHc (J/g)	Ap_c (W/g)	Tf_{onset}(°C)	ΔHf (J/g)	$T_{fmáx}$(°C)
STS	58,78	89,16	0,93	21,36	92,26	51,42
S-370	66,61	47,29	1,29	26,08	47,04	65,03
B-370	73,05	73,35	2,35	42,36	72,27	78

*STS (triestearato de sorbitana); S-370 (estearato de sacarose); B-370 (behenato de sacarose). Tc_{onset} (temperatura inicial de cristalização); ΔHc (entalpia de cristalização); Ap_c (altura de pico de cristalização); Tf_{onset} (temperatura inicial de fusão); ΔHf (entalpia de fusão); $T_{fmáx}$ (temperatura de fusão máxima).

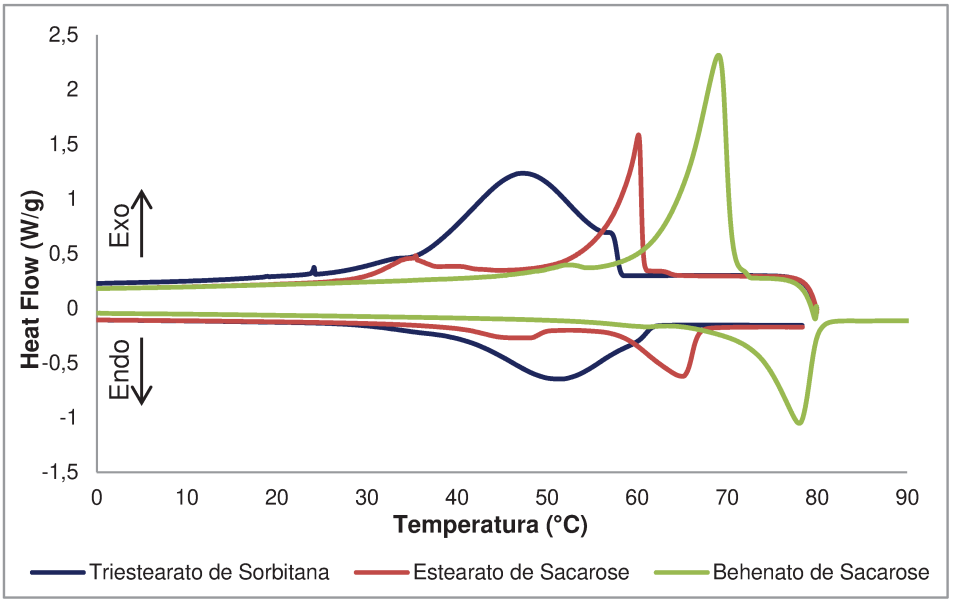


Figura 4. Fenômenos térmicos de fusão e cristalização dos emulsificantes em estudo.

Segundo os padrões de difração observados na Figura 5, os três emulsificantes apresentaram apenas um pico intenso com *short spacings* de 4.15 Å, 4.23 Å e 4.18 Å, respectivamente, para triestearato de sorbitana, estearato de sacarose e behenato de sacarose, sugerindo a cristalização exlusiva da forma α. Apesar da estrutura do triestearato de sorbitana ser muito similar a um TAG, estes compostos revelam propriedades de cristalização distintas. Enquanto os TAGs são polimórficos, o triestearato de sorbitana mostra-se estável em uma única fase, a fase cristalina α (COTTRELL E VAN PEIJ, 2004), isto foi confirmado pela grande intensidade do pico em 4.15 Å, caracterísitco da forma polimórfica α (D'SOUZA *et al.*, 1990). Krog e Sparso (2004) também identificaram um único pico com *short spacing* de 4.13 Å para o triestearato de sorbitana, e indicaram que como este emulsificante apresenta características estruturais muito próximas aos TAGs, apresentaria empacotamento molecular em DCL (*double chain length*). De acordo com Patyk *et al* (2012) a molécula de sacarose tem uma considerável liberdade de conformação e muitas ligações de hidrogênio funcionais, o que poderia sugerir a possibilidade ou mesmo a tendência para a existência de múltiplas formas cristalinas, embora não existam informações publicadas sobre tais correlações. Contudo, a esterificação da sacarose com os ácidos graxos esteárico e behênico, também indicou a cristalização da forma α.

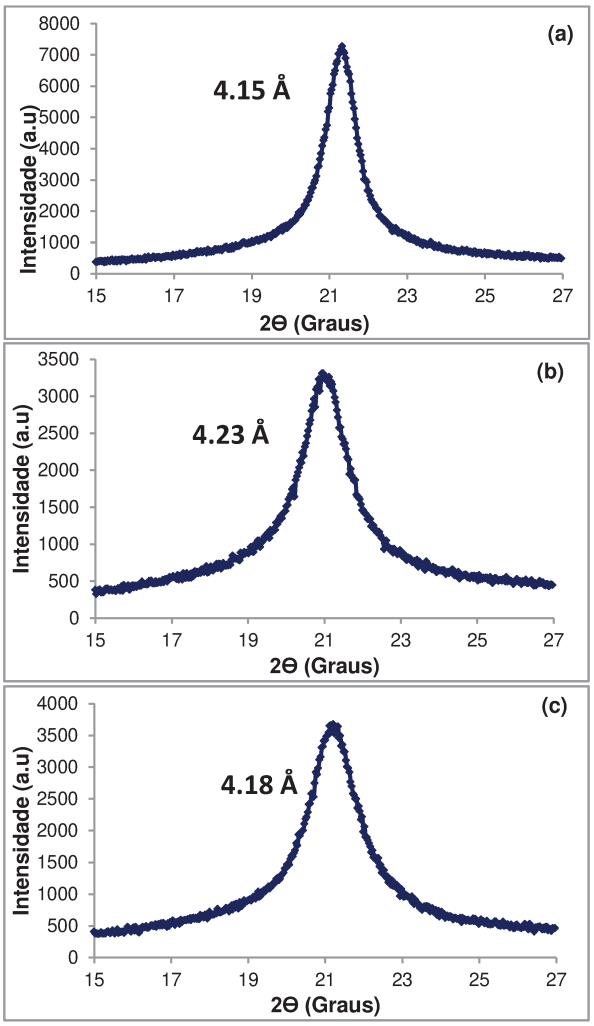


Figura 5. Padrões de difração dos emulsificantes a 25°C: Triestearato de sorbitana (a); estearato de sacarose (b); behenato de sacarose (c).

4 Conclusões

Os emulsificantes triestearato de sorbitana, estearato e behenato de sacarose apresentaram alta velocidade de cristalização, com mecanismos de nucleação bidimensional para o triestearato de sorbitana e estearato de sacarose e unidimensional para o behenato de sacarose. Verificou-se pelo comportamento térmico que o triestearato de sorbitana possui menor pureza em comparação ao estearato e behenato de sacarose. A análise da microestrutura dos emulsificantes revelou que os mesmos apresentam características similares aos cristais líquidos. As informações obtidas indicam que o triestearato de sorbitana, esterato e behenato de sacarose são alternativas interessantes para o estudo de modificação e controle da cristalização das gorduras industriais.

5 Referencias Bibliográficas

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

CERDEIRA, M. *et al*. Polymorphism and growth behavior of low-*trans* fat blends formulated with and without emulsifiers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.83, p.489-496, 2006.

COTTRELL, T.; VAN PEIJ, J. Sorbitan estesrs. In: **Emulsifiers in food technology**. 2004.

COLLINGS, P.J.; PATLE, J.S.; **Handbook of Liquid Crystal research**, New York; Oxford University Press, 1997

D'SOUZA, V. et al. *Short spacings* and polymorphic forms of natural and commercial solid fats: a review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, n. 11, p. 835-843, 1990

Engels, T. von Rybinski, W. "Liquid crystalline surfactant phases in chemical applications." **Journal of Materials Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 1313-1320, 1998.

FREDRICK, E., FOUBERT, I., DE SYPE, J. V., & DEWETTINCK, K. Influence of monoglycerides on the crystallization behavior of palm oil. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 6, p. 1833-1839, 2008.

GARTI, N. Food Emulsifiers: Structure-Reactivity. Relationships, Design, and Applications In: **Physical Properties of Lipids**. Ed. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. C.C. CRC Press, Boca Raton, p.265-386, 2002.

HASENHUETTL, G.L. Overview of Food Emulsifiers. In: **Food Emulsifiers and Their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 1-7, 2008.

HERRERA, M. L.; FALABELLA, C.; MELGAREJO, M.; AÑÓN, M.C. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil: II. Growth and solid fat content. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 76, n. 1, p. 1-6, 1999.

KALKAR, A.K.; DESHPANDE, V.D.; KULKARNI, M.J. Isothermal crystallization kinetics of poly(phenylene sulfide)/TLCP composites. **Polymer Engineering and Science**, v. 49, n. 2, p. 397–417, 2009.

KIELMAN, H.S.; VAN STEEN, P. J. F. **Surface Active Agents**, References London Society of Chemical Industries, p. 191, 1979.

LIANG, G.-D., LIU, T.-T., QIN, W.-P., ZHU, F.-M. AND WU, Q. Crystallization of low-density polyethylene embedded inside zinc oxide nanoparticle percolating network. **Polymer Engineering & Science**, v. 52, n. 6, p. 1250–1257, 2012.

MISKANDAR, M. S., CHE MAN, Y. B., ABDUL RAHMAN, R., NOR AINI, I., YUSOFF, M. S. A. Effects of emulsifiers on crystallization properties of low-melting blends of palm oil and olein. **Journal of Food Lipids**, v. *13*, n. 1, p. 57-72, 2006.

NELEN, B. A. P.; COOPER, J. M.; WHITEHURST, R. J**. Emulsifiers in food technology**. 2004.

NETO, Antônio M. Figueiredo; SALINAS, Silvio RA. **The Physics of Lyotropic Liquid Crystals: Phase Transitions and Structural Properties**. OUP Oxford, 2005.

PATYK, E.; SKUMIEL, J.; PODSIADTO, M.; KATRUSIAK, A. High-Pressure (+)-Sucrose **Angewandte Chemi Int. Ed.** 51, p.2146 –2150, 2012.

REID, B. O., VADLAMUDI, M., MAMUN, A., JANANI, H., GAO, H., HU, W., & ALAMO, R. G. Strong Memory Effect of Crystallization above the Equilibrium Melting Point of Random Copolymers. **Macromolecules**, 2013.

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

STAUFFER, Clyde E. **Emulsifiers**. St. Paul, MN: Eagan Press, 1999.

WALSTRA, P. **Physical chemistry of foods**. Vol. 121. CRC Press, 2002.

YAP, P.H.; deMAN, J.M.; deMAN, L. Polymorphism of palm oil and palm oil products. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign,
v.66, p.693-697, 1989.

ZENDEHZABAN, M.; SHAMSIPUR, M. Isothermal crystallization kinetics of poly (ethylene terephthalate) s of different molecular weights. **Journal of the Iranian Chemical Society**, v. 10, n. 1, p. 77-84, 2013.

Capítulo 3

Uso dos ésteres de sorbitana e sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura zero *trans* base soja

Maria Aliciane Fontenele Domingues, Lireny Aparecida Guraraldo Gonçalves

(Será submetido para a revista Food Research International)

Uso dos ésteres de sorbitana e sacarose como modificadores de fase contínua de uma gordura zero *trans* base soja

Resumo

A cristalização é o problema físico mais importante relativo ao uso industrial de óleos e gorduras, associada a problemas como as transições polimórficas indesejáveis, exsudação de óleo e desenvolvimento de *fat bloom*, além de bases gordurosas com teor máximo de sólidos ou períodos de cristalização incompatíveis com determinadas aplicações industriais. Neste contexto, o presente estudo teve por objetivo analisar a ação do triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES) como possíveis modificadores da fase lipídica contínua e seus respectivos efeitos sobre as propriedades físicas de uma gordura *zero trans* base soja. A gordura *zero trans* foi obtida a partir do processo de interesterificação química da mistura de óleo de soja (70%) e óleo de soja totalmente hidrogenado (30%). Em seguida, foram preparadas amostras contendo 1, 3 e 5% (m/m) de STS e ES. A avaliação das propriedades de cristalização das gorduras sem emulsificante e aditivadas foi realizada através do conteúdo de gordura sólida (SFC), ponto de fusão, consistência, microestrutura, visualização da rede cristalina tridimensional, cinética de cristalização, comportamento térmico e polimórfico. Ambos os emulsificantes contribuíram para a adequação do SFC, alcançando melhores propriedades de consistência. De modo geral, as amostras com STS apresentaram maior estabilidade térmica e polimórfica, resultando em propriedades físicas mais apropriadas para a gordura interesterificada.

Abstract

Crystallization is the most important physical problem related to industrial use of fats and oils, associated with problems such as polymorphic transitions undesirable, oil exudation and development of fat bloom, in addition to fatty bases with maximum solids content or incompatible crystallization periods to certain industrial applications. In this context, the objective of the present study was to analyze the action of sorbitan tristearate (STS) and sucrose stearate (SE) as potential modifiers of continuous lipid phase and their effects on the physical properties of a zero *trans*-fat from soybean oil

and fully hydrogenated soybean oil. The zero *trans*-fat was obtained from chemical interesterification process of mixing soybean oil (70%) and fully hydrogenated soybean oil (30%). Then, samples were prepared containing 1, 3 and 5% (w/w) of STS and ES. The evaluation of samples crystallization properties was carried out using the Solid Fat Content (SFC), melting point, consistency, microstructure, visualization of three-dimensional lattice, crystallization kinetics, thermal and polymorphic behavior. The emulsifiers contributed to SFC adequacy, achieving better consistency properties. In general, samples with STS showed the highest thermal and polymorphic stability, resulting in physical properties most suitable for the interesterified fat.

1. Introdução

Óleos e gorduras são ingredientes importantes em uma grande variedade de alimentos industrializados, cosméticos e produtos farmacêuticos. É importante notar que as gorduras disponibilizadas para uso industrial mudaram significativamente ao longo dos anos (SATO, 2011). No caso da indústria alimentícia, preocupações crescentes com a saúde causaram modificações progressivas na legislação, havendo substituição das bases gordurosas parcialmente hidrogenadas (ricas em ácidos graxos *trans*), por bases interesterificadas, fracionadas ou misturas, sendo que a interesterificação mostrou-se a principal alternativa para a obtenção de gorduras plásticas com baixos teores de isômeros *trans* ou mesmo ausência destes compostos (RIBEIRO *et al*., 2009).

Contudo, a substituição de gorduras parcialmente hidrogenadas em produtos alimentícios, principalmente em *shortenings* e produtos de confeitaria, consiste atualmente em um desafio, uma vez que propriedades apropriadas de cristalização e textura são de difícil obtenção quando da ausência de ácidos graxos *trans* (REYES-HERNÁNDEZ *et al*., 2007). Problemas como a formação de aglomerados cristalinos, além de bases gordurosas com teor máximo de gordura sólida ou períodos de indução incompatíveis com determinadas aplicações industriais estão relacionados ao comportamento de cristalização das novas frações grodurosas. No caso específico das gorduras interesterificadas, a formação de acilgliceróis parciais, como monoacilgliceróis

(MAG‘s) e diacilgliceróis (DAG’s), em decorrência da interesterificação química, pode influenciar a cinética de cristalização, através de alterações no processo de nucleação dos cristais (HERRERA, GATTI, HARTEL, 1999). Em adição, implicações importantes quanto a regioespecificidade dos ácidos graxos na molécula de triacilglicerol (TAG) também conduzem a alterações no processo de cristalização. Por exemplo, durante a interesterificação, uma elevada proporção de TAG assimétricos pode ser formada, os quais são conhecidos por terem um comportamento polimórfico diferente em comparação com o TAG simétrico correspondente (VEREECKEN *et al*., 2010). De acordo com Ribeiro *et al*., (2009) como consequência, as gorduras interesterificadas baseadas em óleo de soja podem requerer um tempo de têmpera adicional a fim de completar a estabilização polimórfica, principalmente como resultado da sua composição triacilglicerólica, dado que o elevado teor dos TAGs SLS (2-linoleoil-1,3-diestearoil glicerol), SLO (1-estearoil-2-linoleoil-3-oleoil glicerol) e SLL (1-estearoil-2,3-linoleoil glicerol), produzidos pela randomização, parece estar associado com a estabilização das amostras de cristalização incompleta nos intervalos de tempo definidos pelo método analítico padrão da AOCS Cd 16b-93 (AOCS, 2009).

Pesquisas recentes procuram entender os fenômenos envolvidos na cristalização de lipídios, na tentativa de propor soluções efetivas para a estabilização ou modificação deste processo, conforme a natureza da matéria-prima e sua aplicação industrial. Neste contexto, o uso de emulsificantes como agentes modificadores de fase contínua tem marcado tendência em pesquisas na área de óleos e gorduras. Muitos estudos vêm confirmando que os emulsificantes afetam os tempos de indução da cristalização, a composição dos germens de nucleação, taxas de crescimento cristalino e transições polimórficas (WEYLAND, HARTEL, 2008).

Os ésteres de sorbitana e sacarose são considerados controladores potenciais da cristalização de bases gordurosas (LONCHAMPT, HARTEL, 2004). Os esteres de sorbitana são derivados a partir de uma simples reação entre o sorbitol e ácidos graxos (geralmente esteárico, oléico, palmítico e láurico). O triestearato de sorbitana (também conhecido como Span 65 ou STS) possui três ácidos graxos que se estendem a partir do sorbitol e tem uma forte tendência para adsorver sobre as superfícies de gorduras a partir da matriz lipídica, durante a cristalização. É, portanto, uma molécula com bom

potencial para os estudos de cristalização de gorduras. Os esteres de sacarose (SE) são derivados da esterificação (ácidos graxos e sacarose) ou da transesterificação (sacarose e gordura). Existe uma grande variedade de produtos, pois a sacarose pode ser esterificada com até oito ácidos graxos. Os monoésteres (~70% de monoésteres) são hidrofílicos, enquanto os di-, tri-, e poliésteres são cada vez mais hidrofóbicos. Os ésteres de sacarose dos ácidos esteárico, palmítico, oléico e láurico estão disponíveis, sendo crescente o interesse pelos mesmos nos estudos de cristalização de gordura (GARTI E YANO, 2001).

Sabe-se que o grupo acila dos emulsificantes determina sua funcionalidade com respeito aos TAGs (MISKANDAR *et al.*, 2007). Neste sentido, a seleção destes emulsificantes teve como critério a composição semelhante quanto ao grupamento acila (ácido esteárico), distinguindo-se apenas na porção hidrofílica (sorbitol; sacarose). Diante do exposto, o objetivo do trabalho foi estudar a ação do triestearato de sorbitana (STS) e do estearato de sacarose (ES) como possíveis modificadores de fase lipídica contínua e seus respectivos efeitos sobre as propriedades físicas de uma gordura zero *trans* base soja.

2. Material e Métodos

2.1 Material

2.1.1 Matérias-Primas

As matérias-primas usadas foram óleo de soja, adquirido em comércio local e óleo de soja totalmente hidrogenado fornecido por Triangulo Alimentos.

Para a reação de interesterificação química foi utilizado como catalizador o metóxido de sódio em pó, com 99% de pureza (Sigma-Alldrich).

Para a preparação das amostras foram utilizados os emulsificantes triestearato de sorbitana (GRINDSTED STS 30-B-PÓ) HLB 2.1, com ponto de fusão de 52°C, fornecido pela DuPont (Brasil) e estearato de sacarose em pó (S-370) HLB 3, com ponto de fusão de 66°C, fornecido pela Mitsubishi-Kagaku Foods (Japão).

2.1.2 Mistura e Interesterificação química

A mistura foi preparada na proporção de 70% de óleo de soja e 30% de óleo de soja totalmente hidrogenado (m/m) de acordo com o estudo realizado por Ribeiro *et al*. (2009), para obtenção de uma gordura *zero trans*. A mistura foi fundida a 100°C e homogeneizada por 10 minutos para completa fusão. Para a reação de interesterificação química foi utilizado um reator encamisado de borosilicato de vidro com capacidade para 4 litros, com porta de drenagem de fundo. O reator foi acoplado a um banho termostático com circulação, a um sistema de agitação pneumático e bomba de vácuo (Edwards, Modelo E2M18, série 962053519). Um volume de 2 L da mistura foi adicionado ao reator, em seguida, no próprio reator, a mistura foi seca por 20 minutos a 100°C. A reação de interesterificação foi realizada sob vácuo, utilizando 0,4% de metóxido de sódio como catalisador. A reação foi realizada sob agitação constante durante 20 minutos de acordo com Grimaldi *et al*. (2005), e finalizada por adição de água destilada e solução a 5% de ácido cítrico. A amostra de gordura interesterificada foi lavada cuidadosamente com água destilada (80°C) para remoção de sabões formados durante a reação, em seguida, foi realizada a secagem sob vácuo a 110°C durante 30 minutos.

2.1.3 Preparação das amostras

A gordura interesterificada zero *trans* foi aquecida até completa fusão. Em seguida, foram preparadas as misturas de gordura interesterificada com 1%, 3% e 5% de triestearato de sorbitana (STS) e 1%, 3% e 5% de estearato de sacarose (ES). Cada mistura foi homogeneizada até completa fusão do emulsificante na gordura (por observação visual).

2.2 Métodos

2.2.1 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi realizada pelo método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009) em cromatógrafo em fase gasosa CGC AGILENT 6850 SERIES GC

SYSTEM, com injetor automático e detector de ionização em chama (FID). O preparo dos ésteres metílicos foi realizado pelo método de Hartman e Lago (1973), e a separação utilizando coluna capilar de sílica fundida DB-23 AGILENT (50% cianopropil-metilpolisiloxano, 60m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). As condições de análise foram: temperatura do forno: 110°C/5min, 110 °C-215 °C (5 °C/min), 215°C/24min; temperatura do detector: 280 °C; temperatura do injetor: 250 °C; gás de arraste: hélio, razão split 1:50; volume de injeção: 1 µL. A composição qualitativa foi determinada comparando os tempos de retenção de cada pico, com os respectivos padrões de ácidos graxos. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2 Composição Triacilglicerólica

A composição triacilglicerólica foi realizada pelo método AOCS Ce 5-86 (AOCS, 2009), utilizando cromatógrafo gasoso CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, coluna capilar cromatográfica DB-17 HT AGILENT (50% fenil– metilpolissiloxano, 15m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,15 µm de espessura do filme). As condições cromatográficas foram: injeção split; razão 1:100; temperatura da coluna: 250 °C, programada até 350 °C numa razão de 5 °C/min; gás de arraste: hélio, numa vazão de 1mL/min; temperatura do injetor: 360°C; temperatura do detector: 375°C; volume de injeção: 1µL; concentração da amostra: 100mg/5mL de tetrahidrofurano. Os grupos de triacilgliceróis foram identificados por comparação dos tempos de retenção, seguindo os procedimentos descritos por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.3 Quantificação de lipídios minoritários

As amostras foram diluídas na proporção 10 mg em 1 mL de tetrahidrofurano e analisadas (20 µL) em cromatógrafo líquido equipado com injetor Rheodyne 7725i e bomba Waters 510 (Waters Corporation, Milford, Mass., USA), com duas colunas Ultrastyragel (100 Å e 500 Å) (Waters Associates, Milford, Mass., USA), 25 cm x 0,77 cm I.D., empacotadas com copolímero de estireno-divinilbenzeno (aproximadamente 10 mm), conectadas em série e com um detector de índice de refração (Hewlett Packard,

Califórnia, EUA). Condições: fase móvel: tetrahidrofurano (grau HPLC); fluxo: 1 mL/min; volume injetado: 20 µL. As famílias de compostos foram identificadas por comparações dos tempos de eluição com padrões de: triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis (DAG) e monoacilgliceróis (MAG) e ácidos graxos livres (AG) (MARQUEZ-RUIZ, JORGE E DOBARGANES, 1996). A análise foi realizada em duplicata.

2.2.4 Distribuição regioespecífica

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear, de alta resolução no carbono-13 (C13) de cadeias acila de TAG foi utilizado como um método quantitativo para a análise regioespecífica das amostras. As análises foram realizadas em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) (Silberstreifen, Rheinstetten, Alemanha), Bruker Advanced DPX 300. A determinação de C13 foi feita a 75,8 MHz com 5 mm de funcionamento da sonda nuclear múltipla, a 30°C, de acordo com a metodologia descrita por Vlahov (VLAHOV, 1998; VLAHOV, 2005). Os resultados são fornecidos como composição de ácidos graxos saturados, oléico e linoléico nas posições *sn-2* e *sn-1,3* dos triacilgliceróis. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.5 Conteúdo de gordura sólida (SFC)

Foi determinado utilizando Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, acoplados a banhos secos com faixa de temperatura de 0°C a 70°C, Tcon 2000 (Duratech, EUA). Foi utilizado o Método AOCS Cd 16b- 93: método direto com leitura das amostras em série nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65°C, com temperagem para gorduras não estabilizadas (AOCS, 2009). Os diagramas de compatibilidade foram construídos baseando-se nos dados de conteúdo de gordura sólida versus proporção de emulsificante em cada temperatura de análise. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.6 Ponto de fusão

Foi calculado para a temperatura correspondente ao teor de sólidos igual a 4% obtido da curva de sólidos por RMN (GOH E KER, 1991; KARABULUT *et al.*, 2004), através de equações polinomiais ajustadas com auxílio de *softwares* matemáticos.

2.2.7 Consistência

Foi determinada utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT2i (Stable Micro Systems), controlado por microcomputador. As amostras foram totalmente fundidas para destruição do histórico cristalino. Em seguida, foram condicionadas a 5°C por 24h e então estabilizadas na temperatura de análise por mais 24h. O condicionamento das amostras foi efetuado em estufa (BIOSYSTEMS) com controle de temperatura, sendo que a análise foi realizada nas seguintes temperaturas 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C e 40°C. Para a análise foi utilizado cone de acrílico com ponta não truncada e ângulo de 45°. As determinações foram realizadas nas seguintes condições: distância de 10mm; velocidade de 2mm/s; tempo de 5s; em triplicata para cada amostra (RODRIGUES, GIOIELLI, ANTON, 2003). A partir destas condições, obteve-se a força de compressão em gf. Os dados de penetração foram convertidos em *yield value*, conforme (HAIGHTON,1959)

$$C=\frac{KW}{p^{1,6}},$$

onde C é o *yield value* medido em gf/cm^2, K é o fator dependente do ângulo do cone (igual a 4700, para cone de 45°), W é a força de compressão medida em gf e p é a profundidade de penetração (igual a 10 mm).

2.2.8 Microestrutura

A microestrutura (morfologia e dimensões cristalinas) das amostras foi determinada por microscopia sob luz polarizada. As amostras foram fundidas à temperatura de 70°C em estufa. Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida em temperatura controlada (semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), sendo coberta com uma

lamínula. As lâminas foram preparadas em duplicata e cristalizadas a 25°C em estufa (BIOSYSTEMS) por 2h. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus) acoplado a câmara de vídeo digital (Media Cybernetics). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à mesma temperatura de cristalização. As imagens foram capturadas pelo software Image Pro-Plus (Media Cybernetics) versão 7.01, utilizando luz polarizada e com ampliação de 40 vezes. Para cada lâmina foram focalizados três campos visuais, dos quais apenas um foi escolhido para representar os cristais observados (GAMBOA, GIOIELLI, 2006). Os parâmetros de avaliação selecionados para a análise quantitativa das imagens no software Image Pro-Plus foram o diâmetro médio dos cristais e proporção de área cristalizada. Foi utilizado o *software Benoit* 1.3 (*TruSoft* International Inc.) para determinação da dimensão fractal das amostras, pelo método da contagem de caixas.

2.2.9 Visualização da rede cristalina tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram fundidas e colocadas em cápsulas plásticas de 15mL com tampa hermética. Em seguida foram temperadas por 48h, sendo estabilizadas por 24h a 5°C, seguindo por mais 24h a 25 °C. Devido à plasticidade das amostras, as cápsulas contendo as amostras foram submersas individualmente em nitrogênio líquido no momento da análise, para ocasionar a fratura das amostras. Em seguida, as amostras foram imediatamente analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM-3000), com magnificação de 1000x e voltagem de 15kV.

2.2.10 Cinética de cristalização

As amostras foram fundidas e mantidas em banho seco Tcon 2000 (Duratech, EUA) na temperatura de 70 °C para completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado na temperatura de 25°C. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada minuto, durante 90 minutos. A caracterização da cinética de cristalização foi realizada segundo o período

de indução (t_{SFC}), teor máximo de sólidos ($SFC_{máx}$) e tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami original foi empregada para o estudo da cristalização. A mesma foi linearizada e aplicada aos resultados obtidos para determinação dos valores de k e n de acordo com (CAMPOS, 2005)

$$\frac{SFC\ (t)}{SFC\ (\infty)} = 1 - e^{-kt^n},$$

onde SFC (t) descreve o conteúdo de gordura sólida (%) como uma função do tempo, SFC (∞) é o conteúdo limite de gordura sólida com o tempo tendendo ao infinito, k é a constante de Avrami (min^{-n}), que considera tanto a nucleação quanto o crescimento do cristal e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais. O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$ expressa a magnitude dos valores de k e n de acordo com

$$t_{1/2} = \left(\frac{0{,}693}{k}\right)^{1/n}.$$

2.2.11 Comportamento térmico

A análise térmica das amostras foi realizada por calorimetira diferencial de varredura (DSC) em um calorímetro (modelo Q2000 – TA *Instruments*), utilizando o índium (TA *Instruments*) como padrão para calibração.

Adicionou-se entre 4mg a 10mg de amostra em panelas herméticas de alumíno. A análise foi realizada de acordo com o método AOCS Cj 1-94 (AOCS 2009). As condições de análise foram:

- Evento de cristalização: 1) Equilibrio a 80°C (10min); 2) Rampa de resfriamento 10°C/min até -60°C,
- Evento de fusão: 1) Equilibrio a -40°C (30min); 2) Rampa de aquecimento 5°C/min até 80°C.

Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação dos resultados: temperatura *onset* de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c), altura de pico de cristalização (Ap_c), seguindo os mesmos parâmetros para fusão, temperatura *onset* de fusão (T_f) e entalpia de fusão (ΔH_f) e altura de pico de fusão (Ap_f). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.12 Polimorfismo e Difração de Raios-X

A forma polimórfica dos cristais de gordura das amostras foi determinada por difração de Raios-X, segundo o método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2004). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-Bretano (Ɵ:2Ɵ) com radiação de Cu-Kα (λ = 1.54056Å, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,02° em 2Ɵ e tempo de aquisição de 2 segundos, com varreduras de 15 a 27° (escala 2Ɵ). As amostras foram fundidas em microondas a aproximadamente 80 °C e estabilizadas a 25 °C por 24 horas em estufa. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais. A contribuição dos diferentes tipos de cristais foram estimados pela intensidade relativa dos *short spacings* (β' = 3.80Å e 4.20Å e β = 4.60Å) (AOCS, 2009; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

2.2.13 Análise estatística

As análises estatísticas para ponto de fusão diâmetro de cristal, dimensão fractal e parâmetros de Avrami foram baseadas na análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para determinar as diferenças significativas das médias em um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) utilizando Statistica 8.0 (Statsoft, EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1 Composição da gordura interesterificada

A composição em ácidos graxos das gorduras afeta o seu comportamento estrutural por influência interna nas moléculas de triacilglicerol. De acordo com Wang (2011), devido à elevada concentração de ácidos graxos insaturados no óleo de soja, quase todas as moléculas de TAGs contém pelo menos dois ácidos graxos insaturados, e os TAGs di e trissaturados são essencialmente ausentes. Por outro lado, no óleo de soja totalmente hidrogenado predominam os ácidos esteárico (86%) e palmitico (11,5%), sendo PSS (~27%) e SSS (~70%) os triacilgliceróis majoritários (RIBEIRO *et al.*, 2009). Desta forma, observa-se que a distribuição randômica dos ácidos graxos, em decorrência da interesterificação química da mistura óleo de soja/óleo de soja

totalmente hidrogenado de soja, possibilitou a formação de uma grande variabilidade de TAGs com pontos de fusão intermediários, dissaturados e monossaturados (S_2U e U_2S). Tal variabilidade, acompanhada da formação de 7,55% de diacilgliceróis (Tabela 1) resulta em um comportamento de cristalização mais lento, típico das gorduras interesterificadas base soja (RIBEIRO, *et al*., 2009).

Tabela 1. Composição em ácidos graxos e triacilglicerólica da gordura interesterificada base soja.

Ácidos Graxos	Composição (%m/m)	TAG	Composição (%m/m)
C14:0 – ácido mirístico	0,11 ± 0,00	PPS	2,22 ± 0,16
C16:0 – ácido palmítico	10,83 ±0,06	PSS	4,65 ± 0,61
C16:1 – ácido palmitoleico	0,07 ± 0,00	SSS	3,03 ± 0,23
C18:0 – ácido esteárico	28,39 ± 0,18	POP	1,27 ± 0,19
C18:1- ácido oléico	19,57 ± 0,60	PLP	2,37 ± 0,40
C18:2 – ácido linoléico	35,26 ± 0,20	POS	5,90 ± 0,18
C18:3 – ácido linolênico	3,56 ± 0,04	PLS	9,55 ± 0,03
C20:0 – ácido araquídico	0,19 ± 0,01	SOS	5,77 ± 0,19
C20:1 – ácido gadoléico	0,16 ± 0,01	SLS	3,36 ± 0,55
C22:0 – ácido behênico	0,62 ± 0,01	POO	1,69 ± 0,15
C24:0 – ácido lignocérico	0,19 ± 0,01	PLO	6,41 ± 0,19
		PLL	5,41 ± 0,27
		SLO	10,37 ± 0,67
Diacilgliceróis	7,55 ± 0,25	SLL	12,38 ± 0,17
Ácidos graxos saturados	40,33	OLO	3,55 ± 0,17
Ácidos graxos insaturados	58,62	OLL	10,79 ± 0,65
		LLL	6,37 ± 0,33
		LLnL	4,71 ± 0,52
		SSS	9,90
		SUS	28,22
		SUU	36,26
		UUU	25,42

*S (ácido esteárico); P (ácido palmítico); O (ácido oléico); L (ácido linoléico); Ln (ácido linolênico).

A distribuição dos ácidos graxos na molécula de glicerol constitui outro fator importante relacionado às propriedades físicas de cada TAG. De acordo com Harp e Hammond (1998), em produtos de soja com composição típica em ácidos graxos, o ácido linoléico mostra uma forte preferência pela posição *sn-2,* enquanto que o ácido oléico se distribui igualmente entre as três posições. Já os ácidos graxos saturados

estão mais associados com as posições *sn-1,3*. No entanto, observa-se que para a distribuição regioespecífica dos ácidos graxos na gordura interesterificada (Tabela 2), não existiu posicionamento preferencial de ácidos graxos saturados/insaturados e a distribuição dos ácidos graxos saturados, oléico e linoléico foi relativamente igual entre as posições *sn-1,3* e *sn-2*. Este resultado é uma consequência da randomização dos ácidos graxos na molécula de glicerol e implica em uma maior formação de TAG assimétricos (VEREECKEN *et al.*, 2010).

Tabela 2. Distribuição Regioespecífica dos ácidos graxos na gordura interesterificada.

Posição	Ácidos graxos saturados (%)	Ácido oléico (%)	Ácido linoléico (%)
Sn-1,3	43,12 ± 0,15	18,70 ± 0,26	38,21 ± 0,16
Sn-2	43,31 ± 0,39	19,99 ± 0,71	36,70 ± 0,33

3.2 Efeito da adição dos emulsificantes sobre o conteúdo de gordura sólida

O conteúdo de gordura sólida (SFC) influencia fortemente a adequação de óleos e gorduras para uma aplicação em particular. O SFC e a quantidade de cristais de gordura na mistura são responsáveis por muitas características do produto, incluindo a aparência geral, a facilidade de embalagem, as propriedades sensoriais, a facilidade de espalhamento e a exsudação de óleo (LIDA *et al.*, 2002).

A Figura 1 apresenta os perfis de SFC da gordura interesterificada e adicionada das diferentes concentrações de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose. A curva de SFC da gordura interesterificada sem a adição de emulsificante apresentou comportamento atípico. Este efeito pode ser observado através da queda acentuada entre 10 °C – 15 °C da curva de SFC, além de um sensível aumento do SFC entre 20 °C – 25 °C, indicando que houve uma recristalização da amostra. Este resultado está de acordo com o verificado por Ribeiro *et al.* (2009), que observou o mesmo comportamento em várias misturas interesterificadas de óleo de soja com óleo de soja totalmente hidrogenado, com o teor de óleo de soja totalmente hidrogenado superior a

20%, sugerindo a necessidade de um maior tempo de têmpera para estabilização das misturas.

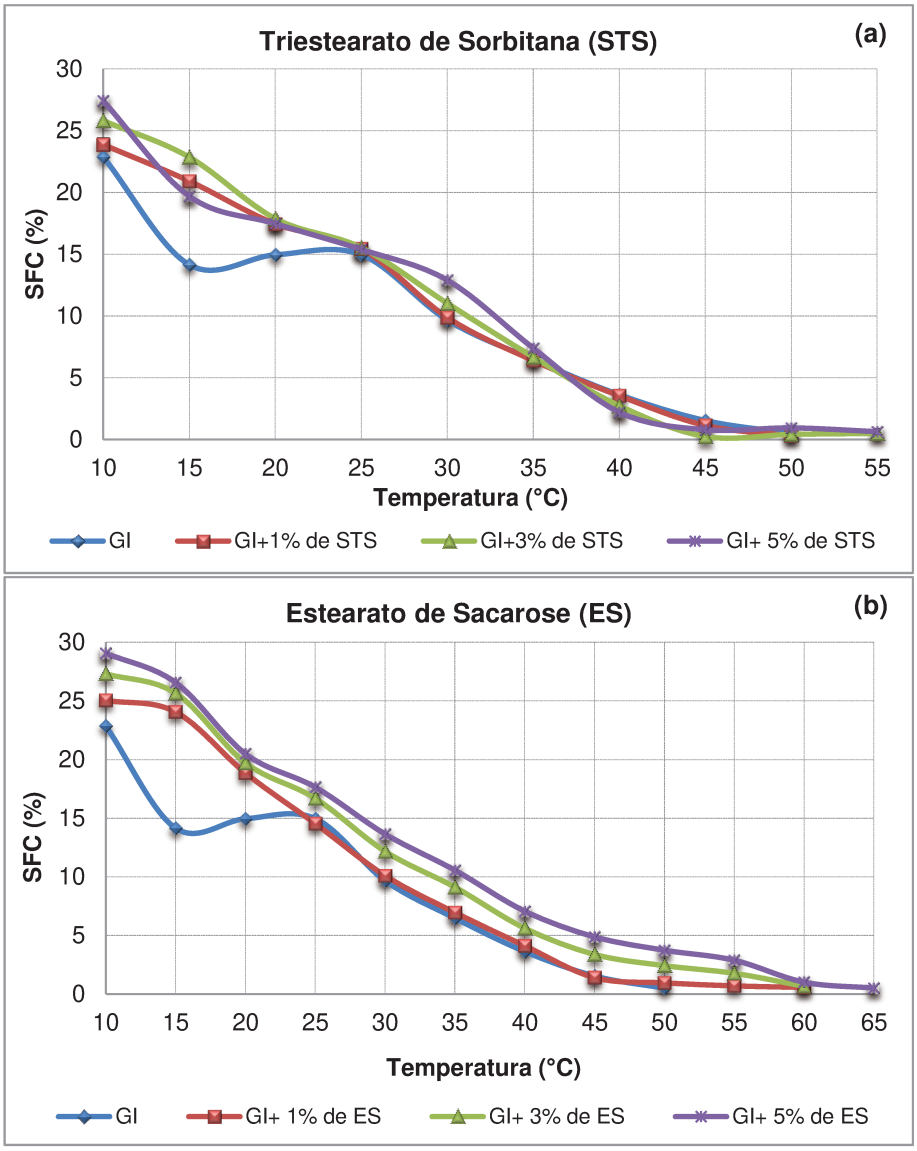


Figura 1. Perfis de sólidos da gordura interesterificada base soja e de suas misturas com triestearato de sobitana (a) e estearato de sacarose (b).
*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

A adição de triestearato de sorbitana (Figura 1a) e estearato de sacarose (Figura 1b) nas concentrações de 1%, 3% e 5% modificou as curvas de SFC da gordura interesterificada. A característica mais marcante foi a atenuação da queda acentuada entre 10 °C – 15 °C, sugerindo que a adição dos emulsificantes supriu a necessidade de tempo adicional de têmpera, possivelmente devido à maior velocidade de estabilização da gordura interesterificada.

Em geral, estudos indicam que emulsificantes com grupos acila similares à gordura possuem maior interação com os TAG da mesma (MISKANDAR *et al*., 2007). Apesar de ambos os emulsificantes utilizados neste estudo serem formados por grupos acila similares à gordura (ácido esteárico), os mesmos diferem em relação a porção hidrofílica. Neste sentido, sugere-se que a incorporação das moléculas de STS e de ES às moléculas de TAG da gordura ocorreu de forma distinta, diferenciando o desenvolvimento de cristais na gordura. Isto pode ser observado na Figura 1, onde a formação de sólidos nas gorduras contendo triesterato de sorbitana (1%, 3% e 5%) foi menor que naquelas adicionadas de estearato de sacarose (1%, 3% e 5%). A adição de 1% de estearato de sacarose à gordura resultou em perfil de sólidos equivalente a adição de 3% de STS. A modificação na formação de sólidos nas temperaturas de 15 °C a 25 °C foi especialmente importante, uma vez que correspondem, respectivamente, a temperaturas de cristalização e de armazenamento. As características aqui apresentadas pela adição de STS e estearato de sacarose, indicaram melhora na capacidade de retenção de óleo pela rede cristalina, resultando em menor exsudação ou migração de óleo futura.

Embora a adição de triestearato de sorbitana, em todas as concentrações avaliadas, tenha atenuado a depressão da curva de SFC (10 °C-15 °C) da gordura interesterificada, não foi observado aumento expressivo na formação de sólidos, ocorrendo mínima redução no teor de sólidos nas concentrações de 3% e 5% de STS a 40 °C (Figura 1a). Este comportamento pode ser associado à semelhança entre a molécula de triestearato de sorbitana com os TAGs da gordura e por sua habilidade em co-cristalizar com os mesmos (FAERGEMAND, KROG E GAONKAR, 2006). A pequena cabeça hidrofílica de sorbitana do STS possivelmente contribuiu para que o mesmo solidificasse junto com a gordura, resultando no atraso da formação de cristais de alto

ponto fusão, mas ao mesmo tempo pode ter permitido que cristais com ponto de fusão intermediário fossem formados. Também foi observado que a formação de sólidos da gordura contendo STS acompanhou a formação de sólidos de uma gordura comercial contendo 19,5% de ácidos graxos *trans*, conforme dados apresentados por Grimaldi, Gonçalves e Esteves (2000). Considerando que as gorduras *trans* oferecem excelente funcionalidade aos produtos, estes resultados têm grande relevância tecnológica.

Tabela 3. Ponto de fusão das amostras de gordura interesterificada e de suas misturas com triestearato de sorbitana e estearato de sacarose.

Amostras	**Ponto de fusão (°C)**
GI	40,91±0,05[a]
GI + 1% de STS	40,79±0,30[a]
GI + 3% de STS	39,18±0,08[b]
GI + 5% de STS	39,66±0,13[c]
GI + 1% de ES	41,70±0,09[d]
GI + 3% de ES	45,92±0,05[e]
GI + 5% de ES	48,89±0,07[f]

*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Para a gordura interesterificada adicionada de ES (Figura 1b), apenas a curva de SFC da gordura contendo 1% de estearato de sacarose esteve próxima à curva da gordura interesterificada (sem emulsificante). A adição de 3% e 5% de estearato de sacarose elevou o perfil de SFC da gordura, caracterizando SFC superior a 4% a 40 °C. Apesar de possuir estrutura similar à gordura, é possível que o estearato de sacarose apresente miscibilidade limitada entre as moléculas de TAGs, devido a grande cabeça polar de sacarose (dissacarídeo). Esta característica permite que o emulsificante solidifique a temperaturas superiores à temperatura de solidificação da gordura interesterificada, apresentando teor de sólidos elevado nas temperaturas acima de 40°C. Sabe-se também que o elevado ponto de fusão do estearato de sacarose acarreta sua menor solubilidade na fase líquida e, portanto, concorre para maior valor SFC (Tabela 3) (ZHOU E HARTEL, 2006).

3.3 Diagramas de compatibilidade

O perfil SFC também pode ser utilizado para estudar a compatibilidade de gorduras, determinando as variações da porcentagem de sólidos em diferentes proporções de gordura ou ingredientes (LIDEFELT, 2007). Neste estudo, o diagrama de compatibilidade foi representado graficamente pelo SFC como uma função da razão entre a gordura interesterificada e a proporção de emulsificantes adicionados e considerou-se como incompatibilidade entre a gordura e os emulsificantes uma grande diminuição no SFC das amostras, conforme se aumenta a proporção de emulsificante.

A Figura 2 apresenta os diagramas de compatibilidade entre a gordura interesterificada e os emulsificantes STS e ES. Pode-se observar que tanto o STS quanto o ES foram compatíveis com a gordura interesterificada. O efeito da compatibilidade foi confirmado principalmente pela mudança na linearidade das curvas nas temperaturas de 15 °C e 20 °C, indicando um comportamento de fase miscível entre o emulsificante e a gordura interesterificada. A temperatura de 25 °C representa a dureza específica da gordura, indicando que ambos os emulsificantes proporcionaram uma estrutura mais rígida. Em especial, a adição de STS manteve linearidade da curva de compatibilidade, enquanto que a adição de 1% de ES reduziu a formação de sólidos.

Apesar da semelhança entre os diagramas dos dois emulsificantes, é possível observar uma sutil diferença das curvas nas temperaturas mais altas. Em concordância com estes resultados, os resultados obtidos para o ponto de fusão da gordura interesterificada, dos emulsificantes e suas misturas (Tabela 3), revelam menor ponto de fusão para as amostras contento STS e um aumento crescente no ponto de fusão das amostras contendo ES. De acordo com Lo e Handel (1983) quando uma determinada mistura produz cristais muito semelhantes, ocorre a diminuição do seu ponto de fusão. Assim, é possível que a adição de STS nas concentrações estudadas tenha ocasionado à formação de cristais mais homogêneos, enquanto que a adição de ES esteve associada à formação de cristais heterogêneos, com consequente aumento do ponto de fusão da gordura. Além disso, a baixa solubilidade em fase líquida do ES em comparação ao STS contribuiu para estes efeitos.

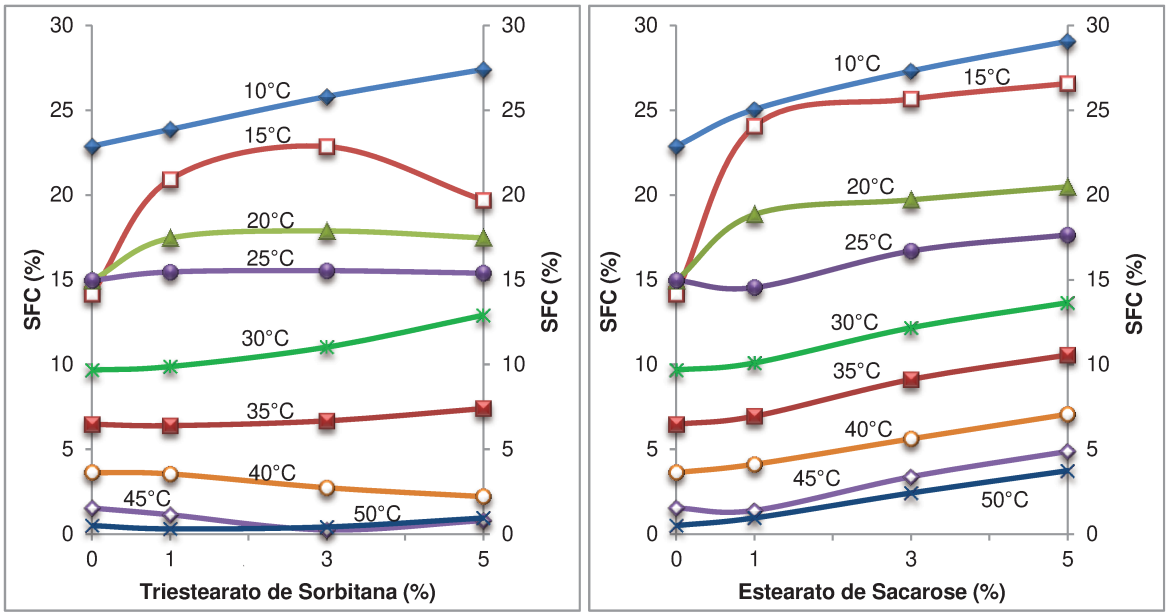


Figura 2. Diagramas de compatibilidade entre a gordura interesterificada base soja e os emulsificantes triestearato de sorbitana e estearato de sacarose nas concentrações de 1%, 3% e 5% (m/m).

3.4 Efeito da adição dos emulsificantes sobre a consistência da gordura

As gorduras são constituídas por uma rede cristalina de pequenas partículas, sustentadas por grande variedade de forças intermoleculares. Sua consistência, estabilidade e funcionalidade são fortemente influenciadas pelas forças dessas interações. Segundo Marangoni e Rousseau (1998), as interações entre os cristais de gordura e/ou agregados de cristais em uma rede variam de fracas forças de van der Waals a pontes sólidas de hidrogênio. Desta forma, a composição lipídica da gordura afeta o arranjo cristalino e a força das interações entre os cristais.

A Figura 3 apresenta os valores de consistência das amostras adicionadas de STS e ES nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Tanto os emulsificantes quanto suas concentrações causaram modificação de consistência da gordura nas diferentes temperaturas avaliadas, observando-se, entretanto, incoerências nos resultados de consistência das amostras contendo os diferentes emulsificantes. Por exemplo, a 10°C, tanto as amostras adicionadas de STS quanto de ES apresentaram consistência menor que a gordura interesterificada sem emulsificantes. Já nas demais temperaturas, a adição de STS em todas as suas concentrações, elevou a consistência da gordura

interesterificada, enquanto que a 15°C a consistência da gordura com 1% de ES foi menor que a gordura sem emulsificante. Contribuindo com os resultados de SFC, a consistência a 25°C foi superior para todas as concentrações de ambos os emulsificantes, contudo, adição de STS resultou em maior dureza.

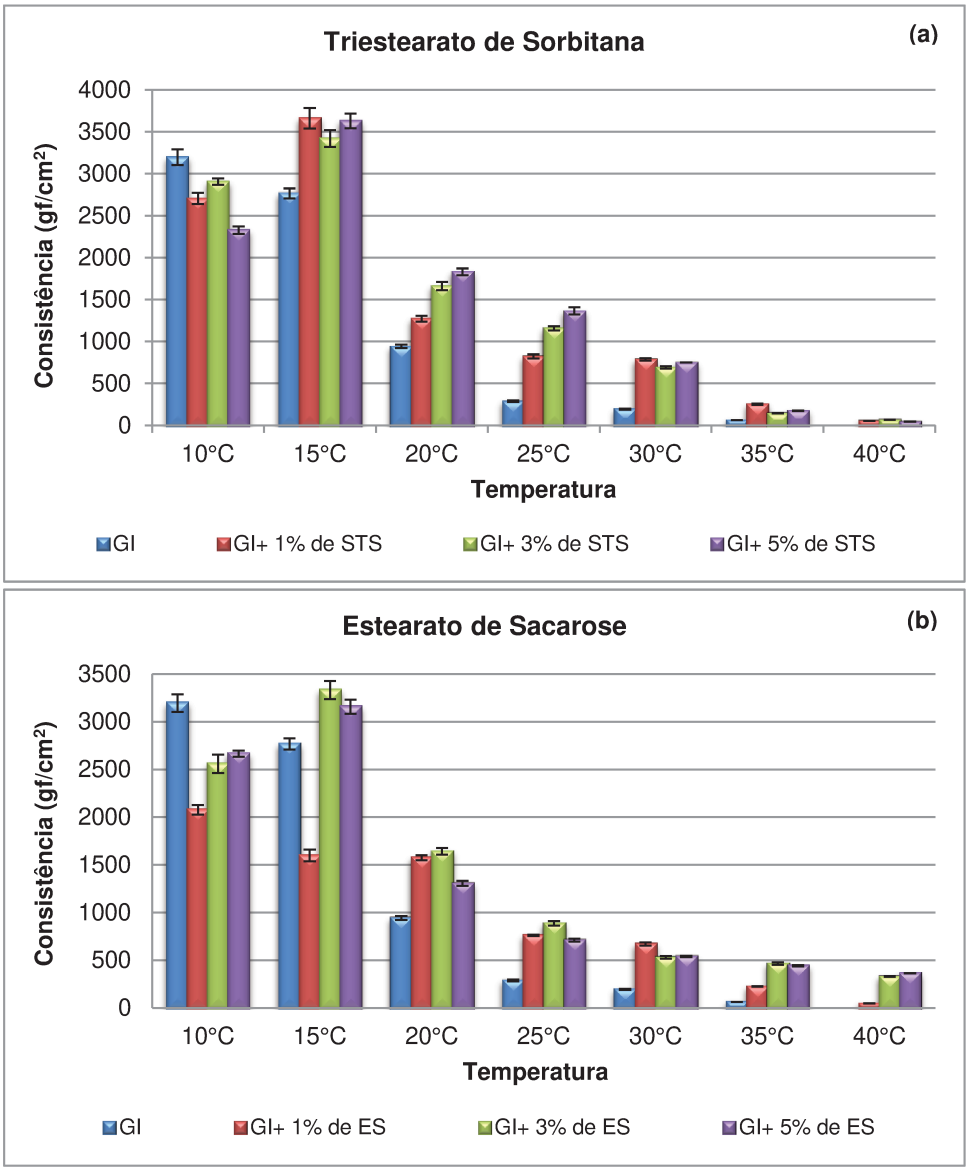


Figura 3. Valores de consistência da gordura interesterificada base soja e suas misturas com STS e ES, nas proporções de 1%, 3% e 5%.

*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

Comparando os emulsificantes, a partir da temperatura de 15°C, a adição de STS forneceu consistência sutilmente maior em relação ao ES. Isto pode ser explicado através da atuação das forças intermoleculares existente entre os TAG da gordura e os emulsificantes adicionados e a consequente formação da rede cristalina. As cadeias de ácido esteárico, tanto do STS quanto do ES, podem ter sido fisicamente adsorvidas ou incorporadas na superfície do cristal de gordura. Contudo, os grupos hidrófilicos dos emulsificantes podem resultar em forças de repulsão, as quais dependem da composição química e do volume de suas porções hidrofílicas (SANGWAL, 2007). O volume da região hidrofílica da sacarose é maior que a sorbitana, neste sentido, as forças de repulsão na gordura contendo ES são maiores se comparada a contendo STS. A maior consistência para a gordura com STS pode ter resultado da maior interação cristal-cristal, conduzida por uma menor força de atração para a ligação à superfície do cristal, o que reduz a mobilidade da fase líquida, ao passo que a adição de ES proporcionou maior mobilidade da fase líquida. Apesar disso, nas temperaturas de 35°C e 40°C, a gordura contendo ES apresentou maior consitência que a gordura contendo STS, que pode ser resultado da miscibilidade limitada em meio líquido do ES, contribuindo para a existência de cristais de ES nestas temperaturas. Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Garbolino, Bartoccini e Flöter, (2005), que verificaram estes mecanismos estudando a adição de ésteres de sorbitana e sacarose na mistura de óleo de palma, óleo de palma interesterificado com óleo de palmiste e óleo de girassol.

3.5 Microestrutura

As propriedades dos cristais, tais como tamanho, morfologia e forma polimórfica influenciam a estrutura da gordura, afetando diretamente as propriedades macroscópicas dos produtos finais, tais como sensação de boca, consistência e espalhabilidade. O conceito de microestrutura transmite informações sobre o estado, quantidade, tamanho, relação espacial e interação entre todos os componentes da rede cristalina (ROUSSEAU, MARANGONI e JEFFREY 1998; AGUILERA *et al.*, 2000; SHI, LIANG e HARTEL, 2005).

Os principais resultados sobre a microestrutura das gorduras adicionadas de STS e ES encontram-se sumarizados na Tabela 4. A adição dos emulsificantes promoveu alterações nas propriedades de superfície da gordura, indicando uma modificação substancial do processo de nucleação, no que diz respeito ao tamanho dos cristais e, consequentemente, a formação da rede cristalina. De acordo com Metin e Hartel (2005), a formação de um núcleo a partir da fase líquida, ou o processo de nucleação, requer a organização das moléculas em um reticulado cristalino de tamanho crítico, a partir da superação de uma barreira energética. Desta forma, verificou-se que tanto a adição de STS quanto de ES foram eficientes na redução da barreira energética para formação dos núcleos. Isto pode ser observado na Figura 4, onde foi visualizada a formação de muitos cristais pequenos para a gordura sem emulsificantes, apresentando menor proporção de área cristalizada (apenas 35%). Quando da adição de STS, a cristalização mostrou-se relativamente mais rápida, o que aumentou a formação de pequenos cristais, acompanhada do desenvolvimento de uma rede cristalina mais densa, e como resultado, a maior proporção de área cristalizada. Este comportamento foi liderado principalmente pela maior solubilidade do STS na gordura. A adição de ES proporcionou a formação de cristais com diâmetros similares àqueles formados pela adição de STS, mas a estruturação da rede cristalina ocorreu de forma distinta. Este comportamento, possivelmente, foi dirigido pela baixa solubilidade do ES na fase líquida, que segundo Garbolino, Bartoccini e Flöter, (2005), o maior tamanho da sacarose interfere na co-cristalização do ES com os triacilgliceróis da gordura, implicando na formação de cristais imperfeitos.

Segundo Marangoni e Narine (2002), o crescimento cristalino ocorre radialmente, os cristais formados crescem até dimensões de 1 a 4 µm e então se unem formando agregados (superiores a 100µm), através de um processo governado pela transferência de massa e calor. O processo de agregação continua até que uma rede tridimensional contínua seja formada a partir da junção destas microestruturas, aprisionando a fase líquida da gordura. As diferentes concentrações de STS e ES proporcionaram a formação de redes cristalinas distintas. Sugere-se que o processo de agregação tenha sido governado pela interação dos cristais adjacentes no meio, enquanto que a formação de aglomerados consistiu na união desordenada dos cristais formados. Neste

contexto, para a gordura contendo STS, a agregação de cristais aumentou conforme o diâmetro médio do cristal, ambos associados diretamente à concentração de STS adicionado na gordura (Figura 4). Em contrapartida, a adição de ES na gordura conduziu a uma maior desordem da rede cristalina, resultando na formação de pequenos aglomerados, com a adição de 1%, e grandes aglomerados, com a adição de 3% de ES. No entanto, a adição de 5% resultou em menor tamanho de cristal e favoreceu o processo de agregação da estrutura cristalina (Figura 4).

Tabela 4. Diâmetro médio, dimensão fractal e porcentagem de área cristalizada da gordura interesterificada e sua mistura com STS e ES a 25°C.

Amostras	**Diametro médio (µm)**	**Dimensão Fractal (D_b)**	**Área cristalizada (%)**
GI	5,29 ± 0,09[a]	1,71 ± 0,05[a]	35
GI + STS 1%	4,48 ± 0,34[b]	1,72 ± 0,05[a]	65
GI + STS 3%	4,96 ± 0,34[ab]	1,77 ± 0,01[a]	84
GI + STS 5%	4,47 ± 0,32[b]	1,76 ± 0,04[a]	83
GI + ES 1%	4,98 ± 0,35[ab]	1,68 ± 0,02[a]	81
GI + ES 3%	6,15 ± 0,03[c]	1,45 ± 0,05[b]	88
GI + ES 5%	4,80 ± 0,25[ab]	1,74 ± 0,04[a]	86

*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Ainda que não tenha sido possível descrever uma morfologia específica para as amostras deste estudo (esferulito, agulha, disco), foi possível relacionar os resultados de microestrutura com a consistência. Isto porque o processo de agregação cristalina favorecido pela adição de STS resultou em uma maior consistência da gordura a 25°C adicionada deste emulsificante em todas as suas concentrações. Além disso, a análise da dimensão fractal que descreve os efeitos combinados da morfologia e padrões de distribuição espacial dos agregados de cristais nas redes cristalinas de gordura (TANG e MARANGONI, 2006), também contribuíram com estes resultados. As amostras contendo 1%, 3% e 5% de STS apresentaram valores de dimensão fractal de 1,72, 1,77

e 1,76, respectivamente, enquanto que as amostras contendo 1%, 3% e 5% de ES revelaram valores de 1,68, 1,45 e 1,74, respctivamente. Apenas a amostra contendo 3% de ES diferiu significativamente ($p<0,05$), contudo, a adição de STS promoveu o aumento da dimensão fractal em comparação às concentrações correspondentes de ES. De acordo com Wright *et al.* (2001) os sistemas com maiores valores de dimensão fractal demonstram maior ordem de empacotamento dos elementos microestruturais, ou seja, representa uma distribuição mais organizada dos elementos. Deste modo, verificou-se que os resultados de microestrutura estiveram relacionados com a consistência das amostras, considerando que a gordura adicionada de STS em todas as suas concentrações apresentou maior dimensão fractal e maior consistência a 25°C se comparada com a gordura contento ES. Estes resultados são similares aos apresentados por Litwinenko, Singh e Marangoni (2004), que atribuíram o aumento na dureza da mistura de gordura de leite com trioleína, induzida por pequenas adições de Tween 60, possivelmente à diminuição no tamanho dos cristais e a valores constantes de dimensão fractal e SFC.

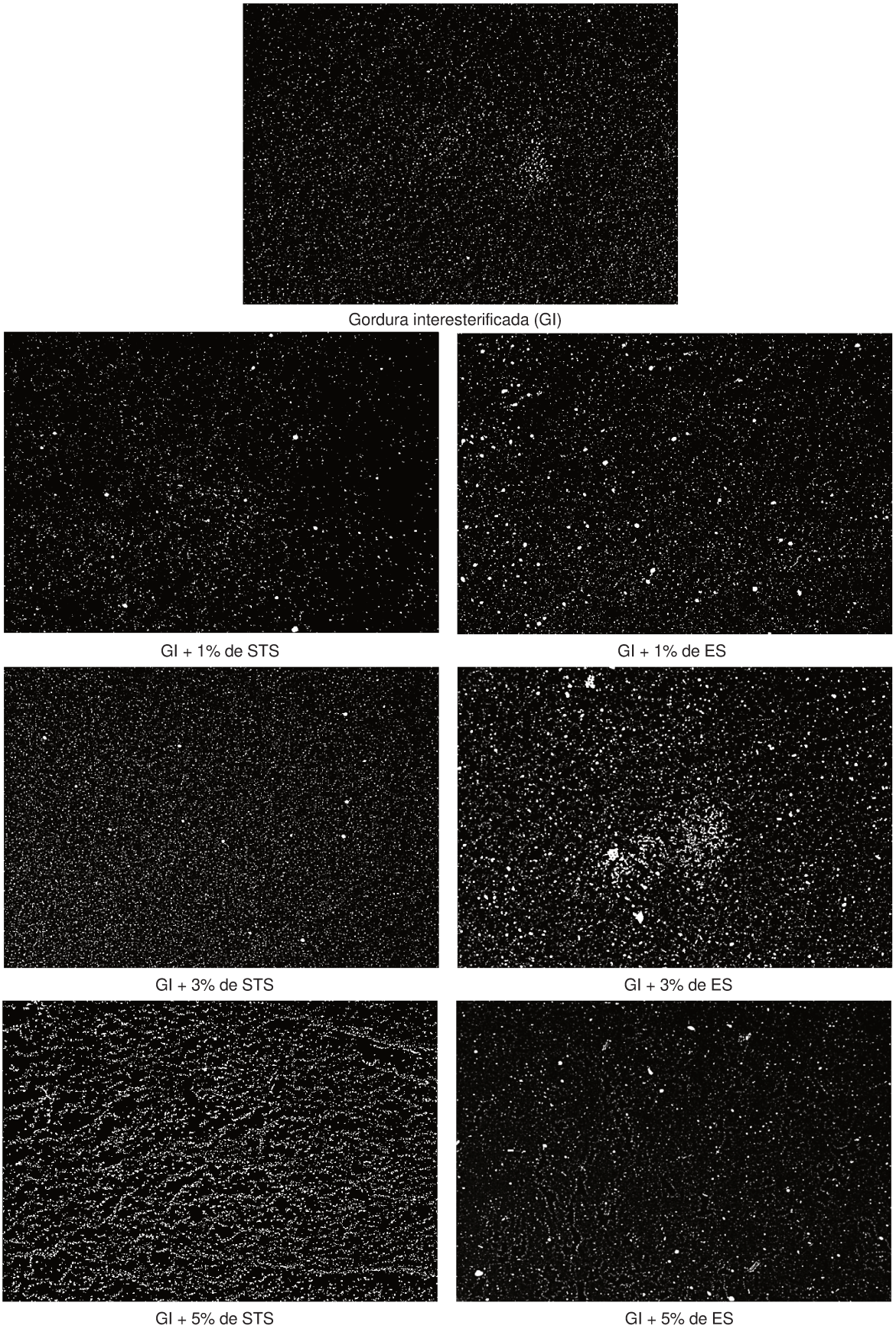


Figura 4. Microestrutura da gordura interesterificada e sua mistura com STS e ES a 25°C (ampliação de 40x). *GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

3.6 Estrutura de superfície

A Figura 5 apresenta imagens do corte transversal (superfície de quebra) de todas as amostras em estudo visualizadas por MEV. As imagens obtidas foram analisadas conforme as observações e definições feitas por Rousseau *et al.* (1996) no estudo da mistura interesterificada de gordura de manteiga com óleo de canola . As amostras sem emulsificante e com 1% de STS mostraram aspecto similar, em que a massa cristalina apresentou uma superfície de quebra com segregação de placas agregadas. O tamanho das placas agregadas foi maior para a amostra com 1% de STS. Ao contrário destas, as amostras contendo 3% e 5% de STS foram melhor detalhadas e apresentaram uma superfície de quebra mais compacta, indicando a formação de uma estrutura cristalina mais densa. Isto pode estar relacionado à menor recristalização da gordura pela adição destas concentrações de STS (ROUSSEAU *et al*., 1996). Já para as amostras contendo ES, as imagens sugeriram a formação de uma estrutura cristalina esponjosa, na qual, durante a análise, foi possível visualizar uma fase líquida em constante movimento nas amostras contendo 1% e 5% de ES. A amostra adicionada de 3% de ES apresentou superfície bastante suave, inviabilizando boa visualização, o que pode estar relacionado à menor dimensão fractal, observada através da análise da microestrutura.

De acordo com Liu, *et al*. (2010), as imagens obtidas por MEV, podem refletir, em parte, a estrutura das redes cristalinas tridimensionais. Assim, observou-se que a adição de STS na gordura permitiu uma maior interação entre os cristais formados, fornecendo à gordura maior dureza e aderência. Por outro lado, a adição de ES favoreceu a formação de cristais soltos, resultando em uma estrutura mais porosa, que contribuiu para a menor dureza destas amostras.

Apesar da contribuição científica destes resultados, ressalta-se que a técnica foi limitada para analisar as amostras de gordura interesterificada e suas misturas com os emulsificantes, especialmente devido à plasticidade das amostras.

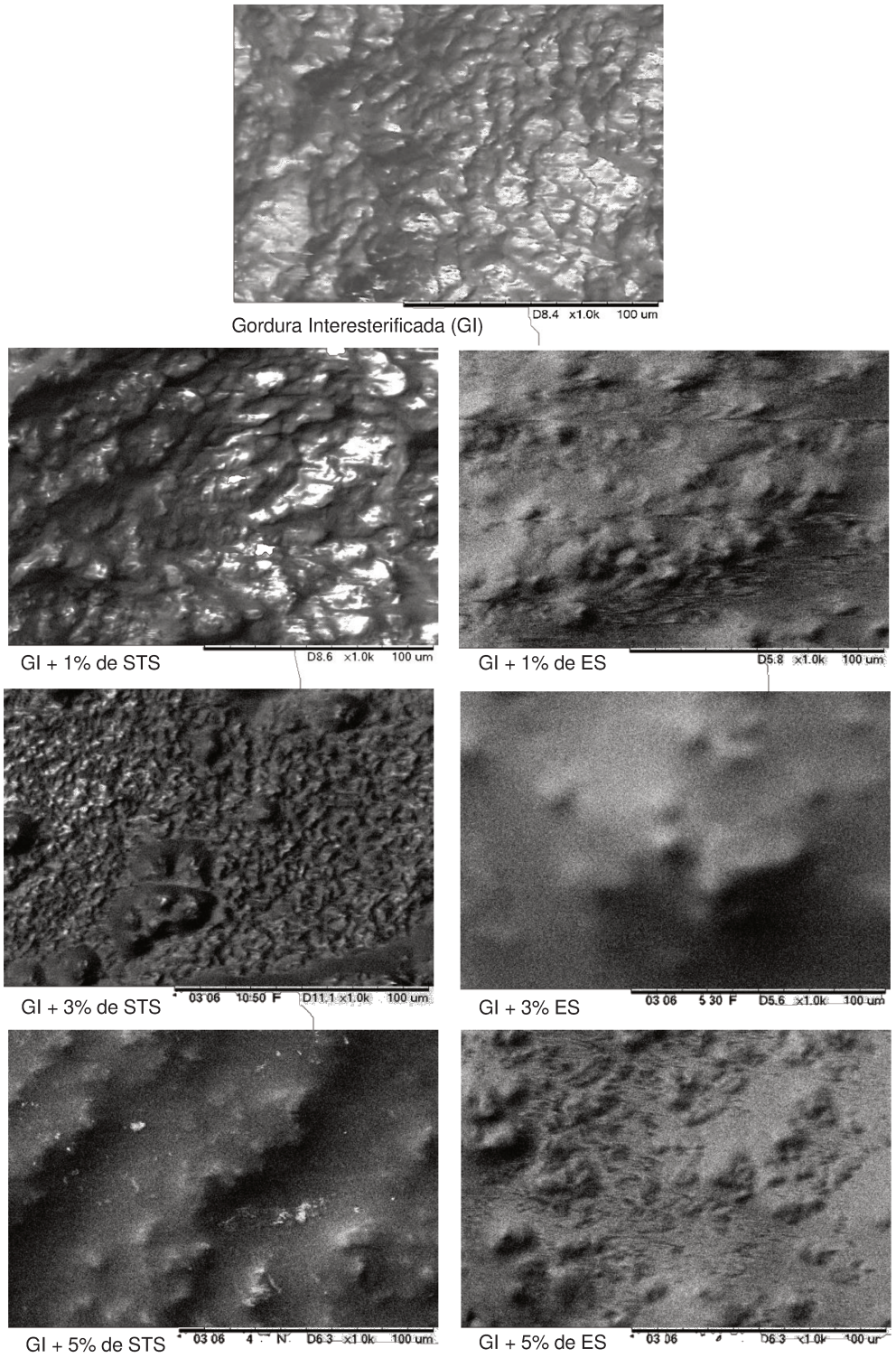


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da superfície das amostras de gordura interesterificada base soja e sua mistura com triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES) nas concentrações de 1%, 3% e 5%.

3.7 Efeito sobre a cinética de cristalização isotérmica

A Figura 6 mostra os resultados da taxa de velocidade de cristalização sob condições estáticas, à temperatura de cristalização de 25º C usando a técnica de RMN. Para todas as amostras com e sem emulsificante, verificou-se tempo de indução com lenta cristalização, seguido por um período de rápida cristalização, caracterizando o comportamento sigmoidal típico de gorduras plásticas.

3.7.1 Tempo de indução

O processo de cristalização inclui a nucleação e crescimento dos cristais. A nucleação envolve a formação de agregados de moléculas que excederam um tamanho crítico e são, portanto, estáveis (BOISTELLE, 1988). O tempo de indução (t_{SFC}) pode ser definido como o tempo necessário para o princípio da nucleação, uma vez que o estado de sub-resfriamento foi atingido (METIN E HARTEL, 2005). Embora o método de RMN seja o menos sensível para medir o tempo de indução (CERDEIRA, CANDAL, E HERRERA, 2004), também pode ser utilizado como um indicador de nucleação (WANG *et al.*, 2011). Na figura 1b é possível observar o efeito da adição de STS e ES sobre o tempo de indução para o início da nucleação na gordura zero-*trans*. Ambos os emulsificantes reduziram o tempo de indução das amostras, sendo que a adição de STS resultou em maior tempo de indução que a adição de ES. As amostras adicionadas de 1% e 3 e 5% de STS apresentaram tempo de indução de 6 e 5 minutos respectivamente, enquanto que a adição de ES mostrou tempo de indução de 6 e 2 minutos para as concentrações de 1% e 3 e 5%, respectivamente. Contudo, para todas as concentrações de STS, núcleos estáveis foram formados em menor tempo em comparação com a adição de 1% e 3% de ES.

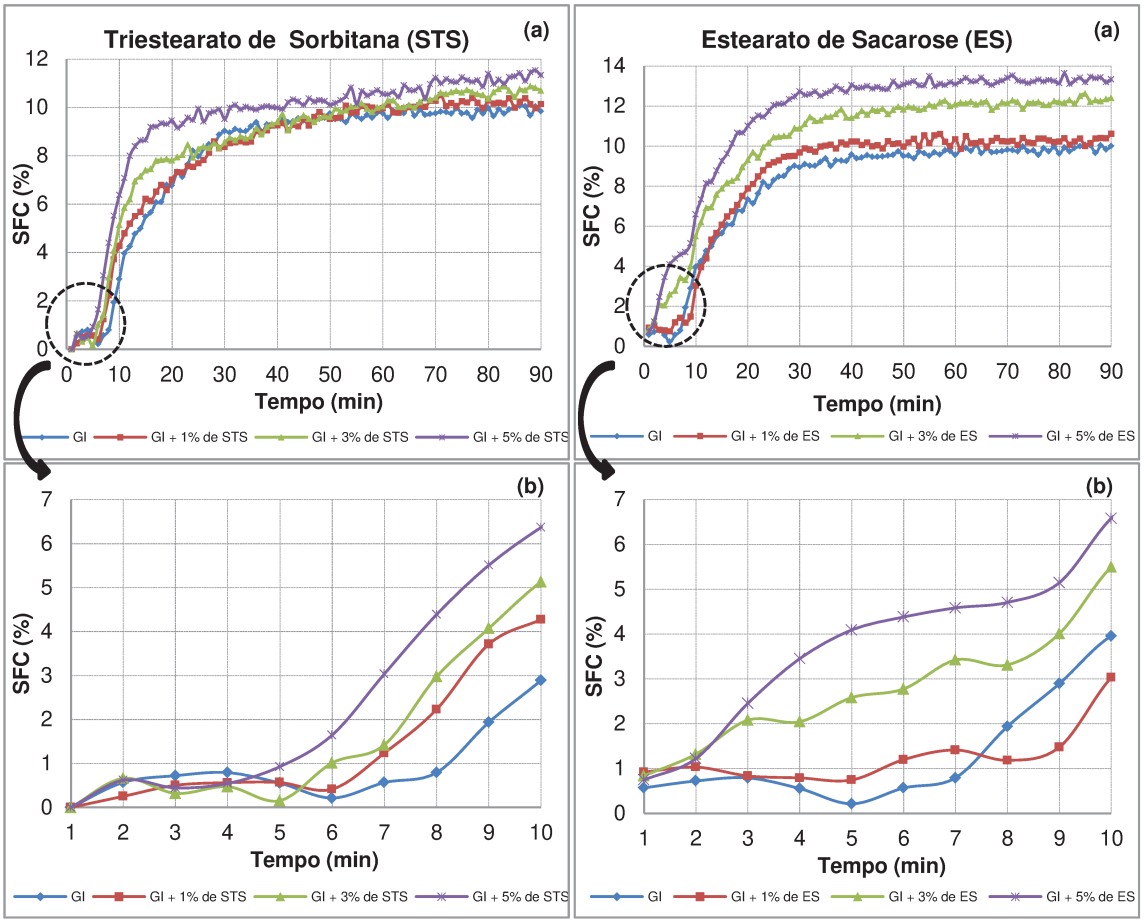


Figura 6. (a) isoterma de cristalização da gordura interesterificada sem e com a adição dos emulsificantes STS e ES por RMN a 25°C; (b) destaque para o tempo de indução das amostras.

*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

Como discutido anteriormente, a adição de STS nas concentrações estudadas proporcionou redução do ponto de fusão (1% de STS = 40,79 °C; 3% de STS = 39,18 °C e 5% de STS = 39,66 °C) em comparação à gordura sem emulsificante com ponto de fusão de 40,91°C. De acordo com Garside (1987), um ponto de fusão mais baixo requer menor força motriz para o processo de cristalização, uma vez que este parâmetro é governado pela diferença entre o ponto de fusão e a temperatura de cristalização. Consequentemente, a adição de STS favoreceu a redução do tempo de indução para o início da nucleação. Já em relação às amostras contendo 1, 3 e 5% de ES, os pontos de fusão foram de 41,79 °C, 45,92 °C e 48,89 °C respectivamente, sendo superiores aqueles observados para as amostras de gordura sem emulsificante e adicionadas de STS, contudo, apresentaram menor tempo de indução se comparadas com estas amostras. Desta forma, considera-se que o menor tempo de indução apresentado pelas amostras contendo 3% e 5% de ES foi devido aos sólidos do ES e não propriamente da gordura, pois o mesmo apresenta baixa solubilidade em fase líquida (ZHOU E HARTEL, 2006).

De acordo com Boistelle (1988), logo após a formação do núcleo cristalino, este começa a crescer pela incorporação de outras moléculas provenientes da camada de líquido adjacente, que é continuamente preenchida pelo líquido supersaturado que está ao redor do cristal. Quando os cristais são suficientemente grandes, se inicia a etapa de agregação, levando a formação de uma rede cristalina contínua (WALSTRA *et al.*; 2001). Como as propriedades da rede cristalina formada dependem do tempo necessário para a nucleação e crescimento de cristais, verifica-se que a adição de STS e ES, nas concentrações utilizadas, desempenhou um papel importante para modificação ou estabilização da fase sólida contínua formada.

3.7.2 Análise dos parâmetros de Avrami

Os parâmetros Avrami fornecem informações sobre a natureza do processo de cristalização. A constante k representa a velocidade de cristalização, que leva em consideração tanto a nucleação quanto a taxa de crescimento dos cristais, e depende principalmente da temperatura de cristalização. Já o expoente Avrami, n, por vezes referido como um índice de cristalização indica o mecanismo de crescimento dos

cristais (WRIGHT *et al.*, 2000). O $t_{1/2}$ é a combinação dos efeitos de *k* e *n*, indicando o tempo necessário para obter 50% de teor máximo de sólidos (SABERI, LAI E TORO-VÁZQUEZ, 2011).

Analisando os resultados apresentados na Tabela 5, observa-se que o modelo de Avrami revelou valores maiores de k (entre 0,06 a 0,2) para a gordura contendo STS em comparação com a gordura sem emulsificante (k = 0,03) e adicionada de ES (k entre 0,02 a 0,06). Quanto maior a concentração de STS, maior foi o valor de k, o que indica um aumento da taxa de cristalização destas amostras, associado a um maior número de interações cristal-cristal. Já a adição de 1% de ES provocou atraso na taxa de cristalização, enquanto que a adição de 3% e 5% de ES não apresentou diferença expressiva para os valores de *k* em relação à gordura sem emulsificante. Neste caso, a adição de ES retardou a incorporação de novas moléculas para o crescimento cristalino. Isto pode estar relacionado à grande diferença química da região hidrofílica do ES e sua solubilidade parcial na fase líquida gordurosa, promovendo uma intensa competição entre moléculas semelhantes por uma posição ainda não ocupada na rede cristalina, o que para gorduras multicomponentes, resulta em um processo de cristalização mais lento (WALSTRA *et al.*; 2001).

Os valores de k apresentados pelas amostras correlacionaram-se bem com os valores de n (Tabela 5). Foi possível observar que quando a constante de Avrami (k) aumentou, o expoente de Avrami (n) diminuiu e vice-versa. Um aumento naconcentração de STS (1% → 3% → 5%) resultou em menores valores de n (0,951 → 0,702 → 0,619). Este resultado, associado a um menor tempo de indução, pode estar relacionado com um processo de nucleação heterogênea da fase oleosa, onde o emulsificante pode formar agregados moleculares, que atuam como um modelo para a nucleação (AWAD E SATO, 2002). Por outro lado, para 1% de ES, houve um aumento no exponente de Avrami em relação à gordura sem emulsificante. Também foi observado que aumentando a concentração de ES (1% → 3% → 5%), o valor de n diminuiu, todavia, mantiveram-se acima de 1. De acordo com Wright *et al.* (2000) o aumento do expoente de Avrami sugere mudanças no crescimento cristalino de um único evento para um evento multidimensional. Assim, considerou-se que o valor de n = 1 como indicativo de um mecanismo onde os núcleos foram agregados para formar

cristais em vez de um crescimento linear. Estes resultados estão de acordo com Herrera, Garti e Hartel (1999) que avaliaram o efeito da presença de componentes minoritários sobre a cinética de cristalização de um sistema modelo para gordura de leite. Wang *et al*. (2011) também verificaram resultados similares estudando a adição de emulsificantes e seus efeitos sobre a cinética de cristalização da estearina de óleo de palmiste hidrogenado.

Tabela 5. Tempo de indução (t_{SFC}), conteúdo máximo de gordura sólida (SFC_{max}), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) e meio tempo de cristalização ($t_{½}$) das amostras de gordura interesterifica base soja sem e com emulsificantes.

Amostras	t_{SFC} (min)	SFC_{max} (%)	k (min^{-n})	n	R^2	$t_{½}$ (min)
GI	8	10,07	0,0369 ± 0,00[a]	1,186 ± 0,02[a]	0,96	12,07 ± 0,01[a]
GI + STS 1%	6	10,50	0,0639 ± 0,00[b]	0,951 ± 0,00[b]	0,97	12,25 ± 0,01[b]
GI + STS 3%	5	10,86	0,1590 ± 0,01[c]	0,702 ± 0,04[c]	0,90	8,16 ± 0,07[c]
GI + STS 5%	5	11,52	0,2497 ± 0,01[d]	0,619 ± 0,02[d]	0,86	5,25 ± 0,52[d]
GI + ES 1%	6	10,61	0,0296 ± 0,00[e]	1,250 ± 0,02[e]	0,92	12,47 ± 0,10[e]
GI + ES 3%	2	12,60	0,0419 ± 0,00[f]	1,131 ± 0,04[f]	0,98	11,98 ± 0,36[f]
GI + ES 5%	2	13,63	0,0653 ± 0,00[g]	1,048 ± 0,00[g]	0,97	9,53 ± 0,01[g]

*GI (gordura interesterificada sem emulsificante); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Segundo Wright *et al*, (2000), expoentes de Avrami com valores similares indicam que a cristalização ocorreu de forma muito semelhante. As diferenças observadas nos valores de n para a gordura adicionada de STS e ES mostraram que a geometria de crescimento dos cristais foi modificada segundo o tipo de emulsificante adicionado. De acordo com Ribeiro *et al*. (2009), gorduras zero-*trans* base soja, apresentam uma tendência polimórfica β'→β. Desta forma, os menores valores de n para as amostras contendo STS podem estar relacionados à maior tendência a formação de cristais β', enquanto os maiores valores de n para as amostras adicionadas de ES, estariam possivelmente relacionados ao atraso na transição polimórfica da gordura β'→β.

O meio tempo de cristalização ($t_{½}$) é definido como o tempo necessário para alcançar 50% da cristalização. Quanto mais curto o intervalo de tempo, mais rápida será a velocidade de cristalização obtida. Analisando os resultados para $t_{½}$

apresentados na Tabela 1, verifica-se que em geral, quando $t_{½}$ diminui, k aumenta, entretanto, apesar da adição de 1% de STS ter aumentado o valor de k, não houve redução correspondente no valor de $t_{½}$. A adição de 3% e 5% de STS e 5% de ES apresentou valores menores de $t_{½}$ quando comparados com a amostra sem emulsificante. Contudo, esta redução foi mais expressiva para as amostras adicionadas de STS. De acordo com Lonchampt e Hartel (2004), para coberturas, a taxa de resfriamento deve ser rápida o suficiente para garantir a cristalização completa. Quanto mais curto for o tempo de resfriamento, melhor será a resistência ao *bloom*, confirmando assim o potencial *anti-bloom* do STS. Segundo Katisuragi, Kaneko e Sato (2001), os ésteres de sacarose não solubilizam totalmente em fase oleosa, havendo a formação de agregados moleculares, tais como micelas invertidas na fase oleosa. A formação destas micelas promoveu a aceleração da cristalização em emulsões (óleo/água) contendo ES, não sendo observado o mesmo efeito para sistemas de gordura em massa. Neste estudo, a adição de ES à gordura interesterificada não provocou alterações expressivas na velocidade de cristalização. Atribuiu-se este efeito a formação destas micelas, que provavelmente cristalizaram sozinhas, formando grandes aglomerados na fase oleosa, o que dificultou a cristalização da massa de gordura.

3.8 Efeito dos emulsificantes sobre o comportamento térmico da gordura

A avaliação por calorimetria diferencial de varredura (DSC) produz medidas diretas da energia envolvida nos processos de fusão e cristalização de óleos e gorduras. A cristalização de óleos resulta em diminuição de volume, associado a um efeito exotérmico. Inversamente, quando há fusão das gorduras, o seu volume se expande; caracterizando um efeito endotérmico. Na Tabela 6 estão apresentados os resultados para os eventos de cristalização e fusão da gordura interesterificada sem emulsificante e das amostras adicionadas de STS e ES.

Tabela 6. Parâmetros termodinâmicos de cristalização das amostras avaliados por calorimetria diferencial de varredura.

Amostras	Picos	Evento de Cristalização			Evento de Fusão		
		T_{Onset} (°C)	ΔH_c(J/g)	Ap_c (W/g)	T_{Onset} (°C)	ΔH_f (J/g)	Ap_f (W/g)
GI	1º	30,06±0,12	6,82±0,29	0,33±0,03	-22,34±0,93	48,98±0,06	-0,32±0,00
	2º	18,31±0,43	29,86±0,23	0,31±0,01	24,34±0,00	22,42±0,01	-0,13±0,00
GI + 1% STS	1º	32,05±0,44	6,83±0,38	0,22±0,03	-20,33±0,73	35,46±0,73	-0,28±0,02
	2º	18,41±0,43	28,64±1,03	0,29±0,02	25.67±0,83	13,67±0,95	-0,10±0,00
GI + 3% STS	1º	36,77±0,71	7,61±0,20	0,15±0,00	-21,37±0,98	31,02±0,98	-0,29±0,01
	2º	18,41±0,11	31,42±0,51	0,31±0,00	26.37±1,54	13,53±0,52	-0,12±0,00
GI + 5% STS	1º	44,48±0,27	7,95±0,52	0,14±0,00	-20,51±1,44	32,46±1,27	-0,24±0,02
	2º	18,76±0,33	29,09±0,61	0,29±0,00	26,39±0,18	12,04±0,42	-0,11±0,00
GI + 1% ES	1º	30,0±0,06	6,49±0,17	0,37±0,04	-23,43±1,37	41,51±1,34	-0,30±0,01
	2º	17,85±0,06	32,75±0,48	0,31±0,01	24,88±0,72	17,60±1,37	-0,11±0,00
GI + 3% ES	1º	30,16±0,28	5,79±0,16	0,25±0,00	-22,90±1,26	41,68±0,78	-0,30±0,01
	2º	18,22±0,04	30,31±0,99	0,31±0,00	24,42±0,62	17,68±1,75	-0,10±0,00
GI + 5% ES	1º	30,53±0,09	5,71±0,32	0,23±0,02	-24,93±0,42	37,02±0,67	-0,27±0,00
	2º	18,27±0,11	29,78±0,91	0,29±0,00	23,43±1,43	13,00±0,48	-0,11±0,00

*GI (gordura interesterificada); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose); Tc_{onset} (temperatura inicial de cristalização); ΔHc (entalpia de cristalização); Ap_c (altura do pico de cristalização); Tf_{onset} (temperatura inicial de fusão); ΔHf (entalpia de fusão); $T_{fmáx}$ (temperatura de fusão máxima); Ap_f (altura do pico de fusão).

Para o fenômeno térmico de cristalização das amostras foram observados dois picos acentuados (Figura 7), analisados como dois eventos separadamente. Primeiramente, observa-se a nucleação e crescimento de cristais da fração de elevado ponto de fusão, caracterizada pela presença de triacilgliceróis trissaturados (SSS) e dissaturados (SSU). O segundo pico representa a maior parte da cristalização e contém a fração triacilglicerólica mais heterogênea e com ponto de fusão intermediário, resultante do processo de randomização, característico das gorduras interesterificadas. Aqui observou-se a nucleação e crescimento da massa de gordura. De acordo com Smith *et al.* (2011), ambos os picos devem ser afetados para que um efeito do aditivo seja reconhecido. Analisando a Tabela 6 e a Figura 7, considerou-se que a adição de STS em todas as suas concentrações produziu o deslocamento de ambos os picos, confirmando que a cristalização ocorreu mais rapidamente para estas amostras. Em relação a adição de ES, foi observado um efeito contrário, onde a adição de 1% de ES

atrasou a cristalização de ambos os picos e a adição de 3% e 5% retardaram a cristalização do 2º pico.

É importante notar que há também efeitos térmicos que acompanham mudanças de fase a partir de uma fase sólida para outra. Se um material cristaliza em uma forma cristalina e, em seguida, muda o hábito de seu cristal, ocorrerá uma mudança de entalpia nesta transformação (SCHWARTZ E MYERSON, 2002). Este efeito também foi observado para as entalpias de cristalização e fusão das amostras (Tabela 6 e Figuras 7 e 8).

No primeiro pico de cristalização, a entalpia foi maior para as amostras contendo STS e menor para as adicionadas de ES em comparação a gordura sem emulsificante, indicando aumento no grau de cristalização pela adição de STS (WASSEL *et al.*, 2012). De acordo com a regra de passos de Ostwald (1897), em que o primeiro polimorfo formado é sempre o menos estável, pois necessita romper uma barreira energética menor, e considerando que a entalpia é relatada como energia interna do sistema (MARANGONI E WESDORP 2012), sugere-se que para as amostras contendo STS, o aumento na entalpia de cristalização, associado ao aumento da temperatura *onset* de cristalização de ambos os picos, demonstra a cristalização de formas polimórficas mais estáveis, enquanto que uma menor entalpia para o primeiro pico de cristalização das amostras com ES corresponde a formação de polimorfos mais instáveis (SMITH *et al.*, 2011). Desta forma, para as condições e taxas de cristalização utilizadas neste trabalho, apenas a adição de ES seguiu a regra de passos de Ostwald. Mudanças na entalpia de cristalização também foram observadas por Kalnin *et al.* (2004); Himawan *et al.* (2007); Vereecken *et al.* (2009).

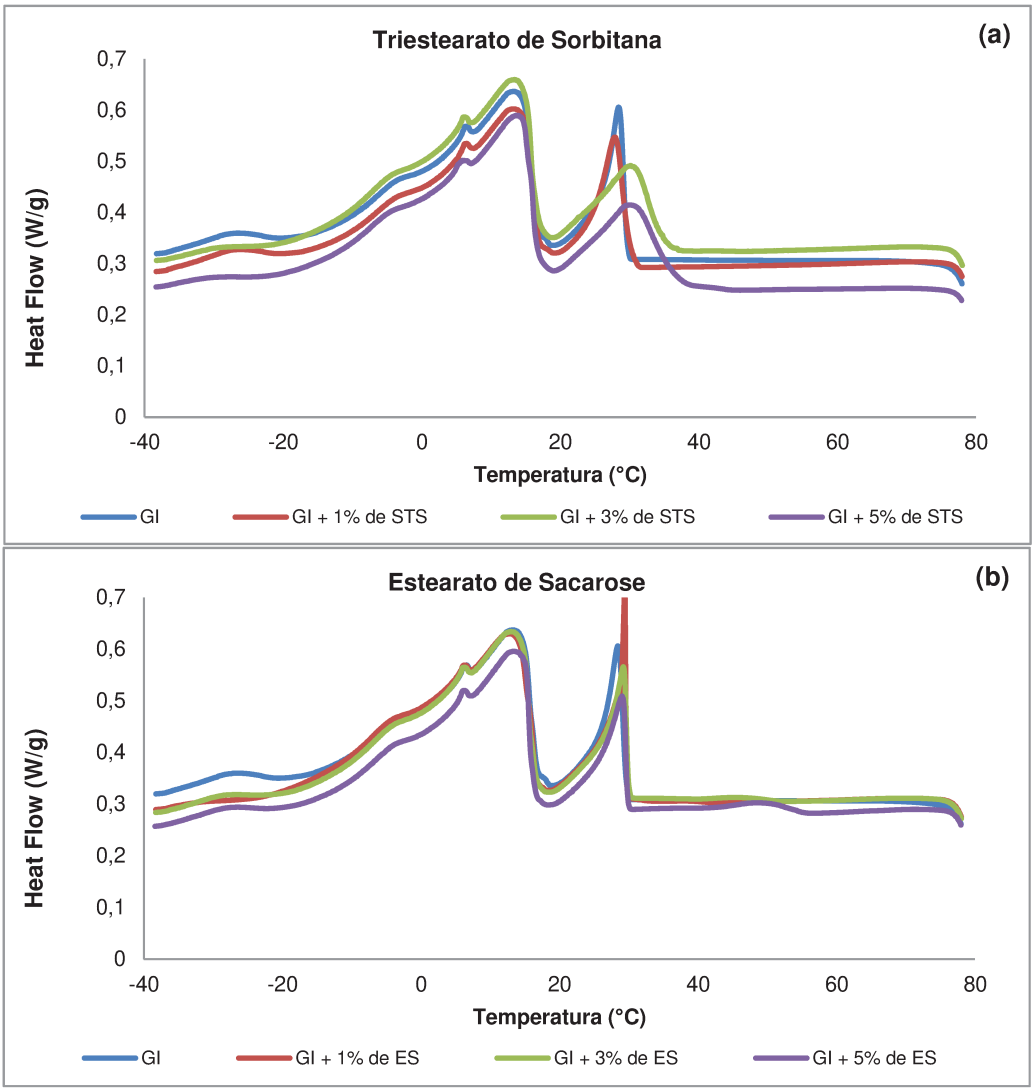


Figura 7. Fenômenos térmicos de cristalização das amostras de gordura interesterificada base soja com e sem emulsificantes (a) triestearato de sorbitna e (b) estearato de sacarose.

*GI (gordura interesterificada sem emulsificante); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

Os resultados apresentados para a gordura adicionada de STS estão relacionados à maior compatibilidade deste emulsificante com a gordura interesterificada, como discutido anteriormente. A semelhança estrutural do STS com os TAGs deve-se ao fato de que os espaçamentos longos do STS são muito similares aos dos triacilgliceróis com o mesmo perfil de ácidos graxos, cristalizando em uma forma DCL semelhante aos triacilgliceróis (KROG e SPARSO, 2004), possibilitando uma co-cristalização das moléculas de STS com os TAGs (KROG e LARSSON, 1992; SMITH

2011). Opondo-se a este efeito, os resultados do fenômeno térmico de cristalização para as amostras adicionadas de ES, refletiram sua miscibilidade limitada na fase gordurosa. Alguns estudos indicam o potencial inibitório da nucleação pela adição de ES (MARTINI, CERDEIRA e HERRERA, 2004; CHALEEPA, SZEPES e ULRICH, 2010), o que pode ser confirmado pelos resultados de temperatura *onset* e entalpia de cristalização. De igual maneira, podem retardar a transição polimórfica β'→β (HERRERA e ROCHA, 1996), contudo, neste estudo, o ES adicionado retardou a estabilização do polimorfo β', considerado o mais estável para esta base gordurosa.

Corroborando os resultados de cristalização, os eventos de fusão das amostras também apresentaram alterações segundo o tipo de emulsificante adicionado. As concentrações de STS atrasaram o primeiro evento de fusão da amostra, enquanto a adição de ES acelerou o inicio da fusão. Este resultado indica que houve extensão do 1º pico de fusão das amostras adicionadas de ES, sugerindo a fusão de polimorfos menos estáveis. Apesar disso, tanto a adição de STS quanto de ES proporcionaram redução na entalpia de fusão em comparação com a gordura sem emulsificante (Tabela 6). A presença do pico exotérmico no evento de fusão está relacionada à recristalização da amostra (RIBEIRO *et al.*, 2009), indicando uma transição polimórfica (BRAIPSON-DANTHINE E GIBON, 2007). Como observado na Figura 3a, a incorporação de STS em todas as concentrações, diminui a presença do pico exotérmico no evento de fusão. Este fato indicou que a compatibilidade do STS com a gordura interesterificada levou à formação de uma fase fortemente metaestável em β', acelerando a estabilização da fase estável também em β', sem a necessidade de têmpera (SMITH, 2001), o que pode explicar a maior estabilidade térmica das amostras adicionadas de STS. No entanto, em sistemas lipídicos que contêm ésteres de sacarose, a presença de uma estrutua amorfa e o efeito de recristalização parcial devem ser considerados (SZUTS *et al.*, 2007). O efeito de recristalização foi observado nos eventos de fusão das amostras adicionadas de ES, não havendo redução expressiva da presença do pico exotérmico e com maiores entalpias de fusão em comparação a adição de STS (Figura 8b). Estas alterações no evento de fusão podem estar relacionadas à formação de cristais mais densos, que se reorganizaram em uma forma com ponto de fusão mais elevado durante a análise térmica (RIME RUNT, 1983; CHALEEPA *et al.*, 2010). Este é o

comportamento de fusão típico da presença do polimorfo β, pois o mesmo apresenta maior entalpia e maior ponto de fusão (HARTEL e KAYLEGIAN, 2001).

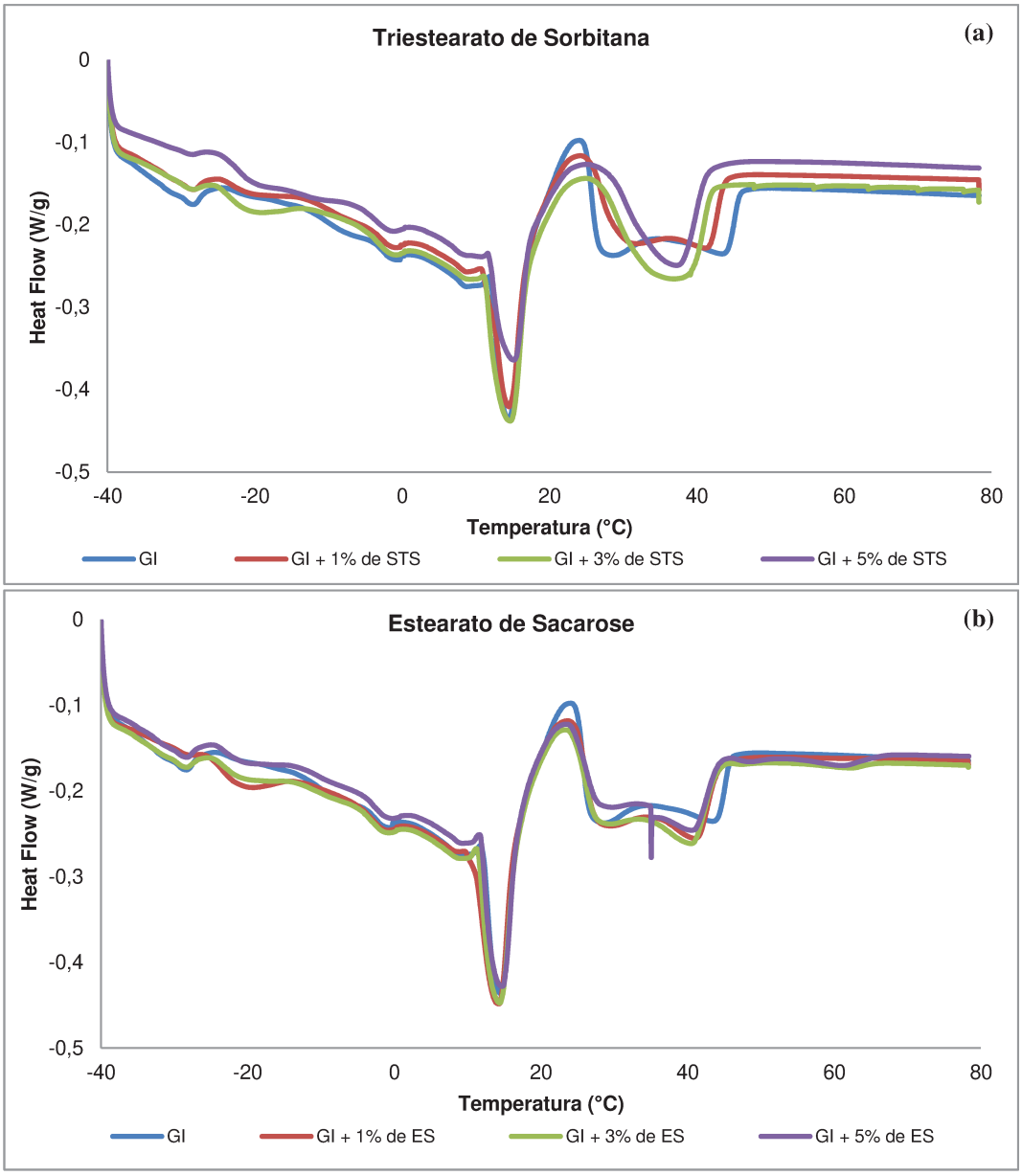


Figura 8. Fenômenos térmicos de fusão das amostras de gordura interesterificada base soja com e sem emulsificantes (a) triestearato de sorbitana e (b) estearato de sacarose.

*GI (gordura interesterificada sem emulsificante); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose).

Foi possível visualizar uma transição de fases no segundo evento de fusão das amostras sem emulsificante, com 1% de STS e para todas as concentrações de ES (Figura 8), provavelmente devido à fusão simultânea de diferentes polimorfos. A adição de 3% e 5% de STS à gordura reduziu a largura e aumentou a intensidade do 2º pico de fusão, com consequente redução de entalpia. Desta forma, o segundo pico de fusão destas amostras parece estar relacionado com a presença da forma polimórfica mais estável para a gordura interesterificada (β'). Assim, considerou-se que para estas condições isotérmicas, a adição de STS acelerou a estabilização térmica da gordura interesterificada em comparação com as amostras sem emulsificante e adicionadas de ES.

3.9 Efeito da adição dos emulsificantes sobre o comportamento polimórfico da gordura

As moléculas de triacilgliceróis (TAG) têm a capacidade de empacotar em diferentes conformações geométricas durante a cristalização. Os diferentes polimorfos formados apresentam diferentes estruturas cristalinas com uma composição química idêntica, mas com diferentes propriedades físicas (isto é, densidade, estabilidade, e ponto de fusão) (SATO, 2001). Essa característica dos óleos e gorduras é de especial importância ao considerar os processos industriais. Isto porque, em geral, é necessária apenas uma fase e um polimorfo estável devido suas propriedades tecnológicas e, portanto, as condições de cristalização devem ser controladas para se obter a estrutura esperada (AQUILANO e SGUALDINO, 2001).

Contribuindo com os resultados de cinética de cristalização e comportamento de fusão e cristalização por DSC, o polimorfismo das amostras pode ser visualizado nos difratogramas apresentados nas Figuras 9 e 10. As Tabelas 7 e 8 mostram os detalhes das alterações polimórficas produzidas pela adição de STS e ES à gordura interesterificada. Observou-se uma mistura de cristais, com picos indicativos das formas β' e β para a gordura interesterificada. Com a adição de STS, os picos característicos da forma β desapareceram. As amostras adicionadas de 3% e 5% de STS produziram uma linha de difração de intensidade intermediária variável de aproximadamente 4,2 Å e 3,8 Å, caracterizando a presença do polimorfo β'. A estabilização da forma β' nas

gorduras adicionadas de STS pode ser explicada pelo fenômeno "*The Button Syndrome*" anteriormente reportado por Aronhirne, Sarig e Garti (1988), onde os ésteres de sorbitana atuam como controladores dinâmicos das transições polimórficas pela capacidade de criarem ligações de hidrogênio com as moléculas de triacilgliceróis. O aumento das ligações de hidrogênio pode ser comprovado pelo aumento na entalpia de cristalização das amostras como visto anteriormente, o que corresponde a maior força dessas interações. Lam e Rogers (2011) observaram valores elevados de entalpia de cristalização devido à força da ligação de hidrogênio adicional para o ácido 12-hidroxiesteárico.

Tabela 7. Formas polimórficas e *short spacings* da amostra de gordura interesterificada e adicionada de triestearato de sorbitana.

Triestearato de Sorbitana					
Teor de emulsificante	**Short spacings (Å)**				**Forma Polimórfica**
	4.6	**4.2**	**3.9**	**3.7**	
GI	4.61 (w)	4.17 (vs)	3.92 (vw)	3.72 (m)	β'+β
1%	4.59 (vw)	4.17 (vs)		3.72 (m)	β'>β
3%		4.17 (vs)		3.72 (m)	β'
5%		4.17 (vs)		3.72 (m)	β'

*Intensidade: (w) fraco; (vw) muito fraco; (m) médio; (vs) muito forte
*GI (gordura interesterificada sem emulsificante)

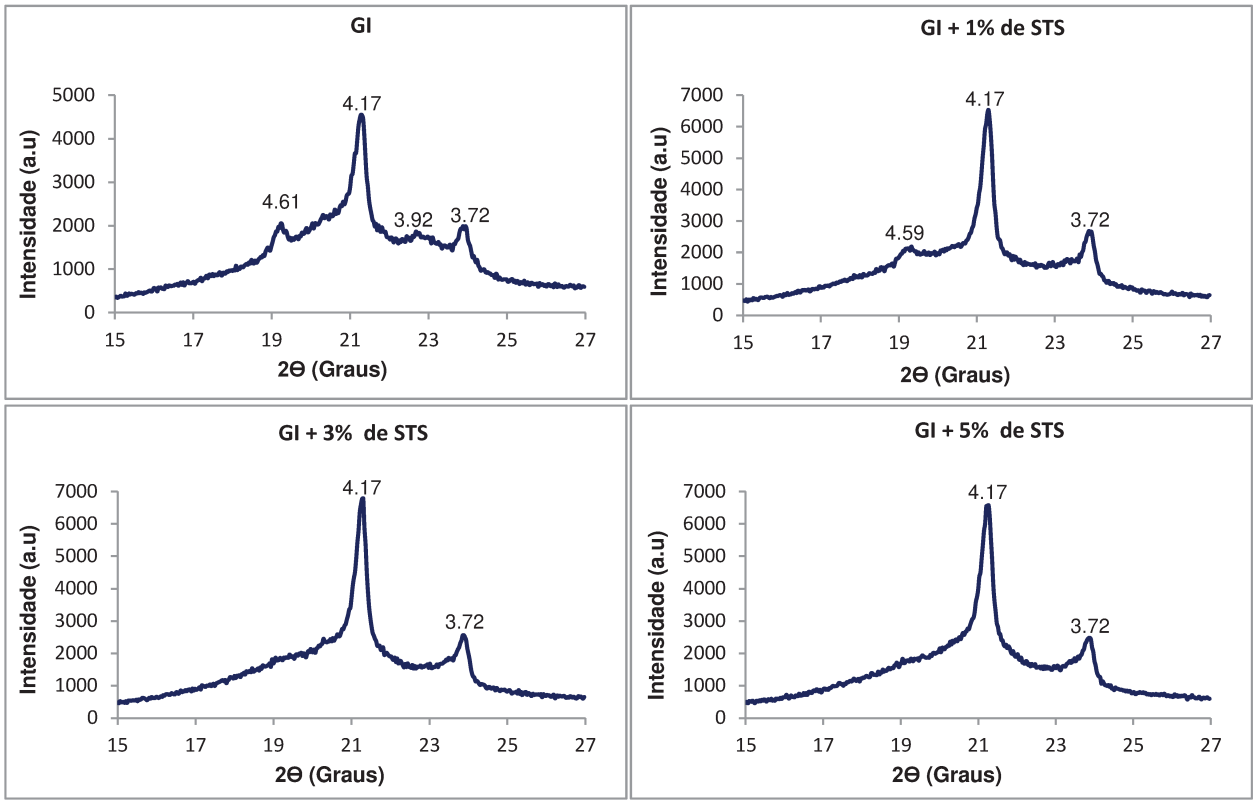


Figura 9. Espectros da difração de raios-X da gordura interesterificada sem emulsificante e adicionada de triestearato de sorbitna.
*GI (gordura interesterificada sem emulsificante), STS (triestearato de sorbitana)

Por outro lado, a adição de ES prolongou a estabilização do polimorfo β', mantendo as mesmas características polimórficas da gordura interesterificada. Na Figura 10 e Tabela 8, verifica-se que ocorreu um processo de cristalização simultânea das formas polimórficas β e β' para as amostras adicionadas de ES. Este efeito pode ser explicado pela presença da molécula de sacarose, uma vez que a mesma tem liberdade conformacional considerável e muitos sítios de ligação de hidrogênio, os quais sugerem a possibilidade ou a tendência para a existência de múltiplas formas cristalinas (PATYK *et al.*, 2012). Esta característica da molécula de sacarose pode tornar complicada a interação dos triacilgliceróis da gordura com a superfície do ES.

Tabela 8. Formas polimórficas e *short spacings* da amostra de gordura interesterificada e adicionada de estearato de sacarose.

Estearato de Sacarose						
Teor de emulsificante	**Short spacings (Å)**					**Forma Polimórfica**
	4.6	**4.2**	**3.9**	**3.8**	**3.7**	
GI	4.61 (w)	4.17 (vs)	3.92 (vw)		3.72 (m)	β'+β
1%	4.60 (w)	4.17 (vs)	3.90 (vw)		3.72 (m)	β'+β
3%	4.62 (w)	4.17 (vs)		3.83 (vw)	3.73 (m)	β'+β
5%	4.62 (vw)	4.18 (vs)		3.84 (vw)	3.73 (m)	β'+β

*Intensidade: (w) fraco; (vw) muito fraco; (m) médio; (vs) muito forte
*GI (gordura interesterificada sem emulsificante)

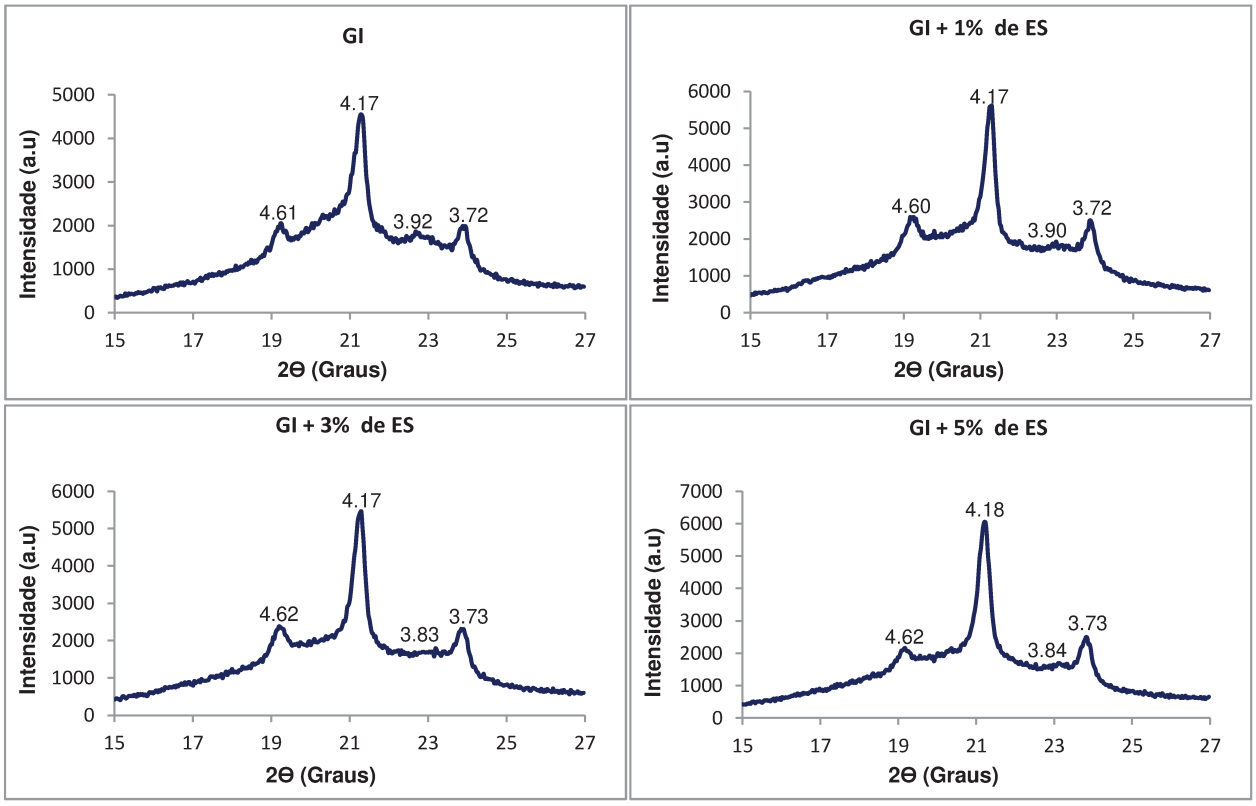


Figura 10. Espectros da difração de raios-X da gordura interesterificada sem emulsificante e adicionada de estearato de sacarose.
*GI (gordura interesterificada sem emulsificante), ES (estearato de sacarose)

4. Conclusões

A gordura interesterificada base soja apresentou a formação de TAGs assimétricos, que favoreceram o processo indesejável de recristalização, necessitando de um maior tempo de têmpera e estabilização para adequação da formação de sólidos. A atuação dos emulsificantes como modificadores da fase líquida da gordura interesterificada base soja foi muito mais influenciada pela região hidrofílica dos mesmos. A adição de STS e ES conduziu a mudanças na fase líquída da gordura, onde todas as propriedades avaliadas apresentaram efeitos favoráveis da adição de STS como resultado de sua maior solubilidade na fase líquida, por outro lado, a adição de ES promoveu desordem no sistema, principalmente devido a sua miscibilidade limitada na fase líquida.

A adição de STS em todas as concentrações estudadas conferiu à gordura: maior formação de sólidos, maior velocidade de estabilização; redução do ponto de fusão, maior consistência, formação de cristais mais homogêneos, distribuição mais organizada dos elementos cristalinos, estrutura de superfície compacta, redução do tempo de indução, maior velocidade de cristalização, nucleação heterogênea e estabilização do polimorfo β'.

A adição de ES proporcionou à gordura: maior formação de sólidos, especialmente nas concentrações de 3% e 5%, aumento do ponto de fusão, maior consistência, maior diâmetro de cristal e menor dimensão fractal com a adição de 3% de ES, estrutura de superfície suave, redução do período de indução, atraso na cristalização com a adição de 1% de ES, mecanismo de nucleação a partir da agregação de núcleos e menor estabilidade polimórfica.

Para finalizar, destaca-se que as propriedades de cristalização das gorduras foram dependentes da interação de fatores internos e externos, ou seja, os resultados estão condicionados aos métodos utilizados. Uma vez que o conhecimento sobre a cristalização de lipídios, particularmente na presença de aditivos, ainda não é satisfatória, é compreensível que seja difícil definir os complexos mecanismos de ação dos emulsificantes durante o crescimento cristalino.

5. Referencias Bibliográficas

AGUILERA, J.M.; STANLEY, D.W.; BAKER, K.W. New dimensions in microstructure of food products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 1, p. 3-9, 2000.

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

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

AQUILANO, D.; SGUALDINO, G. In **Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems.** Ed. GARTI, N.; SATO, K. Marcel Dekker, New York, 2001.

ARONHIME, J.S.; SARIG, S.; GARTI, N. Dynamic control of polymorphic transformation in triglycerides by surfactants: the Button Syndrome. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.65, 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 B: Biointerfaces**, v. 25, n. 1, p. 45-53, 2002.

BOISTELLE, R. Fundamentals of nucleation and crystal growth. In: **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. Ed. GARTI, N.; SATO, K. Marcel Dekker, New York, p.189-226, 1988.

CAMPOS, R. Experimental Methodology. In: **Fat Crystal Networks**. Ed. MARANGONI, A.J. Marcel Dekker, New York, p.267-349, 2005.

CHALEEPA, K.; SZEPES, A.; ULRICH, J. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. **Chemistry and physics of lipids**, v. 163, n. 4, p. 390-396, 2010.

CERDEIRA, M.; CANDAL, R. J.; HERRERA, M. L. Analytical techniques for nucleation studies in lipids: advantages and disadvantages. **Journal of food science**, v. 69, n. 9, p. R185-R191, 2004.

FAERGEMAND, M., KROG, N., GAONKAR, A. G., & MCPHERSON, A. Interactions of emulsifiers with other components in foods. In: **Ingredient interactions: effects on food quality**, (Ed. 2), 389-421, 2006.

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**. São Paulo, v.29, p. 646-653, 2006.

GARBOLINO, C.; BARTOCCINI, M.; FLÖTER, E.. The influence of emulsifiers on the crystallisation behaviour of a palm oil-based blend. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 9, p. 616-626, 2005.

GARTI, N. Food Emulsifiers: Structure-Reactivity. Relationships, Design, and Applications In: **Physical Properties of Lipids**. Ed. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. C.C. CRC Press, Boca Raton, p.265-386, 2002.

GOH, E. M.; KER, T. H. Relationship between slip melting point and pulsed NMR data of palm kernel oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 68, n. 3, p. 144-146, 1991.

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

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

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.

HARTMAN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. London, v.22, p.475-476, 1973.

HERRERA, M.L.; GATTI, M.L.; HARTEL, R.W. A kinetic analysis of crystallization of a milk fat model system. **Food Research International**, v.32, n. 4, p.289 -298, 1999.

HERRERA, M. L.; ROCHA, FJ Marquez. Effects of sucrose ester on the kinetics of polymorphic transition in hydrogenated sunflower oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 3, p. 321-326, 1996.

HIMAWAN, C., MACNAUGHTAN, W., FARHAT, I. A., & STAPLEY, A. G. Polymorphic occurrence and crystallization rates of tristearin/tripalmitin mixtures under non-isothermal conditions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 1, p. 49-60, 2007.

HUNTER, J.E.. Studies on effects of dietary fatty acids as related to their position on triglycerides. **Lipids**, v. 36, n. 7, p. 655-668, 2001.

KALNIN, D.; SCHAFER, O.; AMENITSCH, H.; OLLIVON, M. 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.

KATSURAGI, T.; KANEKO, N.; SATO, K. Effects of addition of hydrophobic sucrose fatty acid oligoesters on crystallization rates of< i> n</i>-hexadecane in oil-in-water emulsions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 20, n. 3, p. 229-237, 2001.

KROG, N.J.; SPARSO, F.V. Food emulsifiers and their chemical and physical properties. In: **Food emulsions**, p. 127-180, 2004.

KROG, N.; LARSSON, K. Crystallization at interfaces in food emulsions–A general phenomenon. **Lipid/Fett**, v. 94, n. 2, p. 55-57, 1992.

KROG N, LARSSON K (1992) Crystallization at interfaces in food Emulsions: a general phenomenon. **Fat Sci Technol** 94:55–57

LIDEFELT J. Handbook vegetable oils and fats, 2nd AAK Press, Sweden, 2007.

LIU, Y., MENG, Z., ZHANG, F., SHAN, L., & WANG, X. Influence of lipid composition, crystallization behavior and microstructure on hardness of palm oil-based margarines. **European Food Research and Technology**, v. 230, n. 5, p. 759-767, 2010.

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

MARANGONI, Alejandro G.; WESDORP, Leendert H. **Structure and Properties of Fat Crystal Networks**. CRC PressI Llc, 2012.

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

MARTINI, S.; CERDEIRA, M.; HERRERA, M. L. Effect of sucrose esters on the crystallization behavior of bulk oil systems. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, n. 2, p. 209-211, 2004.

METIN, Serpil; HARTEL, Richard W. Crystallization of fats and oils. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**, 2005.

MISKANDAR, M. S., MAN, Y. C., RAHMAN, R. A., AINI, I., & YUSOFF, M. S. A. Effects of Emulsifiers on crystal behavior of palm oil blends on slow crystallization. **Journal of Food Lipids**, v. 14, n. 1, 1-18, 2007.

OSTWALD, W.Z. Studies on formation and transformation of solid materials**. Phys. Chem.**, 22: 289–330, 1897.

PATYK, E.; SKUMIEL, J.; PODSIADTO, M.; KATRUSIAK, A. High-Pressure (+)-Sucrose Polymorph. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 51, n. 9, p. 2146-2150, 2012.

REYES-HERNÁNDEZ, J., DIBILDOX-ALVARADO, E., CHARÓ-ALONSO, M.A., TORO-VAZQUEZ, J.F. Physicochemical and rheological properties of crystallized blends

containing trans-free and partially hydrogenated soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 84, n.12, 1081-1093, 2007.

RIBEIRO, A.P.B.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L. A.; GONÇALVES, L. A. Zero *trans* fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications. **Food Research International**, v.42, p.401-410, 2009.

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

ROUSSEAU, D.; HILL, A.R.; MARANGONI, A.G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 2. Microstructure and polymorphism. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 8, p. 973-981, 1996.

ROUSSEAU, D.; MARANGONI, A.G.; JEFFREY, K.R. The influence of chemical interesterification on the physicochemical properties of complex fat systems. 2. Morphology and polymorphism. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 12, p. 1833-1839, 1998.

MÁRQUEZ-RUIZ G, JORGE N, MARTÍN-POLVILLO M, DOBARGANES MC. Rapid, quantitative determination of polar compounds in fats and oils by solid-phase extraction and size-exclusion chromatography using monostearin an internal standard. J Chromatogr A, v. 749, p. 55-60, 1996.

SABERI, A.H.; LAI, O.; TORO-VÁZQUEZ, J.F. Crystallization kinetics of palm oil in blends with palm-based diacylglycerol. **Food Research International**, v. 44, n. 1, p. 425-435, 2011.

SATO, K; SATORU, U. Crystallization, transformation and microstructures of polymorphic fats in colloidal dispersion states. **Current Opinion in Colloid & Interface Science,** v. 16, n. 5, p. 384–390, 2011.

SCHENK, H.; PESCHAR, R. Understanding the structure of chocolate. **Radiation physics and chemistry**, v. 71, n. 3, p. 829-835, 2004.

SCHWARTZ, A.M.; MYERSON, A.S. Solutions and solution properties. In: **Handbook of industrial crystallization**, MYERSON, A.S. (Ed.), Butterworth-Heinemann, 2002.

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.

SILVA, R.C.; ESCOBEDO, J.P.; GIOIELLI, L.A. Comportamento de cristalização de lipídios estruturados por interesterificação química de banha e óleo de soja. **Química Nova**, v.31, n.2, p. 330-335, 2008.

SMITH, K.W.; BHAGGAN, K.; KEES, G.T.; MALSSEN, F.V. Crystallization of Fats: Influence of Minor Components and Additives. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 88, n. 8, p. 1085-1101, 2011.

TANG, D.; MARANGONI, A.G. Quantitative study on the microstructure of colloidal fat crystal networks and fractal dimensions. **Advances in colloid and interface science**, v. 128, p. 257-265, 2006.

VEREECKEN, J.; FOUBERT, I.; SMITH, K.W.; SASSANO, G.J.; DEWETTINCK, K. Crystallization of model fat blends containing symmetric and asymmetric monounsaturated triacylglycerols **European Journal of Lipid Science and Technology** , v. 112, n. 2, p. 233–245, 2010.

VEREECKEN, J., FOUBERT, I., SMITH, K. W., & DEWETTINCK, K. Effect of SatSatSat and SatOSat on crystallization of model fat blends**. European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 111, n. 3, p. 243-258, 2009.

VLAHOV, Giovanna. Use of 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy to study the triglyceride fraction of vegetable oils. **Recent research developments in oil chemistry**, p. 189-202, 1998.

VLAHOV, Giovanna. 13 C nuclear magnetic resonance spectroscopy to check 1, 3-random, 2-random pattern of fatty acid distribution in olive oil triacylglycerols. **Spectroscopy: An International Journal**, v. 19, n. 2, p. 109-117, 2005.

WALSTRA, PIETER; KLOEK, WILLIAM; VAN VLIET, TON. FAT CRYSTAL NETWORKS. **Crystallization processes in fats and lipid systems**, P. 289-321, 2001.

WANG, T. Soybean oil. In: **Vegetable Oils in Food Technology: Composition, Properties and Uses**. Frank Gunstone (Ed.), Willey Blackwell, 2011.

WANG, F., LIU, Y., JIN, Q., HUANG, J., MENG, Z., & WANG, X. Kinetic analysis of isothermal crystallization in hydrogenated palm kernel stearin with emulsifier mixtures. **Food Research International**, v. 44, n. 9, p. 3021-3025, 2011.

WASSEL, P.; OKAMURA, A.; YOUNG, N.W.G.; BONWICK, G.; SMITH, C.; SATO, K.; UENO, S. Synchrotron Radiation Macrobeam and Microbeam X-ray Diffraction Studies of Interfacial Crystallization of Fats in Water-in-Oil Emulsions. **Langmuir**, v. 28, n. 13, p. 5539-5547, 2012.

WEYLAND, Mark; HARTEL, Richard W. Emulsifiers in confectionery. In: **Food emulsifiers and their applications**. Springer New York, 2008. p. 285-305.

WRIGHT, A.J.; HARTEL, R.W.; NARINE, S.S.; MARANGONI, A. G. The effect of minor components on milk fat crystallization. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 5, 463-475, 2000.

WRIGHT, A.J., SCANLON, M.G., HARTEL, R.W., & MARANGONI, A.G. Rheological properties of milkfat and butter. **Journal of food science**, v. 66, n. 8, p. 1056-1071, 2001.

YAP, P.H; DE MAN, J.M.; DE MAN, L. Polymorphism of palm oil and palm oil products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 66, n. 5, p. 693-697, 1989.

ZHOU, Y.; HARTEL, R.W. Phase behavior of model lipid systems: Solubility of high-melting fats in low-melting fats. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 83, n. 6, p. 505-511, 2006.

Capítulo 4

Efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado

Maria Aliciane Fontenele Domingues, Lireny Aparecida Guraraldo Gonçalves

(Será submetido para a revista Food & Function)

Efeito da adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose sobre as propriedades físicas do óleo de palma refinado

Resumo

O óleo de palma apresenta comportamento de cristalização característico muito lento, afetando o desempenho de processos e aplicações industriais, assim como o rendimento e a funcionalidade dos produtos finais nos quais é empregado. Neste sentido, estudos têm mostrado que vários emulsificantes para uso em alimentos funcionam como modificadores da estrutura cristalina. Entre eles, os ésteres de sorbitana e sacarose são considerados controladores/modificadores potenciais do processo de cristalização. Neste estudo, o teor de sólidos, ponto de fusão, a microestrutura, a cinética de cristalização isotérmica, o comportamento térmico e polimórfico, foram utilizados para observar alterações no processo de cristalização do óleo de palma adicionado de triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES), nas concentrações de 1%, 3% e 5% (m/m), a fim de se obter informações sobre o efeito da adição destes emulsificantes sobre as propriedades físicas do óleo de palma. Observou-se que o uso dos emulsificantes influenciou o processo de cristalização do óleo de palma. A adição de STS e ES resultou em maior consistência, associada à mudança na microestrutura. Com exceção da concentração de 1% de ES, ambos os emulsificantes aceleraram a cristalização do óleo de palma, contudo, a adição de ES resultou em nucleação esporádica, enquanto foi verificada nucleação instantânea para a adição de STS. Apesar das mudanças positivas nas propriedades físicas do óleo de palma adicionado de emulsificantes, observou-se que apenas a concentração de 5% de STS foi efetiva para estabilização da forma polimórfica β' de interesse.

Abstract

Palm oil shows very slow crystallization behavior, affecting the performance of processes and industrial applications, as well as the yield and functionality of final products in which it is employed. In this context, several studies have shown that emulsifiers for food applications act as modifiers of the crystal structure. Among them, both sorbitan and sucrose esters are considered potential controllers/modifiers of the

crystallization process. In this study, solids content, melting point, microstructure, isothermal crystallization kinetics, thermal and polymorphic behavior, were all used to observe the alterations in the crystallization process of the palm oil added of sorbitan tristearate (STS) and sucrose stearate (ES) at concentrations of 1%, 3% and 5% (w / w) in order to obtain information about the effect of the addition of these emulsifiers on the physical properties of the palm oil. It was observed that the use of emulsifiers influenced the crystallization process of the palm oil. Furthermore, the addition of both ES and STS resulted in a higher consistency, associated to the alterations in the microstructure. Except for the addition of ES at the concentration of 1%, both emulsifiers accelerated the crystallization of the palm oil. However, the addition of ES resulted in a sporadic nucleation, whereas an instantaneous nucleation was observed for the addition of STS. Despite the positive changes in the physical properties of the emulsifiers-added palm oil, it was observed that only the addition of STS at the concentration of 5% was effective for stabilizing the polymorphic form β' of interest.

1. Introdução

Com o aumento das questões de saúde sobre os ácidos graxos *trans*, a substituição de gorduras parcialmente hidrogenadas por óleo de palma e suas frações tem atraído cada vez mais atenção (ZHANG *et al.*, 2013). Antes de sua utilização em alimentos, o óleo de palma é frequentemente modificado para melhorar ou aumentar sua aplicabilidade como um óleo comestível. Sua aplicação limitada deve-se à sua composição química, caracterizada por triacilgliceróis (TAGs) com alto e baixo ponto de fusão, resultando em uma ampla faixa de fusão (KELLENS *et al.*, 2007), que causa a separação do óleo em duas fases (oleína e estearina). O fracionamento a seco é o principal processo utilizado para modificação do óleo de palma e consiste na separação física dos TAGs, através da cristalização seletiva e filtração.

O comportamento de cristalização do óleo de palma é extremamente importante sob o ponto de vista comercial, pois este apresenta hábito cristalino β', fato que, aliado às suas características de plasticidade, estabilidade térmica e oxidativa, garante sua aplicação em margarinas, *spreads*, gorduras para panificação, confeitaria e *shortenings* de uso geral. As propriedades funcionais do óleo de palma e suas frações mostram-se

fortemente relacionadas à sua composição e ao teor e polimorfismo dos cristais formados na temperatura de aplicação. Entretanto, os cristais do óleo de palma necessitam de longo tempo para a transição polimórfica $\alpha \rightarrow \beta'$, fator considerado inadequado sob o ponto de vista industrial. A resistência para a transformação em β' é principalmente atribuída aos diacilgliceróis (DAGs). Estudos recentes sobre as interações entre os TAGs e DAGs do óleo de palma durante a cristalização mostram que os últimos apresentam efeito deletério sobre as características de cristalização, de intensidade proporcional à concentração destes lipídios minoritários no óleo de palma ou suas frações (CHE MAN *et al.*, 2003; CHONG *et al.*, 2007). Em adição, durante o armazenamento de produtos a base de óleo de palma, há um aumento no teor de gordura sólida, o que pode levar a pós-têmpera, que provoca ligações cristalinas primárias, resultando em um produto duro (AINI E MISKANDAR, 2007).

Os emulsificantes podem ser usados como uma alternativa para melhorar as propriedades físicas dos óleos e gorduras. Estes componentes são aditivos funcionais e imprescindíveis para obtenção de muitos produtos alimentícios manufaturados. Normalmente, os emulsificantes agem em sistemas multifásicos de duas maneiras. A primeira função refere-se à emulsificação, permitindo que duas fases distintas (hidrofóbica e hidrofílica) se combinem em um estado quase homogêneo e estável durante um período de tempo indefinido. A segunda função tem como propósito modificar o comportamento da fase contínua de um produto alimentar, de modo a provocar um efeito ou benefício específico, a exemplo do uso de lecitina no chocolate, para reduzir a viscosidade do produto e melhorar a facilidade de manuseio e processamento (WEYLAND, 1997; PUPPO *et al.*, 2002). Neste sentido, a fim de melhorar a aplicação industrial do óleo de palma, sem a necessidade de fracioná-lo, este estudo utilizou emulsificantes lipofílicos como o triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES), com o objetivo de modificar ou controlar o comportamento de cristalização da fase gordurosa contínua do óleo de palma refinado.

2. Material e métodos

2.1 Matérias-Primas

Utilizou-se óleo de palma refinado fornecido pela Agropalma. Os emulsificantes utilizados no estudo foram o triestearato de sorbitana (GRINDSTED STS 30-B-PÓ), HLB 2.1, com ponto de fusão de 52 °C, fornecido pela DuPont (Brasil) e o estearato de sacarose em pó (S-370), HLB 3, com ponto de fusão de 66 °C, fornecido pela Mitsubishi-Kagaku Foods (Japão). As proporções utilizadas para ambos os emulsificantes foram 1%, 3% e 5% (m/m).

2.1.1 Preparo das amostras

O óleo de palma foi aquecido até completa fusão. Em seguida foram preparadas amostras contendo 1%, 3% e 5% de triestearato de sorbitana (STS) e com 1%, 3% e 5% de estearato de sacarose (ES). As misturas de óleo de palma e emulsificantes foram homogeneizadas até completa fusão do emulsificante no meio oleoso.

2.2 Métodos

2.2.1 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi realizada pelo Método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009) em Cromatógrafo em fase gasosa CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, com injetor automático e detector de ionização em chama (FID). O preparo dos ésteres metílicos foi realizado pelo método de Hartman e Lago (1973), e a separação utilizando coluna capilar de sílica fundida DB-23 AGILENT (50% cianopropil-metilpolisiloxano, 60m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). As condições de análise foram: temperatura do forno: 110°C/5min, 110°C-215°C (5°C/min), 215°C/24min; temperatura do detector: 280 °C; temperatura do injetor: 250 °C; gás de arraste: hélio, razão split 1:50; volume de injeção: 1 µL. A composição qualitativa foi determinada comparando os tempos de retenção de cada

pico, com os respectivos padrões de ácidos graxos. O índice de iodo foi calculado a partir da composição em ácidos graxos pelo Método AOCS Cd 1c-85 (AOCS, 2009). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2 Composição Triacilglicerólica

A composição triacilglicerólica foi realizada pelo Método AOCS Ce 5-86 (AOCS, 2009), utilizando cromatógrafo gasoso CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, coluna capilar cromatográfica DB-17 HT AGILENT (50% fenil– metilpolissiloxano, 15m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,15 µm de espessura do filme). As condições cromatográficas foram: injeção split; razão 1:100; temperatura da coluna: 250 °C, programada até 350 °C numa razão de 5 °C/min; gás de arraste: hélio, numa vazão de 1mL/min; temperatura do injetor: 360°C; temperatura do detector: 375°C; volume de injeção: 1 µL; concentração da amostra: 100mg/5mL de tetrahidrofurano. Os grupos de triacilgliceróis foram identificados por comparação dos tempos de retenção, e utilizando os procedimentos descritos por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.3 Quantificação de lipídios minoritários

As amostras foram diluídas na proporção 10 mg em 1mL de tetrahidrofurano e analisadas (20 µL) em cromatógrafo líquido equipado com injetor Rheodyne 7725i e bomba Waters 510 (Waters Associates, Milford, Mass., USA), com duas colunas Ultrastyragel (100 Å e 500 Å) (Waters Associates, Milford, Mass., USA), 25 cm x 0,77 cm I.D., empacotadas com copolímero de estireno-divinilbenzeno (aproximadamente 10 mm), conectadas em série e com um detector de índice de refração (Hewlett Packard, Califórnia, EUA). Condições: fase móvel: tetrahidrofurano (grau HPLC); fluxo: 1 mL/min; volume injetado: 20,0 µL. As famílias de compostos foram identificadas por comparações dos tempos de eluição com padrões de: triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis (DAG) e monoacilgliceróis (MAG) e ácidos graxos livres (AG) (MARQUEZ-RUIZ, JORGE E DOBARGANES, 1996). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.4 Distribuição regioespecífica

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear, de alta resolução no carbono-13 (C13) de cadeias acila de TAG foi utilizado como um método quantitativo para a análise regioespecífica das amostras. As análises foram realizadas em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) (Silberstreifen, Rheinstetten, Alemanha), Bruker Advanced DPX 300. A determinação de C13 foi feita a 75,8 MHz com 5 mm de funcionamento da sonda nuclear múltipla, a 30 °C, de acordo com a metodologia descrita por Vlahov (VLAHOV, 1998; VLAHOV, 2005). Os resultados são fornecidos como composição de ácidos graxos saturados, oléico e linoléico nas posições *sn-2* e *sn-1,3* dos triacilgliceróis. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.5 Conteúdo de gordura sólida (SFC)

Foi determinado utilizando Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, acoplados a banhos secos com faixa de temperatura de 0 °C a 70 °C, Tcon 2000 (Duratech, EUA). Foi utilizado o Método AOCS Cd 16b- 93: método direto com leitura das amostras em série nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65°C com temperagem para gorduras não estabilizadas (AOCS, 2009). Os diagramas de compatibilidade foram construídos baseando-se nos dados de conteúdo de gordura sólida versus proporção de emulsificante em cada temperatura de análise. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.6 Ponto de fusão

Calculou-se o ponto de fusão para a temperatura correspondente ao teor de sólidos igual a 4% obtido da curva de sólidos por RMN (GOH E KER, 1991; KARABULUT *et al.*, 2004), através de equações polinomiais ajustadas com auxílio de *softwares* matemáticos.

2.2.7 Consistência

A consistência foi determinada utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT2i (Stable Micro Systems), controlado por microcomputador. As amostras foram totalmente fundidas para destruição do histórico cristalino. Em seguida foram condicionadas a 5°C por 24h e então estabilizadas na temperatura de análise por mais 24h. O condicionamento das amostras foi efetuado em estufa (BIOSYSTEMS) com controle de temperatura, sendo que a análise foi realizada nas seguintes temperaturas 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. Para a análise foi utilizado cone de acrílico com ponta não truncada e ângulo de 45°. As determinações foram realizadas nas seguintes condições: distância de 10mm; velocidade de 2mm/s; tempo de 5s; em triplicata para cada amostra (RODRIGUES, GIOIELLI, ANTON, 2003). A partir destas condições, obteve-se a força de compressão em gf. Os dados de penetração foram convertidos em *yield value* conforme (HAIGHTON, 1959)

$$C=\frac{KW}{p^{1,6}},$$

onde C é o *yield value* medido em gf/cm^2, K é o fator dependente do ângulo do cone (igual a 4700, para cone de 45°), W é a força de compressão medida em gf e p é a profundidade de penetração (igual a 10 mm).

2.2.8 Microestrutura

A microestrutura (morfologia e dimensões cristalinas) das amostras foi determinada por microscopia sob luz polarizada. As amostras foram fundidas à temperatura de 70 °C em estufa. Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida em temperatura controlada (semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), sendo coberta com uma lamínula. As lâminas foram preparadas em duplicata e cristalizadas a 20 °C em estufa por 2h. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus) acoplado a câmara de vídeo digital (Media Cybernetics). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à mesma temperatura de cristalização. As imagens foram capturadas pelo software Image Pro-

Plus (Media Cybernetics) versão 7.01, utilizando luz polarizada e com ampliação de 40 vezes. Para cada lâmina foram focalizados três campos visuais, dos quais apenas um foi escolhido para representar os cristais observados (GAMBOA, GIOIELLI, 2006). Os parâmetros de avaliação selecionados para a análise quantitativa das imagens no software Image Pro-Plus foram o diâmetro médio dos cristais e proporção de área cristalizada. Foi utilizado o *software Benoit* 1.3 (*TruSoft* International Inc.) para determinação da dimensão fractal das amostras, pelo método da contagem de caixas.

2.2.9 Visualização da rede tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram fundidas e colocadas em cápsulas plásticas com capacidade de 15 mL, com tampa hermética. Em seguida foram temperadas por 48h, sendo estabilizadas por 24h a 5 °C, seguindo por mais 24h a 25 °C. Devido a plasticidade das amostras, as cápsulas contendo as amostras foram submersas individualmente em nitrogênio líquido no momento da análise, para ocasionar a fratura das amostras. Em seguida, as amostras foram imediatamente analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM-3000), com magnificação de 1000x e voltagem de 15 kV.

2.2.10 Cinética de cristalização

As amostras foram fundidas e mantidas em banho seco Tcon 2000 (Duratech, EUA) na temperatura de 70 °C para completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado na temperatura de 20 °C. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada minuto, durante 90 minutos. A caracterização da cinética de cristalização foi realizada segundo o período de indução (t_{SFC}), teor máximo de sólidos (SFC_{max}) e tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami não linearizada, empregada para o estudo da cristalização é dada por (MARANGONI, 1998)

$$SFC=SFC_{max}\ (1- e^{-kt^n}),$$

onde SFC_{max} é o conteúdo limite de gordura sólida, k é a constante de Avrami (min^{-n}), que considera tanto a nucleação quanto o crescimento do cristal e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais. O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$ expressa a magnitude dos valores de k e n de acordo com

$$t_{1/2}= \left(\frac{0,693}{k}\right)^{1/n}.$$

2.2.11 Comportamento térmico

A análise térmica das amostras foi realizada por calorimetira diferencial de varredura (DSC) em um calorímetro (modelo Q2000 – TA *Instruments*), utilizando o índio (TA *Instruments*) como padrão para calibração.

Adicionou-se entre 4 mg a 10 mg de amostra em panelas herméticas de alumíno. A análise foi realizada de acordo com o método AOCS Cj 1-94 (AOCS 2009). As condições de análise foram:

- Evento de cristalização: 1) Equilibrio a 80 °C (10 min); 2) Rampa de resfriamento 10 °C/min até -60 °C,
- Evento de fusão: 1) Equilibrio a -40 °C (30 min); 2) Rampa de aquecimento 5 °C/min até 80 °C.

Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação dos resultados: temperatura *onset* de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c) e altura de pico de cristalização (Ap_c), seguindo os mesmos parâmetros para fusão, temperatura *onset* de fusão (T_f), entalpia de fusão (ΔH_f) e altura de pico de fusão (Ap_f). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.12 Polimorfismo e Difração de Raios-X

A forma polimórfica dos cristais de gordura das amostras foi determinada por difração de Raios-X, segundo o Método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2009). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-Bretano (Θ:2Θ) com radiação de Cu-Kα (λ = 1.54056Å, tensão de 40 KV e corrente de

30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,02° em 2Θ e tempo de aquisição de 2 segundos, com varreduras de 15 a 27° (escala 2Θ). As amostras foram fundidas em microondas a aproximadamente 80 °C e estabilizadas a 25 °C por 24 horas em estufa. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais. Os teores dos diferentes tipos de cristais foram estimados pela intensidade relativa dos *short spacings* (β' = 3.80Å e 4.20Å e β = 4.60Å) (AOCS, 2009; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

5.1.1 Análise estatística

As análises estatísticas para ponto de fusão, diâmetro de cristal e dimensão fractal foram baseadas na análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para determinar as diferenças significativas das médias em um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) utilizando Statistica 8.0 (Statsoft, EUA).

3. Resultados e Discussão

3.1. Composição química do óleo de palma

O óleo de palma refinado utilizado neste estudo apresentou composição característica, consistindo de aproximadamente 50% de ácidos graxos saturados e 50% de ácidos graxos insaturados. O ácido palmítico e oleico mostraram predominância na composição do óleo de palma, que foi caracterizado por índice de iodo de 53 e 6,21% de diacilgliceróis. Estes resultados são apresentados na Tabela 1 e encontram-se de acordo com os apresentados por Gunstone (2002) e por Braipson-Danthine e Gibon (2007).

Tabela 1. Composição química do óleo de palma refinado: ácidos graxos, diacilgliceróis, triacilgliceróis e índice de iodo.

Ácidos graxos	Composição (%m/m)	TAG	Composição (%m/m)
C6:0 - ácido capróico	0,02 ± 0,00	MPP	1,07 ± 0,00
C8:0 - ácido caprílico	0,12± 0,00	PPP	7,57 ± 0,34
C10:0 - ácido cáprico	0,12± 0,00	MOP	1,61 ± 0,09
C12:0 – ácido láurico	1,67± 0,00	PPS	1,64 ± 0,00
C14:0 – ácido mirístico	1,30± 0,00	POP	34,38± 0,33
C16:0 – ácido palmítico	40,51± 0,05	PLP	7,74 ± 0,15
C16:1 – ácido palmitoléico	0,13± 0,00	POS	6,08± 0,03
C17:0 – ácido margárico	1,69± 0,00	POO	26,03± 0,55
C18:0 – ácido esteárico	4,86± 0,00	POL	7,51 ± 0,67
C18:1- ácido oléico	41,26± 0,02	PLL	0,76± 0,18
C18:2 – ácido linoléico	8,72± 0,03	SOO	2,33 ± 0,09
C18:3 – ácido linolênico	0,11± 0,05	OOO	3,38 ± 0,23
C20:0 – ácido araquídico	0,38± 0,00	OOL	1,15 ± 0,23
Diacilgliceróis	6,21 ± 0,37	OLL	0,40 ± 0,00
		SSS	10,28
Ácidos graxos saturados	50,65	SUS	49,81
Ácidos graxos insaturados	50,21	SUU	36,63
Índice de iodo (IV)	53	UUU	4,93

*M (ácido misrístico); P (ácido palmítico); S (ácido esteárico); O (ácido oléico); L (ácido linoléico). *SSS (trissaturado); SUS (dissaturado); USU (monossaturado); UUU (tri-insaturado).

A composição triacilglicerólica foi representada por uma mistura de TAGs com baixo, médio e alto ponto de fusão. A fração de trissaturados (SSS), com alto ponto de fusão representou 10,80%, e foi composta principalmente pelos TAGs MPP, PPP e PPS, que são considerados como agentes de *seeding* ou indutores de cristalização no óleo de palma (SULAIMAN *et al.*, 1997). De acordo com Calliauw *et al.* (2010), o PPP é um excelente agente de *seeding* para o POP, contudo, existe uma miscibilidade limitada entre suas moléculas, que muitas vezes leva à formação de duas fases cristalinas distintas. A presença da alta concentração de PPP também pode provocar a formação de cristais densos com alto ponto de fusão (TANAKA, MIURA E YOSHIOKA, 2007), que geralmente são compostos por POP, POS ou SOS (JIN *et al.*, 2007). A fração com ponto de fusão intermediário representada pelos TAGs simétricos SUS totalizaram 50,18%, sendo composta por MOP, POP, PLP e POS. A confirmação da simetria deste grupo de TAGs foi realizada por análise de regioespecificidade e pode ser observada na Tabela 2, onde aproximadamente 72% dos ácidos graxos saturados se encontram na posição *sn1,3*. De acordo com Walstra (2003), moléculas simétricas são mais facilmente cristalizáveis que as assimétricas, como os TAGs do grupo SUU, representado principalmente pelo POO.

Tabela 2. Distribuição regioespecifica dos ácidos graxos saturados, oléico e linoléico no óleo de palma.

Posição	Ácidos graxos saturados	Ácido oléico	Ácido linoléico
sn 1,3	71,94 ± 0,06	25,13 ± 0,16	2,91 ± 0,15
sn 2	17,52 ± 0,28	66,99 ± 0,27	15,48 ± 0,06

Ainda em relação à composição triacilglicerólica do óleo de palma, sua maior proporção de TAGs simétricos, somado ao considerável teor de diacilgliceróis (6,21%), resulta em um processo de cristalização mais lento. Adicionalmente, sua estabilidade é comprometida devido ao crescimento indesejável no tamanho dos cristais (DOMINGUES *et al.*, 2012), que de acordo com Tanaka, Miura e Yoshioka (2007), é devido a miscibilidade limitada entre POP e POO, resultando na formação de grandes cristais de POP envolvidos por POO. Segundo Miura *et al.* (2002), a maior presença de POP nos cristais granulares no óleo de palma e maior presença de OOO e PLL no meio

líquido adjacente, indicam que este TAG seja o responsável pela aglomeração cristalina nos sistemas de emulsão a base de óleo de palma. Essa cristalização e aglomeração preferencial do POP na interface de emulsões (água/óleo) conduz a desestabilização do produto final. Apesar de estarem no mesmo grupo de dissaturados (SUS), os TAGs PLP e POS cristalizam de forma diferenciada do POP, o primeiro pela maior linearidade do ácido linoleico na posição *sn-2* e o segundo pelo maior ponto de fusão entre os TAGs SUS (CALLIAUW *et al*., 2007).

3.2 Efeito da adição dos emulsificantes sobre o perfil de sólidos do óleo de palma

A faixa de plasticidade das gorduras pode ser avaliada pelo conteúdo de gordura sólida (SFC), e normalmente, é necessário um intervalo amplo de plasticidade para *shortenings* destinado a aplicações diversas (MENG *et al*., 2010).

A Figura 1 apresenta o SFC do óleo de palma e de suas misturas com os emulsificantes STS e ES nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Na temperatura de 10°C, observa-se a presença de aproximadamente 50% de sólidos para o óleo de palma. A adição de 5% de STS provocou pequena diminuição do SFC nesta temperatura, enquanto que a adição de ES em todas as concentrações proporcionou pequeno aumento no teor de sólidos. Não houve diferença expressiva nos teores de sólidos com o uso dos dois emulsificantes nas três proporções utilizadas. O STS interferiu pouco nos resultados, enquanto que o ES, nas temperaturas acima de 30 °C ocasionou pequeno acréscimo de sólidos no óleo de palma.

O pequeno aumento no teor de sólidos na presença de STS verificado nas temperaturas de 25 °C e 30 °C indica que o STS foi eficaz para aumentar o crescimento de cristais no óleo de palma nestas temperaturas. Este resultado pode melhorar a facilidade para manipulação da gordura nestas temperaturas, possivelmente devido à estabilidade quanto à exsudação de óleo. O menor teor de sólidos a 35 °C e 40 °C garante a fusão acentuada da gordura na temperatura corporal, contribuindo para uma excelente característica de *mouthfeel*.

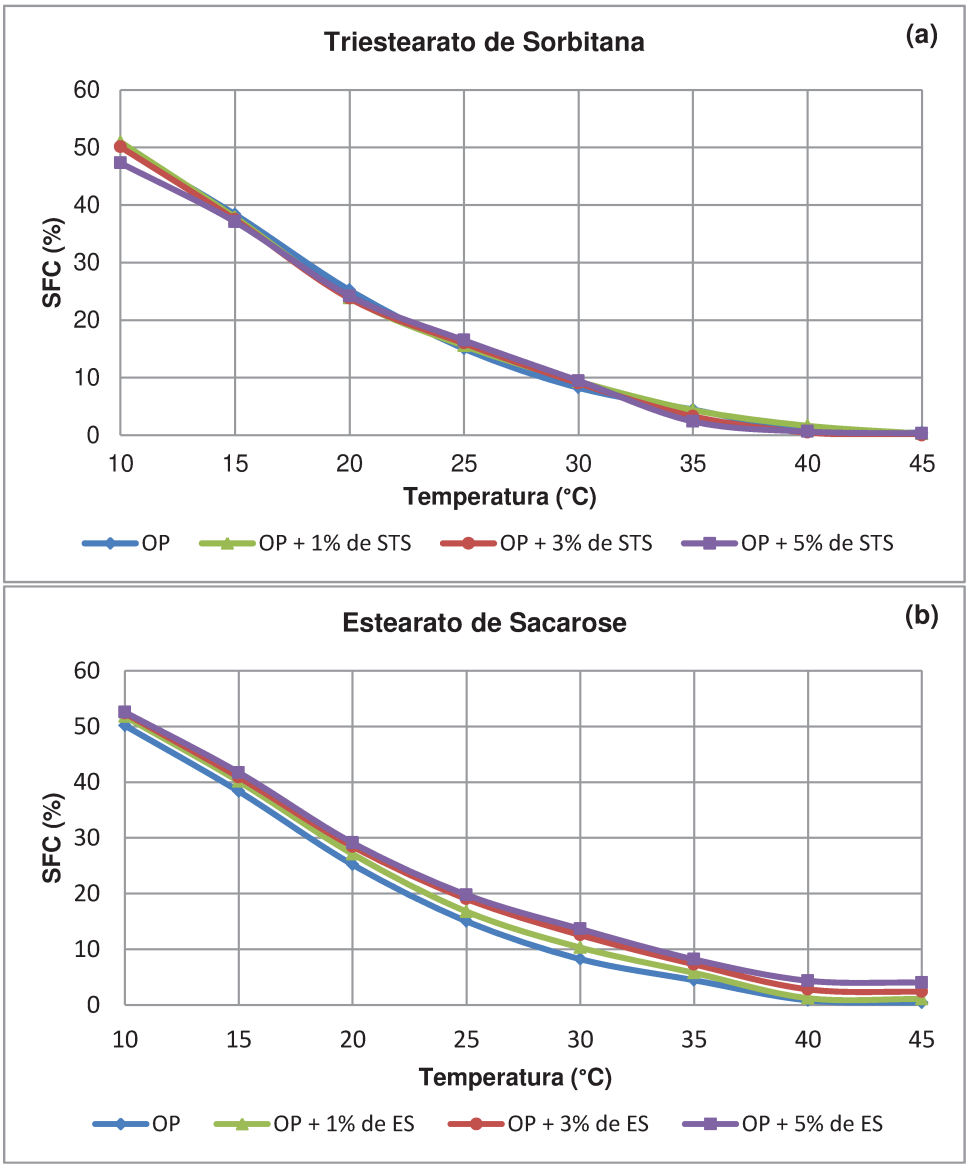


Figura 1. Perfil de sólidos do óleo de palma (OP) e sua mistura com (a) STS e (b) ES nas proporções de 1%, 3% e 5%.

Estes resultados estão de acordo com os encontrados por Garti (2002) que sugere que o aumento na concentração de emulsificantes hidrofóbicos como o STS, resulta no aumento do crescimento cristalino, devido à facilidade de encaixe das moléculas de STS com os TAGs. Miskandar *et al.* (2007), verificaram que a adição de STS na mistura de óleo de palma com oleína de palma na razão de 50:50, aumentou o SFC da mistura, mas para o óleo de palma puro não foi verificado aumento significativo no teor de sólidos. Martini e Herrera (2008) encontraram resultados similares, onde a adição de STS a um *shortening* base palma (80% de óleo de palma/com oleína)

proporcionou o aumento de SFC a 25 °C. Estudos mostram que o grupo acil do STS tem seletividade para interagir com os ácidos graxos dos TAGs. Miskandar *et al*. (2006) sugeriram que existe maior preferencia do STS em co-cristalizar com TAGs trissaturados como o MPP, PPP ou PPS, presentes no óleo de palma. Contudo, verifica-se também que uma pequena quantidade de TAGs triinsaturados na gordura seria favorável para a atividade do STS como promotor do crescimento cristalino, visto que em todos os estudos em que o STS influenciou positivamente o SFC, uma fase oleosa estava presente nas misturas. Por outro lado, a adição de ES apresentou melhores efeitos quanto ao teor de sólidos nas temperaturas mais baixas, especialmente devido à sua miscibilidade limitada com o óleo de palma, sendo caracterizado como uma impureza, que de acordo com Garti e Yano (2000), resulta em defeitos nos cristais de gordura. Estes defeitos poderiam promover ou retardar a cristalização, influenciando no SFC e na transformação polimórfica.

3.3 Diagramas de compatibilidade e ponto de fusão

O óleo de palma tem uma ampla faixa de fusão em comparação com outros óleos vegetais, e é esta propriedade que o torna matéria-prima ideal para o fracionamento. De acordo com Smith (2000), alguns dos TAG do óleo de palma têm pontos de fusão elevados, como PPP, que funde a 69 °C. Outros apresentam baixos pontos de fusão, como OOO (4 °C), e outros ainda fundem a temperaturas intermediárias (a exemplo, POP, a 38 °C). Desta forma, o óleo de palma é semi-sólido à temperatura ambiente e tem faixa de fusão entre 35 °C e 45 °C.

O óleo de palma apresentou ponto de fusão final de 34,55 °C. Observando a Tabela 3, encontramos que a adição de 1% de STS e 1%, 3% e 5% de ES elevaram a temperatura de fusão final do óleo de palma para 35,18 °C, 36,32 °C, 39,02 °C e 41,58 °C respectivamente, enquanto que ao adicionar 3% e 5% de STS essa temperatura foi ligeiramente diminuída para 33,97 °C e 34,26 °C respectivamente. Este resultado está de acordo com Krog (1997), onde em algumas gorduras o STS pode atuar como modificador de cristais, evitando a formação de cristais com alto ponto de fusão. Estes cristais geralmente são formados pelos TAG's com ponto de fusão elevado, especialmente o PPP, que cristaliza preferencialmente antes dos demais TAG's

(SULAIMAN *et al.*, 1997). A ação do STS sobre os TAGs trissaturados do óleo de palma refletiu na redução do ponto de fusão final da gordura. O maior ponto de fusão do óleo de palma adicionado de ES pode estar associado ao fato de que os ésteres de sacarose com baixo valor de HLB apresentam alta velocidade em recristalizar (SZUTS, 2008).

Tabela 3. Ponto de fusão do óleo de palma e sua mistura com STS ou ES determinado por RMN.

Amostras	Ponto de fusão (°C)
Óleo de Palma	34,55±0,56[a]
OP+ 1% de STS	35,18±0,36[ab]
OP+ 3% de STS	33,97±0,40[a]
OP+ 5% de STS	34,26±0,26[a]
OP+ 1% de ES	36,32±0,18[b]
OP+ 3% de ES	39,02±0,18[c]
OP+ 5% de ES	41,58±1,36[d]

*OP (óleo de palma); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A Figura 2 mostra o resultado da compatibilidade do óleo de palma com os emulsificantes adicionados, STS e ES. A construção de um diagrama de sólidos isotérmico ou diagrama de compatibilidade, que descreve o teor de sólidos (SFC) em diferentes temperaturas em relação à composição da mistura, pode auxiliar na compreensão das interações entre os componentes da mistura (MENG *et al.*, 2011). Observa-se que exceto para a adição de 1% de STS a 10 °C, onde verificou-se aumento de SFC, nas temperaturas mais altas, 15 °C e 20 °C o STS diminuiu a formação de sólidos, causando pequena depressão nas curvas do diagrama. Esta interação pode ser atribuída à ação do STS sobre os TAGs de elevado ponto de fusão presentes no óleo de palma, reduzindo a formação de cristais com ponto de fusão mais elevado. Como apresentado anteriormente, o STS atua preferencialmente sobre os TAGs MPP, PPP e PPS, os mesmos são responsáveis por aumentar o teor de sólidos das gorduras base palma por cristalizarem separadamente (CALLIAUW *et al.*, 2007).

De acordo com Smith (2000), muitos emulsificantes têm influência sobre a turvação do óleo de palma. O ponto de turvação pode ser melhor observado na temperatura de 20 °C. Analisando a Figura 2, verifica-se que o STS influenciou o ponto de turvação, apresentando maior resistência em cristalizar na temperatura de 20 °C. Existem estudos que apontam os TAGs MPP, PPP e PPS como responsáveis pela turvação do óleo de palma em temperaturas acima de 30 °C (SULAIMAN *et al.*, 1997). E ainda outros que suportam que os TAGs POP e POS seriam os responsáveis por esta turvação (SWE *et al.*, 1994). Neste estudo, apesar do possível efeito sobre a cristalização dos TAGs trissaturados pela interação com o STS, observa-se maior teor de sólidos nas temperaturas de 25 °C e 30 °C. Isto sugere que os TAGs MPP, PPP ou PPS não estariam envolvidos na turvação do óleo de palma nestas temperaturas.

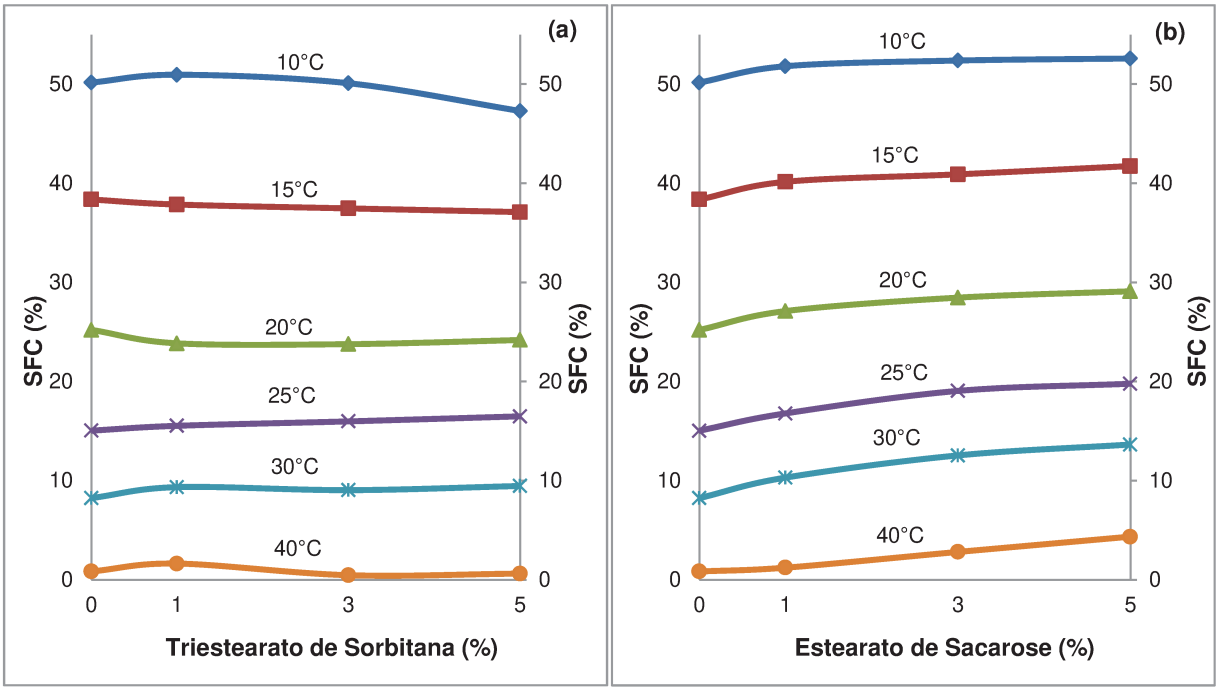


Figura 2. Diagramas de compatibilidade do óleo de palma e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) nas concentrações de 1%, 3% e 5%.

A adição de ES apresentou maior teor de sólidos, indicando turvação do óleo de palma em todas as temperaturas estudadas. A aceleração do processo de turvação pela adição de ES estaria relacionada ao maior ponto de fusão deste emulsificante. Van Dam *et al.* (1996), utilizaram o laurato de sacarose (L195) como coadjuvante no

processo de fracionamento a seco do óleo de palmiste. Sua eficiência como modificador da cristalização do óleo de palmiste, pela formação de grandes cristais aglomerados, favoreceu o processo de separação da fração sólida, com obtenção de estearina com menos retenção de oleína, mesmo a baixa pressão de filtração. Segundo Chaleepa (2010), o fracionamento do óleo de coco na presença de laurato de sacarose (L195) foi facilmente realizado, contudo, o problema da alta viscosidade permaneceu. Sabe-se que a intersolubilidade é provavelmente o problema de mais difícil resolução no fracionamento a seco, pois necessita de superresfriamento (CALLIAUW *et al.*, 2007). O uso de aditivos que possam modificar a morfologia cristalina e reduzir a viscosidade do material fundido sem alterar o polimorfismo resultante seria uma solução para este problema (CHALEEPA, 2010). Analisando os resultados de SFC (Figura 1b), ponto de fusão (Tabela 3) e diagrama de compatibilidade (Figura 2b), verificou-se que um menor grau de resfriamento pode ser fornecido para a cristalização da mistura de óleo de palma/ES. Assim, sugere-se que o estearato de sacarose também seria um eficiente coadjuvante no processo de fracionamento do óleo de palma, contudo, estudos complementares seriam necessários, especialmente quanto à viscosidade da massa, para melhor demonstrar essa finalidade.

3.4 Efeito da adição de emulsificantes sobre a consistência do óleo de palma

O complexo comportamento de fase entre os TAGs do óleo de palma faz com que o mesmo apresente baixa consistência a temperatura ambiente. Portanto, antes de sua utilização em alimentos, o óleo de palma é frequentemente modificado para melhorar ou aumentar sua aplicabilidade como um óleo comestível (APOC, 2003; WASSELL e YOUNG, 2007). A Figura 3 apresenta os valores de consistência do óleo de palma e das misturas com STS e ES. Observou-se que a adição de ambos os emulsificantes contribuiu com o aumento da consistência, com um percentual de aumento de até 500% para a adição de STS e 750% para a adição de ES, o que melhora as características tecnológicas do óleo de palma. A adição de STS proporcionou valores maiores de consistência em todas as temperaturas estudadas, enquanto a presença de ES diminuiu a consistência do óleo de palma a 10 °C e aumentou a consistência nas temperaturas de 15 °C, 20 °C, 25 °C e 30 °C. Estes

resultados estão de acordo com o SFC das diferentes misturas apresentados anteriormente. Observou-se que quando o óleo de palma está praticamente líquido a 25°C (94 gf/cm^2), evidencia-se que a adição 1%, 3% e 5% de ES proporcionou maior dureza (703 gf/cm^2; 801 gf/cm^2 e 741 gf/cm^2 respectivamente), enquanto que a adição de 1%, 3% e 5% de STS aumentou a consistência para 375 gf/cm^2; 388 gf/cm^2 e 594 gf/cm^2 respectivamente. No entanto, as amostras contendo STS mostraram maior maciez, provavelmente devido ao efeito de maior compatibilidade do STS com os TAGs da gordura.

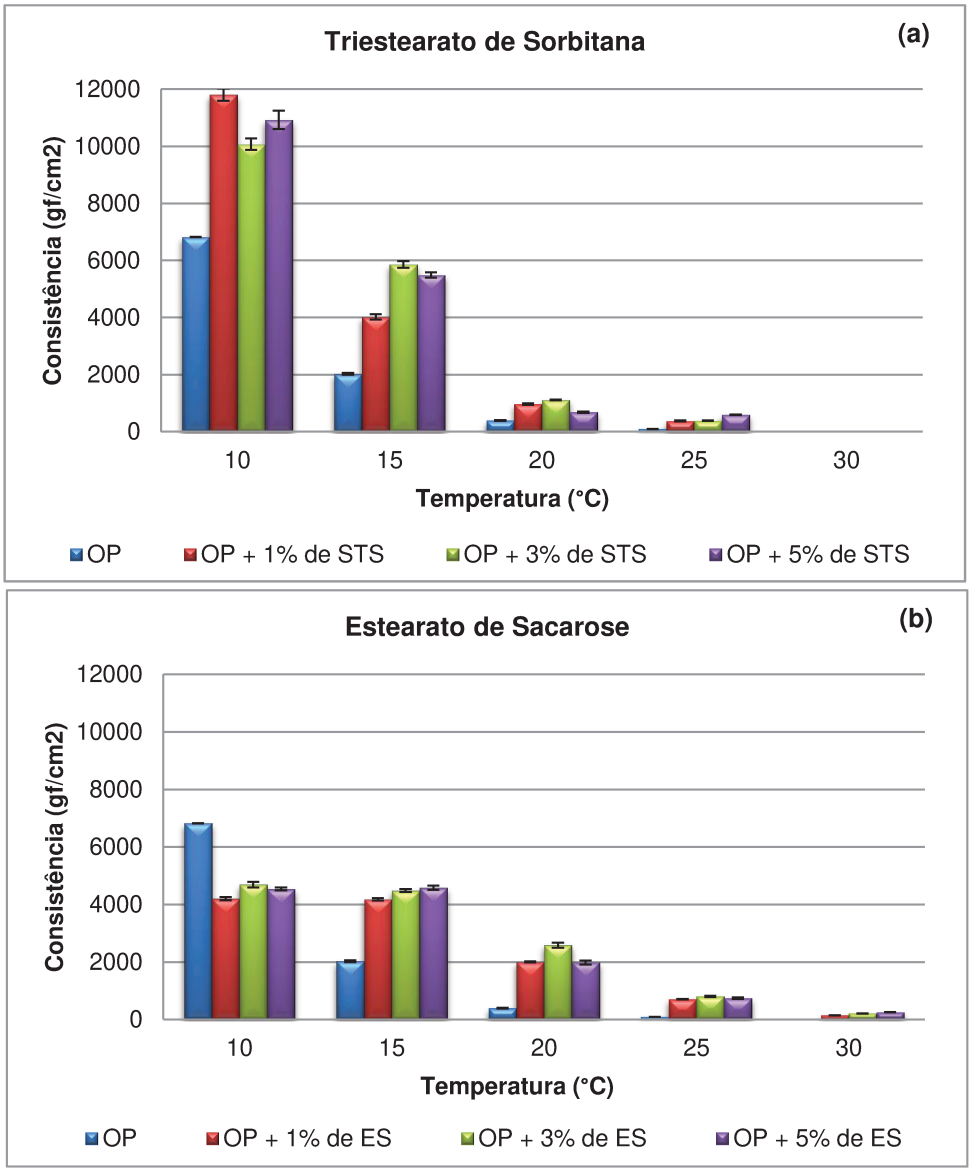


Figura 3. Valores de consistência do óleo de palma (OP) e de sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) nas concentrações de 1%, 3% e 5%.

Conforme Smith (2000), quando gorduras base óleo de palma são utilizadas em produtos industrializados, a cristalização lenta ou recristalização pode acontecer após a produção. Fenômenos como a *maturação de Ostwald* (maturação de grandes cristais) ou *a sinterização* (formação de ligações sólidas entre os TAG's com ponto de fusão entre as fases sólida e líquida), têm implicações importantes na textura do produto. Adicionalmente, de acordo com Campos *et al.* (2002), a resistência mecânica de um material é uma função do número de interações entre as partículas. Se considerarmos dois sistemas de gorduras idênticos com volume de cristais equivalentes, mas com diferentes tamanhos e quantidade de cristais, as interações entre as partículas serão diferentes. Neste contexto, sugere-se que os resultados de consistência estão relacionados com o comportamento de fase formado pela interação entre os TAGs do óleo de palma e os emulsificantes e pelas diferentes forças de ligação existentes na nova estrutura cristalina formada a partir da adição de STS e ES ao longo do tempo de armazenamento.

3.5 Efeito dos emulsificantes sobre a microestrutura da gordura

Muitos fatores afetam a formação e as propriedades da rede cristalina em gorduras multicomponentes. Os fenômenos são tão complexos que pouca compreensão quantitativa foi adquirida até o momento. Consensualmente, a formação de núcleos cristalinos é o primeiro evento que inicia a formação da rede de cristal de gordura. Esses núcleos, quando atingem um tamanho crítico, formam os cristais de gordura, que crescem e formam os agregados cristalinos, e esses por sua vez, lideram a formação de uma rede contínua de cristais de gordura. A formação da rede cristalina pode ser modificada de várias formas, onde a adição de agentes modificadores de cristais como os emulsificantes tem sido extensivamente estudada.

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados da análise para os elementos microestruturais das amostras de óleo de palma e de suas misturas com STS e ES nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Observou-se que a adição de ambos os emulsificantes resultou no aumento do número de elementos cristalinos, assim como na redução do diâmetro médio de cristal. A adição de STS induziu a formação de um grande número de cristais, mais uniformes e de menor diâmetro cristalino (entre 4,50 μm e 5,91 μm), o

que indica o desenvolvimento de uma rede cristalina bem estruturada. Neste caso, a maior concentração de STS dispersa no óleo de palma desempenhou, provavelmente, um papel de *seeding* de cristalização. O grande número de pequenos cristais resulta da adsorção dos TAGs a superfície do STS, que em seguida, inicia o processo de cristalização, uma vez que os triacilgliceróis são distribuídos durante a adsorção e cristalização. Esse resultado implica na maior proporção de área cristalizada e melhor distribuição espacial, aumentado a dimensão fractal das amostras adicionadas de STS (entre 1,81 e 1,82), que diferiu significativamente da dimensão fractal obtida para o óleo de palma (1,63). Visto que a análise foi realizada a 20 °C, temperatura importante na verificação do ponto de turvação do óleo de palma, os cristais formados pela adição de STS são representados por aqueles com ponto de fusão intermediário, devido à ação do STS sobre os cristais com ponto de fusão elevado. Basso *et al*. (2010), obtiveram resultados similares em relação ao número de cristais formados a partir da adição de monopalmitina ao óleo de palma. No entanto, o diâmetro dos cristais variou entre 7 μm e 99 μm. De acordo com os autores, essa grande diversidade no diâmetro sugere que a adição de monopalmitina não conduziu à formação de uma rede cristalina bem estruturada.

Tabela 4. Número de cristais, diâmetro médio, dimensão fractal e porcentagem de área cristalizada do óleo de palma e suas misturas com STS e ES analisados na temperatura de 20°C.

Amostras	**Diâmetro médio (μm)**	**Dimensão Fractal (D_b)**	**Área cristalizada (%)**
Óleo de Palma	10,24 ± 0,39[a]	1,63 ± 0,03[a]	21
OP + 1% de STS	5,91 ± 0,23[b]	1,82 ± 0,03[b]	71
OP + 3% de STS	4,70 ± 0,34[c]	1,82 ± 0,03[b]	56
OP + 5% de STS	4,50 ± 0,70[c]	1,81 ± 0,01[b]	52
OP + 1% de ES	6,44 ± 0,61[bd]	1,69 ± 0,01[a]	50
OP + 3% de ES	6,93 ± 0,16[d]	1,74 ± 0,03[c]	25
OP + 5% de ES	7,03± 0,86[d]	1,78 ± 0,02[bc]	21

*OP (óleo de palma); STS (triestearato de sacarose); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

A capacidade de uma rede de cristal para imobilizar óleo líquido depende muito do tamanho dos cristais. Ao analisar as imagens da Figura 4, verificou-se que praticamente não existiu óleo livre ao redor dos cristais das amostras adicionadas de STS. De acordo com Campos *et al.* (2002), um grande número de pequenas particulas estariam unidas por forças estabilizadoras mais fortes, e essas interações conduziriam a maior resistência a penetração. Estes resultados estão de acordo com os verificados para a consistência das amostras, pois a adição de STS proporcionou maior consistência quando comparadas ao óleo de palma puro.

A adição de ES induziu a formação de menor número de cristais e maior diâmetro cristalino (entre 6,44 μm e 7,03 μm) quando comparada com a adição de STS. Também melhorou a distribuição espacial dos elementos na rede, como visto pelo aumento na dimensão fractal das amostras, contudo, apenas a adição de 1% de ES apresentou influencia sobre a proporção de área cristalizada. Observando as imagens na Figura 5, percebe-se que a adição de ES induziu a formação de cristais de diversos tamanhos e formas. Grandes cristais podem ser identificados na rede de pequenos cristais, resultando em uma rede cristalina menos organizada quando comparada com a obtida pela adição de STS. Esse resultado é interessante quando atentamos para a necessidade de melhoria no processo de fracionamento do óleo de palma.

De acordo com Garti e Yano (2000), os ésteres de sacarose formam micelas de fase reversa na fase oleosa, especialmente quando são adicionados em excesso, acima da concentração micelar crítica (CMC). Este mecanismo poderia liderar a formação dos cristais verificados nas imagens de microscopia para o óleo de palma adicionado de ES, e consequentemente esses cristais facilitariam a separação da fase sólida e líquida do óleo de palma, favorecendo a filtração no processo de fracioanamento. Contribuindo com esta teoria, sabe-se que particulas maiores estariam estabilizadas por forças atrativas mais fracas (CAMPOS *et al.*, 2002), mesmo assim, foram verificados maiores valores de consistência para as amostras contendo ES. Deste modo, considera-se que nas amostras adicionadas de ES pode ter ocorrido o fenômeno de sinterização, pois por observação visual, verificou-se exudação de óleo das amostras, o que indica que houve a formação de uma rede coesa associada ao indesejável aumento de dureza da fase sólida, com liberação da fase líquida.

Johansson e Bergenstahl (1995) estudaram a sedimentação da mistura de estearina de palma/óleo de soja/óleo de palmiste adicionado de 0,5% de lecitina ou 1% de monooleína, por 8 minutos, 1 hora e 24 horas. Os autores relataram que a lecitina adsorveu fortemente sobre os cristais, formando uma camada, isolando-os e reduzindo o processo de sinterização, enquanto que a monooleína adsorveu fracamente sobre os cristais de gordura, e a camada formada foi compatível com a sinterização, aumentando o processo. Possivelmente, o efeito observado para a adição de ES, foi similar àquele observado para a monooleína.

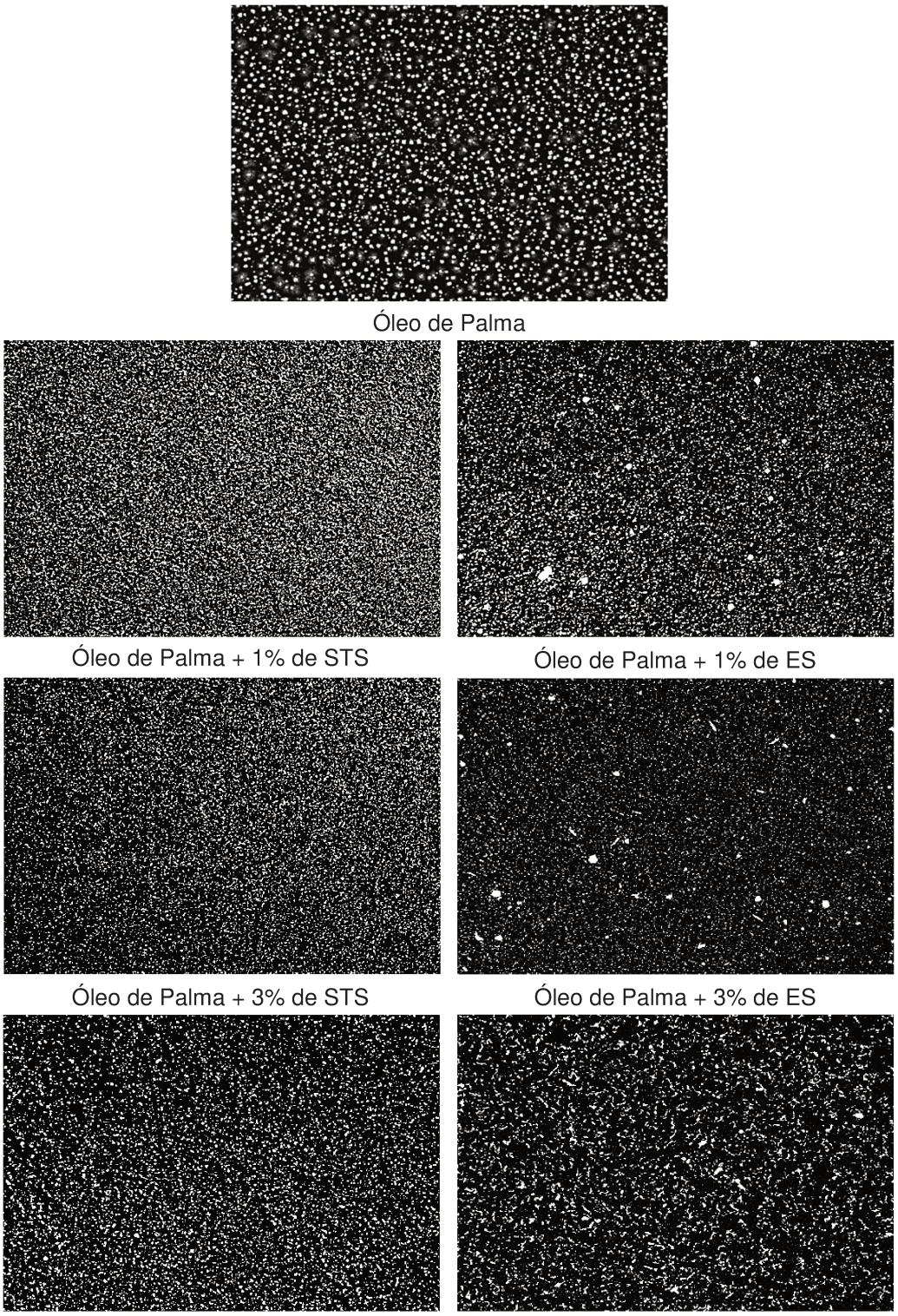


Figura 4. Microscopia sob luz polarizada das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS (triestearato de sorbitana) e ES (estearato de sacarose) nas proporções de 1%, 3% e 5% na temperatura de 20 °C. (ampliação de 40x).

3.6 Visualização da rede cristalina tridimensional

Gorduras plásticas formam uma rede tridimensional de cristais, onde o óleo líquido está aprisionado. As propriedades de textura, ou seja, a consistência ou a sensação na boca, dos produtos baseados em gordura estão estreitamente relacionadas com a organização dos cristais de gordura nesta rede cristalina. Para estudar a formação da rede cristalina tridimensional do óleo de palma e sua mistura com STS e ES foi realizada a visualização da superfície de quebra. A Figura 5 apresenta a visualização da rede cristalina tridimensional das amostras de óleo de palma e da sua mistura com STS e ES. Observou-se que grandes cristais foram formados no óleo de palma e uma mudança na rede tridimensional para as misturas de óleo de palma e emulsificantes foi evidenciada. A adição de STS resultou em uma rede formada por pequenas estruturas, bem compactada e aparentando uma maior organização molecular. Já a adição de ES proporcionou a formação de estruturas sobrepostas. Estruturas menores foram obtidas com a adição de 3% de ES, enquanto a adição de 1% e 5% resultou na formação de grandes estruturas. Estas estruturas indicaram uma maior desordem na formação da rede tridimensional. A falta de trabalhos publicados com estes dados, não nos permite fazer uma discussão mais detalhada dos resultados, contudo, uma analise similar foi realizada por Blaszczak e Fornal (2011) descrevendo imagens de *shortenings* para margarina.

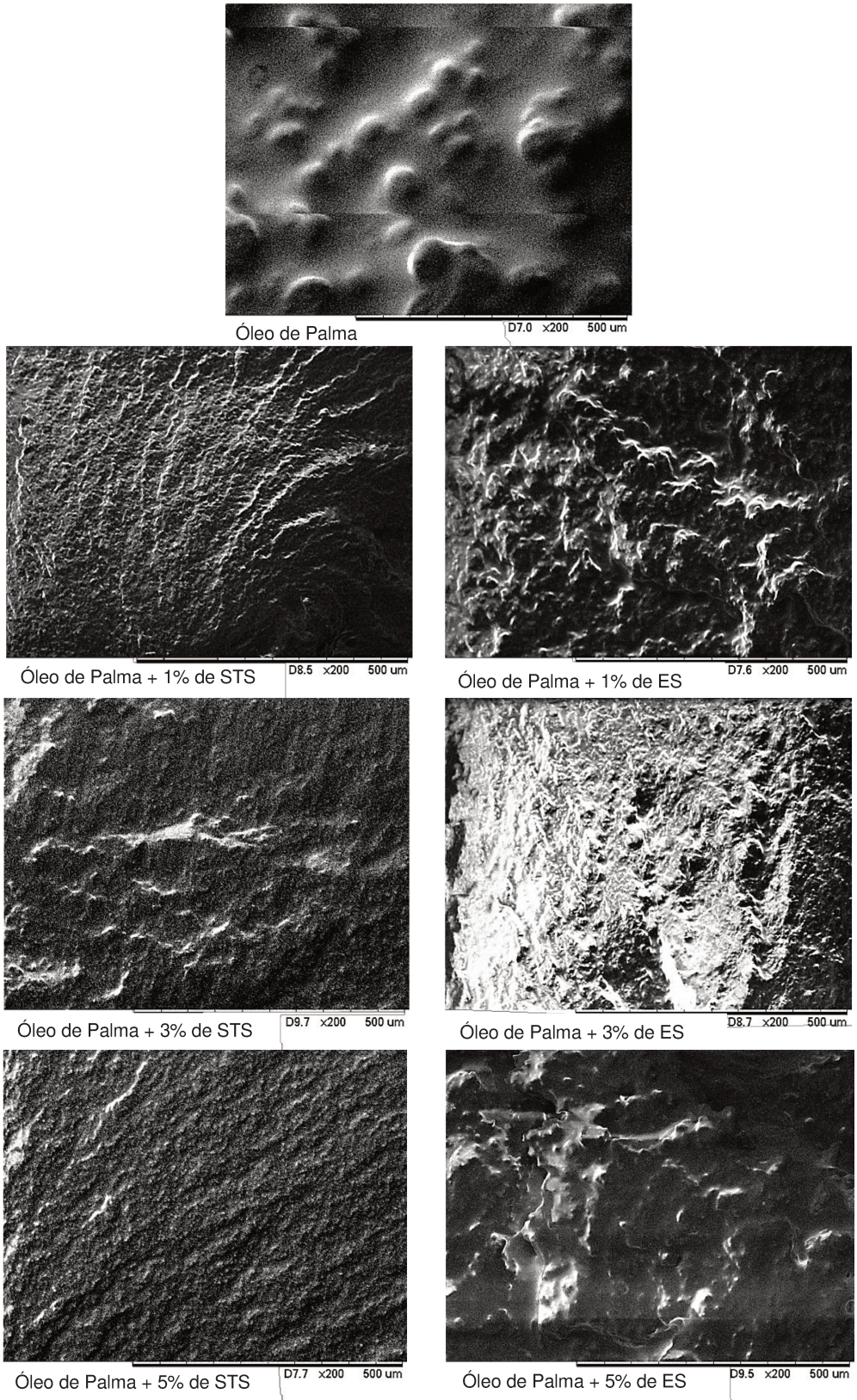


Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura da superfície do corte vertical das amostras de óleo de palma e suas misturas com STS (triestearato de sorbitana) e ES (estearato de sacarose) nas proporções de 1%, 3% e 5%.

3.7 Efeito dos emulsificantes sobre a cinética de cristalização e parâmetros de Avrami

3.7.1 Tempo de indução

A cinética de cristalização influencia intensivamente a estrutura final das gorduras e mostra-se intrinsecamente relacionada às suas propriedades reológicas e de plasticidade. Monitorando-se a formação do material sólido cristalino em função do tempo é possível verificar a natureza do processo de cristalização (HIMAWAN *et al.*, 2006).

O comportamento de cristalização do óleo de palma foi modificado pela adição de STS e ES. Na Figura 6 observou-se que ambos os emulsificantes, que apresentam o ácido esteárico como característica em comum, anteciparam a cristalização do óleo de palma quando sujeito a uma condição isotérmica. O tempo de indução que é um parâmetro importante, e geralmente está associado à taxa de nucleação (CHALEEPA, 2010). O tempo de indução do óleo de palma foi de 13 minutos, enquanto que para o óleo de palma adicionado de 1%, 3% e 5% de ES foi de 4 e 2 minutos respectivamente, contudo, a formação de núcleos estáveis foi inicialmente observada no óleo de palma adicionado de STS, com tempo de indução de 7, 5 e 4 minutos para 1%, 3% e 5% de STS respectivamente. Tanto o óleo de palma quanto sua mistura com STS apresentaram curvas com padrão hiperbólico e concordando com o perfil de SFC, a adição de STS resultou em um teor máximo de sólidos inferior ao apresentado pelo óleo de palma. Diferentemente, a adição de ES deu origem a uma cristalização em 2 etapas, que caracteriza um processo de cristalização um pouco mais lento se comparado com a adição de STS. Apesar disso, a adição de 5% de ES alcançou o maior teor de sólidos entre todas as amostras. De acordo com Chen *et al.* (2002) a cristalização em 2 etapas para o óleo de palma, apresenta dois eventos que ocorrem separadamente, sendo possivelmente devido a formação de dois polimorfos distintos. A temperatura de cristalização é, neste caso, abaixo do ponto de fusão da forma polimórfica metaestável, portanto, a velocidade de nucleação é superior. Na segunda etapa, ocorre a transformação para um polimorfo mais estável (DEWETTINCK *et al.*, 2004). Considerando que a sacarose apresenta uma fase amorfa, sugere-se que os sólidos

amorfos presentes no ES influenciaram a formação da fase representada pela 1ª etapa de cristalização, seguido da presença de uma forma cristalina mais estável. Já o óleo de palma adicionado de STS alcançou a estabilidade polimórfica mais rapidamente, não apresentando essa 1ª etapa na cristalização.

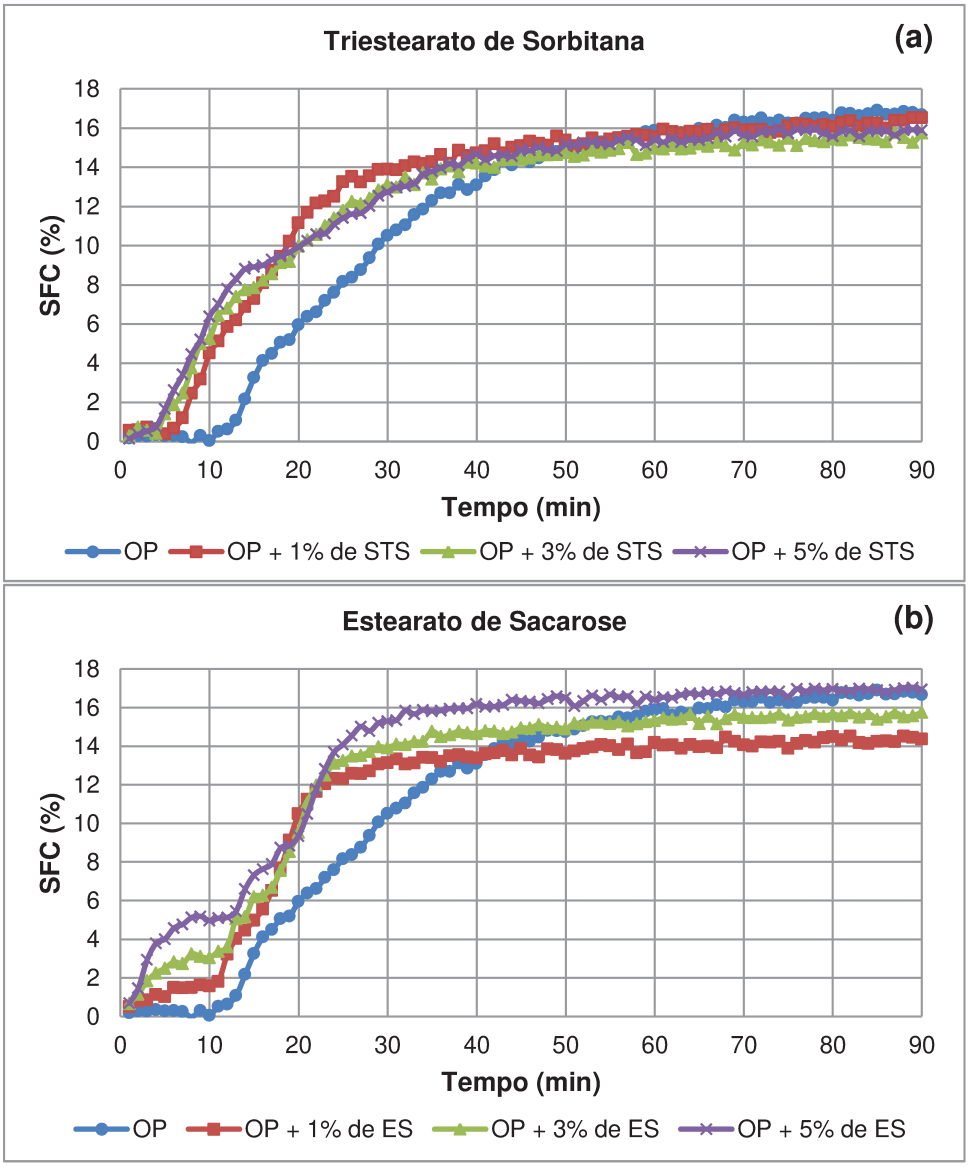


Figura 6. Isotermas de cristalização do óleo de palma (OP) e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) na temperatura de 20°C.

3.7.2 Efeito sobre os parâmetros de Avrami

A quantificação da cinética de cristalização utilizando o modelo de Avrami não linearizado produziu os parâmetros cinéticos de constante de cristalização (k) e expoente de Avrami (n), determinados a partir do ajuste das curvas entre o modelo estimado e o modelo real, e em seguida, foi obtido o meio tempo de cristalização ($t_{1/2}$).

Na Tabela 5, estão apresentados os resultados dos parâmetros de Avrami para o modelo não linearizado. Como já referido, a adição dos emulsificantes resultou em um comportamento de cristalização distinto, onde a adição de ES originou uma cristalização em 2 etapas, contudo, para comparação, os ajustes foram feitos considerando a cristalização de apenas uma etapa. Analisando os resultados, observou-se que ambos os emulsificantes influenciaram os valores de k e n. A adição de STS aumentou o valor de k e reduziu o valor de n, significando que a cristalização foi acelerada e a nucleação foi mais instantânea. Essa diminuição no valor de n para as amostras contendo STS também indicou uma mudança da geometria e da dimensionalidade no crescimento dos cristais. Uma diminuição do valor de n sugere uma mudança no crescimento multidimensional para unidimensional (WRIGTH *et al.*, 2000). O óleo de palma apresentou uma nucleação mais esporádica, com crescimento de cristais na forma de pequenos discos ($n \sim 2$), enquanto que com adição de STS os cristais iniciaram a partir de núcleos na forma de pequenas hastes ($n < 2$) (LITWINENKO *et al.*, 2002). Quando o ES foi adicionado ao óleo de palma, verificou-se um comportamento de cristalização mais lento se comparado com a adição de STS. A concentração de 1% de ES atrasou a cristalização ainda mais, onde o valor de k foi inferior aquele apresentado pelo óleo de palma. Correspondentemente, o valor de n foi maior para esta amostra ($n = 2,55$), indicando uma nucleação esporádica. Embora a adição de 3% de ES tenha acelerado um pouco mais a cristalização, o valor de n foi próximo ao observado para o óleo de palma, ainda indicando uma nucleação esporádica. Quando foram adicionados 5% de ES, os valores de k e n foram muito próximos aos valores apresentados pela adição de 1% de STS, entretanto, na análise de microscopia, essas amostras apresentaram-se muito distintas uma da outra.

Apesar do exponente Avrami (n) depender do tipo de nucleação (esporádica ou instantânea) e da morfologia de crescimento das partículas, o significado do valor de n não é tão simples (FOUBERT *et al.*, 2003). Teoricamente, n deveria apresentar valores inteiros, no entanto, frequentemente este valor é um número fracionário. Alguns motivos foram sugeridos para este achado, e acreditamos que a hipótese onde os agregados cristalinos crescem simultaneamente a partir de núcleos de ambas as nucleações instantânea e esporádica (SUPAPHOL & SPRUIELL, 2000; FOUBERT *et al.*, 2003), seja a explicação mais aceitável para os valores de n encontrados em nosso estudo. Ainda de acordo com Marangoni (2005), os valores fracionários do expoente n podem ser explicados pelo desenvolvimento simultâneo de cristais com diferentes morfologias.

Tabela 5. Parâmetros de Avrami das amostras de óleo de palma e suas misturas com STS e ES, determinados a partir da isoterma de cristalização na temperatura de 20°C

Amostras	t_{SFC} **(min)**	$SFC_{máx}$ **(%)**	***k*** **(min^{-n})**	***n***	$t_{1/2}$ **(min)**	R^2
Óleo de Palma	13	16,67	$1,0x10^{-3}$	1,986	26,22	0,99
OP + 1% de STS	7	16,53	$10,7x10^{-3}$	1,492	16,30	0,98
OP + 3% de STS	5	15,75	$23,0x10^{-3}$	1,248	15,30	0,99
OP + 5% de STS	4	15,92	$28,5x10^{-3}$	1,181	14,84	0,99
OP + 1% de ES	4	14,52	$0,4x10^{-3}$	2,557	17,19	0,98
OP + 3% de ES	2	15,75	$3,2x10^{-3}$	1,902	16,84	0,98
OP + 5% de ES	2	17,05	$11,6x10^{-3}$	1,491	15,42	0,97

*OP (óleo de palma); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose)

Observou-se que o meio tempo de cristalização ($t_{1/2}$) diminuiu com a adição dos emulsificantes. No entando, essa redução foi muito maior no óleo de palma adicionado de STS e quanto maior a concentração adicionada, menor o tempo para alcançar os 50% de sólidos. A adição de ES também proporcionou redução no meio tempo de cristalização, contudo, esses valores foram mais elevados quando comparados com as mesmas concentrações de STS. De acordo com Garti (1988), para ser um inibidor eficaz de cristalização, um composto deve ser capaz de co-cristallizar com a gordura devido à sua semelhança química, mas também deve ser diferente o suficiente em estrutura para retardar a nucleação e inibir o crescimento. O STS apresenta semelhança tanto química como estrutural com as gorduras, o que neste caso, resultou

em um efeito promotor da cristalização. No entanto, Miskandar *et al.* (2007), utilizando 0,03%, 0,06% e 0,09% de STS, observaram efeito inibidor da cristalização de misturas a base de óleo de palma, promovendo núcleos de cristais indesejáveis. Em nosso estudo, utilizando 1%, 3% e 5% de STS, foi observado um efeito contrário, onde o STS acelerou a cristalização do óleo de palma. Desta forma, sugerimos que a co-cristalização do STS com os TAGs do óleo de palma foi favorecida pelas concentrações utilizadas. Em relação ao ES, que apresenta as características mecionadas por Garti (1988), um emulsificante com elevado peso molecular, mas com semelhança química com a gordura, apresentando potencial para ser um bom inibidor de cristalização (MARTINI *et al.*, 2002). De acordo com Gabolino *et al.* (2005), o maior tamanho da fração de sacarose, faz com que haja apenas uma interação parcial entre o ES com os TAGs, acarretando no atraso da cristalização.

3.8 Efeito dos emulsificantes sobre o comportamento térmico do óleo de palma

A Figura 7 mostra dois picos exotérmicos distintos durante o evento de cristalização da amostra de óleo de palma e sua mistura com STS e ES. Para o óleo de palma, o 1° evento de cristalização está situado entre 20 °C e 5 °C, representado a cristalização dos TAGs saturados, como MPP, PPP, PPS, ou seja, a fração correspondente à estearina. Considera-se ainda que uma pequena parte dos TAGs simétricos como POP, PLP e POS, estão presentes neste 1° evento. O 2° evento encontra-se entre 5 °C e -30 °C, representando o processo de cristalização dos TAGs mais insaturados, como o POO, POL e OOO, e o restante dos TAGs simétricos, o que confirma as observações de Tan e Che Man (2000), Basso *et al.* (2010) e Saadi *et al.* (2011) que descreveram a formação de dois picos distintos na análise DSC do óleo de palma.

Na presença de STS, foram observadas diferenças entre as temperaturas de cristalização, sendo que com 1%, 3% e 5% de STS o início da cristalização do 1° evento ocorreu a aproximadamente 25 °C, 33 °C e 36 °C respectivamente, indicando que a adição de STS realmente influenciou a cristalização dos TAGs mais saturados. De acordo com o verificado por Miskandar *et al.* (2007), o maior efeito do STS na cristalização do óleo de palma ocorreria sobre os TAGs trissaturados como o PPP, PPS

e MPP, aumentando a formação de cristais com tamanhos mais homogêneos. Assim, notou-se que o STS não apenas controla o desenvolvimento dos cristais de ponto de fusão elevado como aqueles formados pelo PPP, PPS e MPP (KROG, 1997), mas acelara a cristalização destes TAGs. O STS também acelerou o início do 2° evento de cristalização do óleo de palma. Esse 2° evento está representado pelos TAGs mais insaturados, contudo, os TAGs simétricos da fração mediana cristalizam em sua maior parte nesta faixa de temperatura. Segundo, Podchong *et al*. (2012) o efeito do STS na fase inicial da cristalização da manteiga de cacau, foi devido a sua capacidade de co-cristalização com o POS e SOS, acelerando a cristalização destes TAGs. Analisando a composição do óleo de palma, verificou-se que o mesmo apresenta quantidades significativas de TAGs simétricos, havendo a possibilidade da interação do STS com MOP, POP, POS e PLP presentes na fração média do óleo de palma (Tabela 6).

A adição de ES apresentou resultados semelhantes aos observados com a adição de STS para o 1° evento de cristalização, contudo, o início da cristalização ocorreu em uma temperatura mais baixa, onde o óleo de palma adicionado 1%, 3% e 5% de ES iniciou sua cristalização a aproximadamente 22 °C, 23 °C e 23 °C respectivamente. Praticamente nenhuma diferença foi observada para o 2° evento de cristalização entre o óleo de palma e sua mistura com ES, o que indica que sob estas condições de cristalização, o ES não apresentou efeito sobre os TAGs mais insaturados. Observando a Figura 7, percebe-se ainda que entre as temperaturas de 46 °C a 22 °C houve uma cristalização isolada para a adição de 3% de ES (menos evidente) e 5% de ES. Aqui, ressalta-se mais uma vez a eficiência do ES como aditivo auxiliar para o processo de fracionamento a seco do óleo de palma, cristalizando em temperaturas mais altas e consequentemente acelerando a cristalização dos TAGs com ponto de fusão mais elevado, sem apresentar efeitos sobre a fração mediana e a fração de oleína (Tabela 6). Em adição a estes resultados, verificou-se redução na entalpia (ΔH) de cristalização para ambos os eventos (1° e 2°), tanto da mistura com STS quanto com ES, o que indica que uma menor quantidade de energia foi necessária para realização do mesmo processo de cristalização. Observa-se também que a adição de STS e ES reduziram a altura do 1° pico de cristalização do óleo de palma. De acordo

com Chen *et al.* (2002) as mudanças na entalpia e altura de pico podem ser interpretadas como transformações polimórficas.

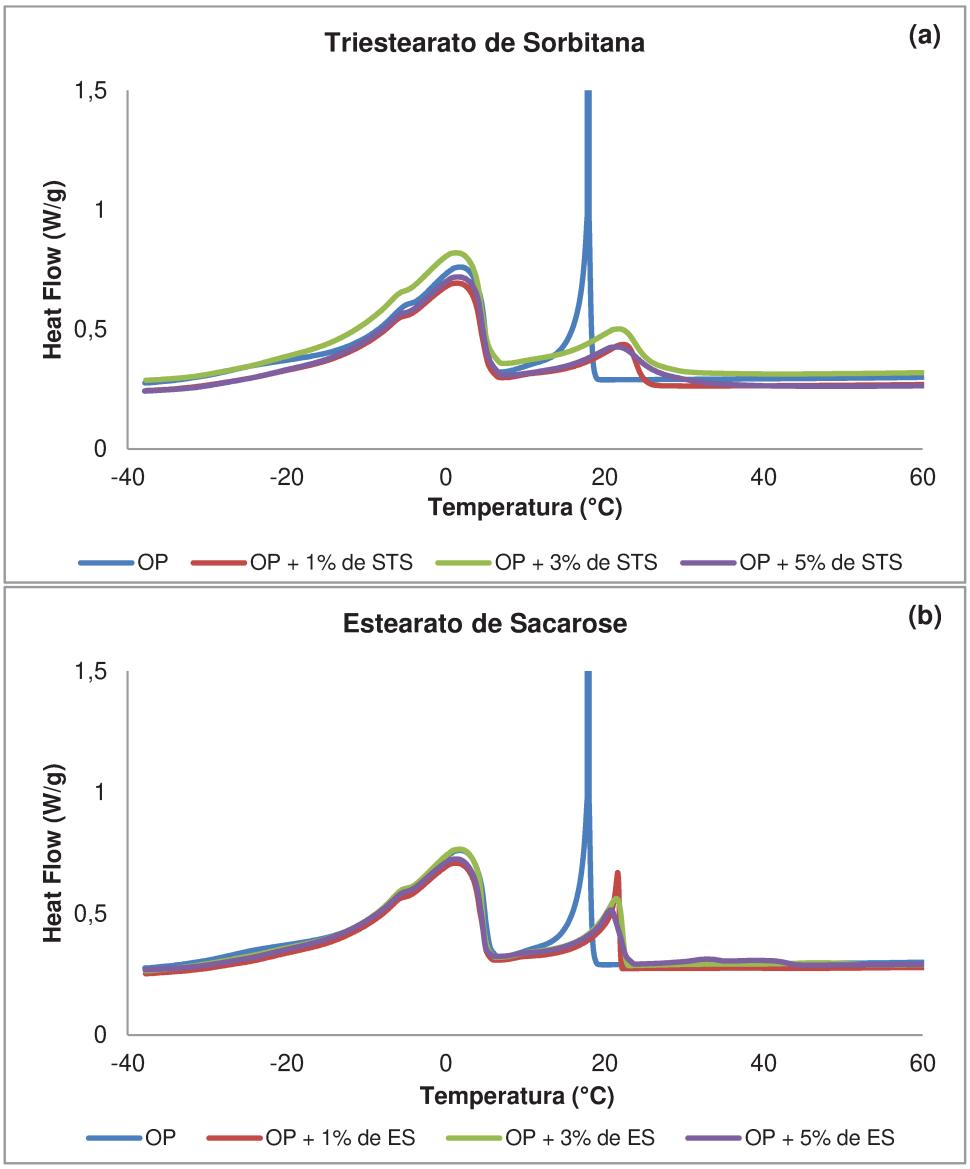


Figura 7. Fenômeno térmico de cristalização do óleo de palma (OP) e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) nas proporções de 1%, 3% e 5%.

A Figura 8 apresenta o fenômeno térmico de fusão do óleo de palma. O 1° evento representa os TAGs com baixo ponto de fusão, enquanto que o 2° evento, corresponde aos TAGs com ponto de fusão elevado. Observou-se três sub-picos dentro do 1° evento de fusão, no intervalo de 3 °C a 9 °C. De acordo com Braipson-Danthine e

Gibon (2007) a intensidade relativa destes sub-picos é variável e sua posição está relacionada à composição triacilglicerólica do óleo de palma, e mais precisamente ao conteúdo de dissaturados (SUS) e monossaturados (SUU). Segundo estes autores, os sub-picos 1 e 2 parecem estar relacionados com o teor de SUU e a posição do 3° sub-pico ao conteúdo SUS. Para o 2° evento de fusão, observamos dois ombros dentro do mesmo pico, sugerindo uma relação do 1° ombro com o grupo de SUS e o 2° ombro com o grupo de SSS. De acordo com Calliauw *et al*. (2010), a largura do pico do 2° evento de fusão sugere a presença de uma solução sólida formada a partir da interação entre o PPP e o POP.

Tabela 6. Análise dos fenômenos térmicos de cristalização e fusão das amostras de óleo de palma e sua mistura com STS e ES.

Amostras	Picos	Evento de cristalização			Evento de fusão		
		Tc_{Onset} (°C)	ΔH_c(J/g)	Ap_c (W/g)	Tf_{Onset} (°C)	ΔH_f (J/g)	Ap_f (W/g)
Óleo de palma	1º	19,19±0,09	10,71±0,01	0,73±0,00	-21,72±1,49	46,70±0,62	-0,25±0,01
	2º	5,88±0,08	39,76±0,02	0,45±0,00	13,72±0,62	39,40±0,72	-0,18±0,00
PO + 1% STS	1º	25,89±1,49	8,77±01,77	0,20±0,06	-21,09±0,22	51,06±0,66	-0,25±0,02
	2º	6,56±0,35	36,41±3,29	0,45±0,06	12,90±0,18	39,90±1,01	-0,20±0,00
PO + 3% STS	1º	33,54±1,05	8,49±0,30	0,16±0,00	-21,22±0,06	53,90±0,75	-0,27±0,00
	2º	7,06±0,00	36,46±0,06	0,47±0,00	12,09±0,62	42,15±0,48	-0,21±0,00
PO + 5% STS	1º	36,65±1,58	8,28±0,13	0,14±0,00	-21,47±0,13	47,27±0,15	-0,23±0,00
	2º	7,06±0,18	35,82±0,37	0,42±0,00	12,22±0,44	39,10±0,11	-0,17±0,00
PO + 1% SE	1º	22,60±0,35	8,32±0,83	0,35±0,05	-21,78±0,00	48,75±0,97	-0,25±0,01
	2º	6,06±0,18	35,58±2,33	0,42±0,03	13,28±0,35	43,36±0,70	-0,20±0,00
PO + 3% SE	1º	23,72±0,18	8,01±0,54	0,25±0,02	-22,77±0,62	49,92±0,92	-0,26±0,00
	2º	5,82±0,52	36,39±1,63	0,43±0,01	13,34±0,62	41,00±0,92	-0,19±0,00
PO + 5% SE	1º	23,65±0,62	7,28±0,48	0,22±0,00	-22,71±0,13	45,90±0,15	-0,24±0,01
	2º	5,94±0,35	34,47±0,77	0,42±0,01	12,78±0,00	39,74±1,11	-0,18±0,00

*OP (óleo de palma); STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose); Tc_{onset} (temperatura inicial de cristalização); ΔHc (entalpia de cristalização); Ap_c (altura do pico de cristalização); Tf_{onset} (temperatura inicial de fusão); ΔHf (entalpia de fusão); $T_{fmáx}$ (temperatura de fusão máxima); Ap_f (altura do pico de fusão).

Observou-se que a adição de STS influenciou o 1° evento de fusão, onde a temperatura de início da fusão foi maior para as amostras adicionadas de STS. A presença de apenas dois sub-picos foi visualizada. Como verificado anteriormente, o STS influenciou a cristalização dos TAGs simétricos, assim, também influencia no

comportamento de fusão dos mesmos, contudo, esse resultado indicou que o STS também interfere na fusão dos TAGs assimétricos como o POO, POL, PLL e SOO. Com a adição de STS houve aumento na entalpia de fusão deste 1° evento e o pico exotérmico foi um pouco mais intenso (Tabela 6). De acordo com Garti (1988), os ésteres de sorbitana apresentam forte influencia sobre o comportamento térmico dos TAGs com baixo ponto de fusão, aumentando a entalpia do 1° evento de fusão. O 2° evento de fusão foi deslocado para esquerda, indicando redução na temperatura final de fusão do óleo de palma com STS. Neste evento observou-se a fusão das formas polimórficas mais estáveis, onde notamos que a adição de STS proporcionou maior estabilidade. A adição de 5% de STS promoveu fusão máxima em 32,5 °C. Chapman (1971) verificou a fusão da forma β' nesta temperatura. Observou-se que para o 2° evento de fusão, a entalpia foi maior (ΔH) para a adição de 1% e 3% de STS, enquanto que a adição de 5% de STS diminuiu a entalpia de fusão (Tabela 6).

Os eventos de fusão das amostras adicionadas de ES mostraram-se muito similar ao do óleo de palma. A adição de ES apresentou menor efeito sobre o 1° evento de fusão do óleo de palma quando comparado com o STS, existindo quase que uma sobreposição dos eventos em determinadas temperaturas. A adição de 3% de ES foi a que demonstrou menor efeito sobre o comportamento de fusão do óleo de palma. Isto significa que o ES não apresentou efeito sobre o comportamento de fusão dos TAG's de baixo ponto de fusão. Contudo, assim como com a adição de STS, o aumento da entalpia do 1° evento de fusão e da intensidade do pico exotérmico também foi observado com a adição de ES. Ibrahim (2001) verificou resultado similar ao adicionar estearato de sacarose (S-170) na gordura de *Ghee*, apresentando cristalização mais lenta. O 2° evento de fusão do óleo de palma também foi pouco efetado pela presença de ES, com um pequeno deslocamento do pico para a esquerda, contudo, as temperaturas de fusão máxima permaneceram ao redor de 23 °C para todos os picos. A entalpia de fusão aumentou para todas as concentrações de ES. Estes resultados estão de acordo com Herrera e Rocha (1996), que também verificaram pouca diferença entre os eventos de fusão do óleo de girassol hidrogenado e adicionado de ES, com excessão da entalpia de fusão que foi maior para o óleo contendo ES. Cedeira *et al.* (2003), também encontraram valores mais altos na entalpia de fusão quando 0,1% e

0,5% de estearato de sacarose (S-170) e palmitato de sacarose (P-170) estavam presentes em uma mistura de gordura de leite e óleo de girassol, e sugeriram que interações entre os TAGs e Es também deve desempenhar um papel fundamental no aumento da entalpia de fusão.

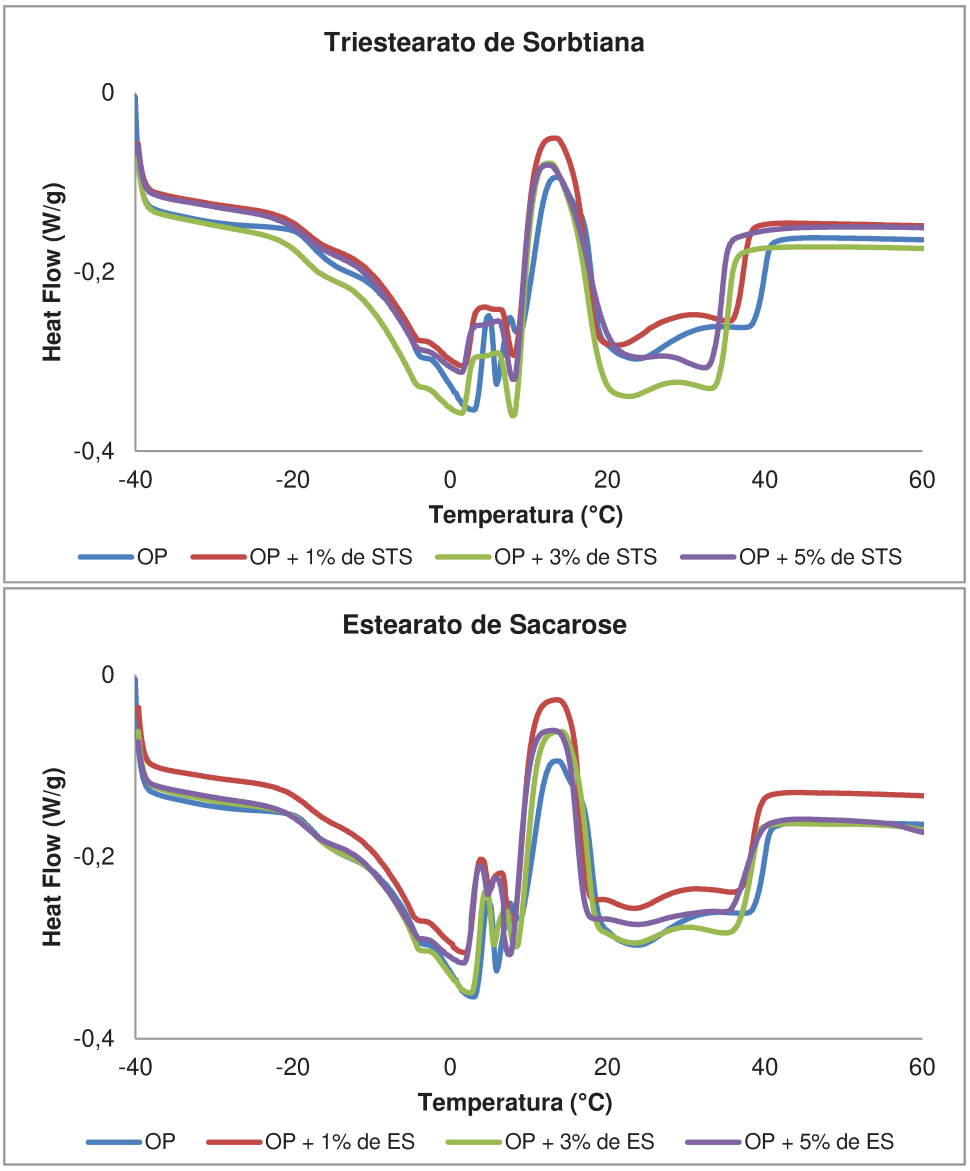


Figura 8. Fenômeno térmico de fusão das amostras de óleo de palma (OP) e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) nas proporções de 1%, 3% e 5%.

3.9 Efeito dos emulsificantes sobre o polimorfismo do óleo de palma

O comportamento polimórfico de uma gordura é determinado em grande medida pelos ácidos graxos que compõem os TAGs. As gorduras que são compostas de ácidos graxos predominantemente de um único comprimento de cadeia são mais suscetíveis de ser estáveis sob a forma β. O óleo de palma, que contém TAGs formados por ácidos graxos C16 e C18 em sua maioria é relativamente estável na forma β' (SIEW, 2002), contudo, a composição do óleo de palma origina um comportamento de fase complexo.

Na Tabela 7 e Figura 10 observa-se os padrões de difração de Raios-X para a amostra de óleo de palma e sua mistura com STS. Para o óleo de palma verifica-se a existência de dois picos mais intensos que correspondem à presença da forma β'. Apesar do óleo de palma cristalizar preferencialmente em β', o mesmo exibe as quatro principais formas polimórficas (sub-α, α, β' e β) (KAWAMURA, 1980) e dependendo das condições de estocagem, a transição polimórfica pode ocorrer com o tempo.

Tabela 7. Efeito da adição de STS sobre o polimorfismo do óleo de palma (temperatura de estabilização de 25 °C).

Triestearato de Sorbitana							
Amostras	**Short spacings (Å)**						**Forma Polimórfica**
	5.3	**4.6**	**4.3**	**4.2**	**3.8**	**3.7**	
Óleo de Palma	5.37 (vw)		4.39 (vw)	4.21 (s)	3.81 (m)		β'
1%		4.65 (vw)	4.35 (vw)	4.20 (vs)		3.77 (m)	β'>>β
3%		4.62 (w)	4.37 (vw)	4.21 (vs)		3.79 (m)	β'>β
5%				4.20 (vs)		3.75 (m)	β'

*Intensidade dos picos: Forte (s); Muito forte (vs); Médio (m); Fraco (w); Muito fraco (vw)

O óleo de palma apresentou quantidades significativas de PPP, POP e POO. De acordo com Chu *et al.* (2002) tanto o POP quanto o PPP são TAGs com tendência a cristalizar na forma β. Em estudo usando um modelo de margarina sob estocagem, observou-se que o POP se aglomerou para formar grandes cristais estáveis na forma β, enquanto que o POO foi mais estável na forma β'. A formação de composto entre POP/POO cristaliza inicialmente em β' e com o tempo se transforma em β (MIURA *et al.*, 2001).

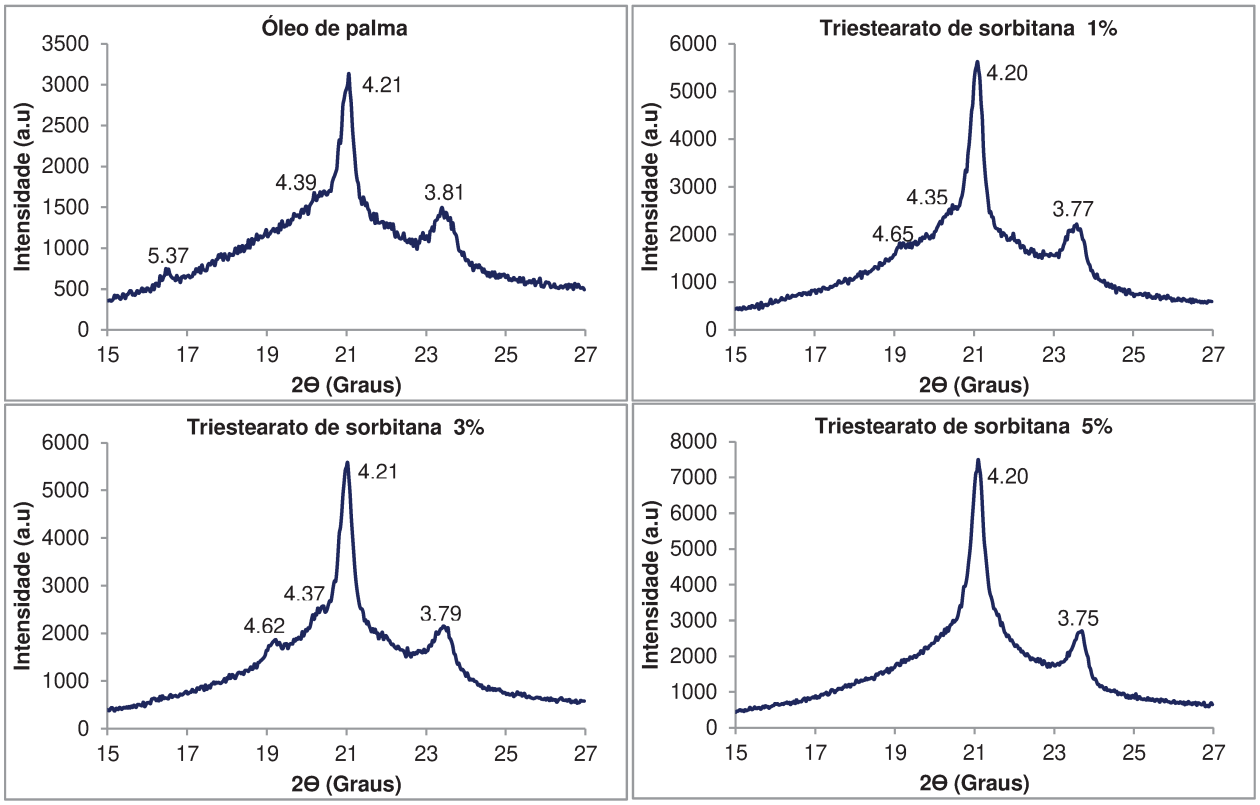


Figura 9. Padrões de difração de Raios-X do óleo de palma e de sua mistura com triestearato de sorbitana nas concentrações de 1%, 3% e 5% estabilizadas na temperatura de 25°C.

Quando o STS foi adicionado, algumas mudanças foram observadas nos padrões de difração do óleo de palma. Para a adição de 1% e 3% de STS, surgiu um pico com *short spacing* de 4.60Å, característico do polimorfo β, mas a intesidade dos *short spacings* em 4.20Å e 3.77Å e 3.79Å, foi muito superior a este, indicando maior proporção de β'. Embora trabalhos iniciais indiquem que o STS possa estabilizar a forma β' por impedimento estérico (KROG E LARSSON, 1992), não se observou este fenômeno com a adição de 1% e 3% de STS ao óleo de palma, no entanto, nas condições deste estudo, a adição de 5% de STS foi capaz de estabilizar a forma β' no óleo de palma, que apresentou apenas dois *short spacings* de 4.20Å e 3.75Å (Figura 9). Segundo Rousseau *et al.* (2005) a transição polimórfica β'→β depende de quão bem os TAGs podem reorganizar-se na orientação mais estável. A capacidade do emulsificante para impedir a transição para β, não depende apenas da estrutura química particular, mas também do ajuste estrutural, que permite a interposição do aditivo entre as

moléculas de gordura com minimização de defeitos e formação de ligações de hidrogênio pelos grupos funcionais (ARONHIME SARIG e GARTI, 1988). Neste sentido, pode-se dizer que as concentrações de 1% e 3% não contribuíram com a organização das moléculas de TAG's, não havendo um bom ajuste, enquanto que a adição de 5% de STS o fez.

A maioria dos estudos indica que os ésteres de sacarose são eficientes em retardar a transição polimórfica de β'→β, contudo, não foi possível observar este efeito em nosso trabalho. Embora a adição de ES tenha proporcionado comportamento polimórfico muito similar ao óleo de palma, o mesmo favoreceu a transição de β'→β independente da concentração utilizada (Tabela 8 e Figura 10). Cerdeira *et al.* (2005) também não encontraram mudanças no comportamento polimórfico quando adicionaram ésteres de sacarose (S-170 e P-170) em frações de gordura de leite, contudo, eles identificaram diferenças no sinal dos *long spacings*, indicando mudanças no comprimento da célula unitária e, portanto, no tamanho lamelar. Chaleepa (2010), utilizando éster de sacarose do ácido láurico (L-195) no fracionamento de óleo de coco, verificou aumento no ponto de fusão das misturas com L-195, sugerindo que o aumento na espessura lamelar originou a elevação do ponto de fusão. Na análise de ponto de fusão por RMN (4% de sólidos) do óleo de palma foi verificado um pequeno aumento do ponto de fusão das amostras adicionadas de ES, assim apesar de não haver grandes diferenças no *shot spacings*, existe a possibilidade de que tenham ocorrido mudanças nos *long spacings* das amsotras adicionadas de ES.

Tabela 8. Efeito da adição de ES sobre o polimorfismo do óleo de palma (temperatura de estabilização de 25°C).

Estearato de Sacarose							
Amostras	**Short spacings (Å)**						**Forma Polimórfica**
	5.3	**4.6**	**4.3**	**4.2**	**4.1**	**3.8**	
Óleo de palma	5.37 (vw)		4.39 (vw)	4.21 (s)		3.81 (m)	β'
1%		4.66 (vw)	4.38 (vs)	4.23 (s)	4.12 (vw)	3.80 (m)	β'>>β
3%		4.66 (vw)	4.38 (vs)	4.24 (s)	4.12 (vw)	3.81 (m)	β'>>β
5%		4.66 (vw)	4.39 (vs)	4.23 (s)	4.12 (vw)	3.82 (m)	β'>>β

*Intensidade dos picos: Forte (s); Muito forte (vs); Médio (m); Fraco (w); Muito fraco (vw)

Outros fatores observados foram a maior proporção de óleo líquido e o maior diâmetro dos cristais tanto no óleo de palma quanto nas amostras contendo ES. De acordo com Deman *et al.* (1989) uma complicação no estudo das misturas de gorduras comerciais é a presença de óleo líquido. As gorduras se comportam de forma diferente dependendo da quantidade de óleo líquido presente, e aparentemente o óleo líquido promove a conversão de β'→β em algumas gorduras. Segundo Zhang *et al.*, (2013) o maior diâmetro dos cristais indica uma tendência na formação de cristais β. Esses fatores contribuíram para a instabilidade polimórfica das amostras adicionadas de ES.

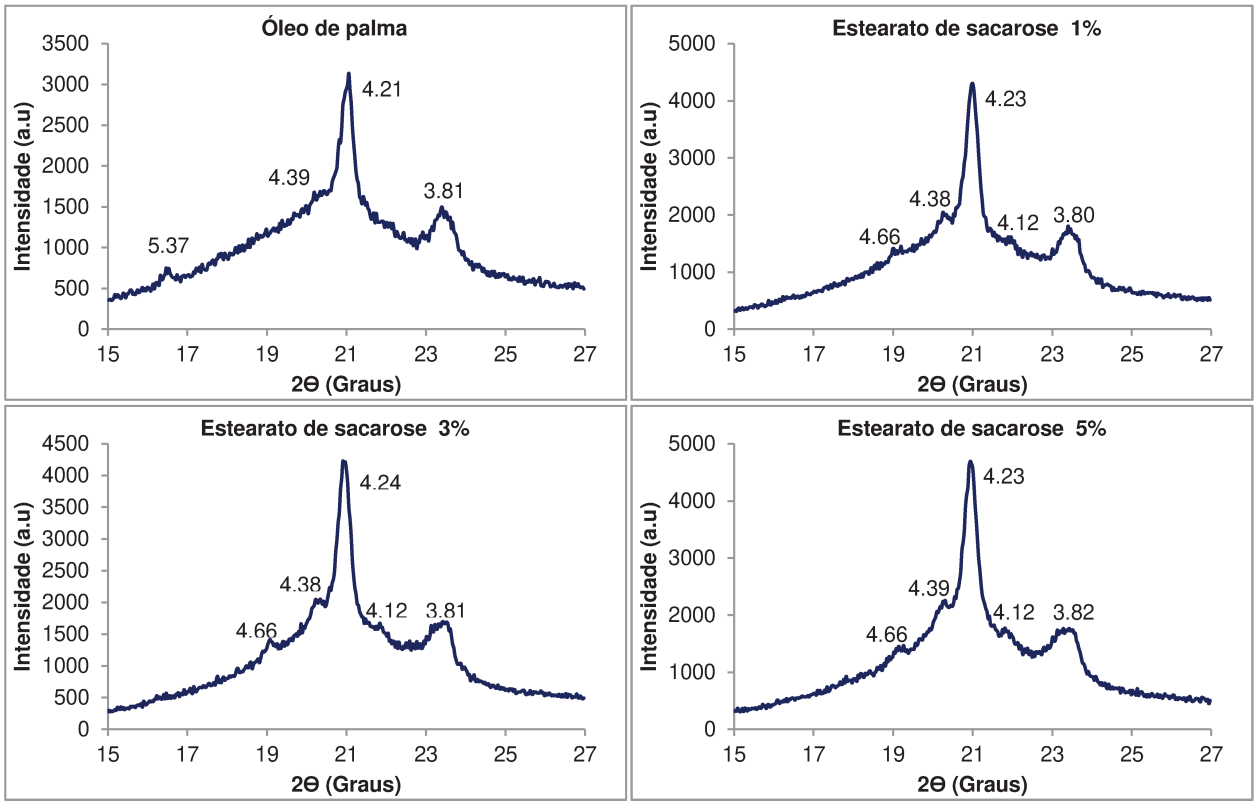


Figura 10. Padrões de difração de Raios-X do óleo de palma e de sua mistura com estearato de sacarose nas concentrações de 1%, 3% e 5% estabilizadas na temperatura de 25°C.

4. Conclusão

Observou-se que a adição dos emulsificantes modificou em parte as propriedades físicas do óleo de palma. A adição de STS ao óleo de palma contribuiu para manutenção de maior teor de sólidos à temperatura ambiente, melhorou a consistência, proporcionou a formação de uma rede mais organizada, com uma grande quantidade de pequenos cristais, resultando em maior estabilidade. Em relação à velocidade de cristalização, os parâmetros de Avrami mostraram que a adição de STS promoveu cristalização mais rápida com nucleação instantânea. O STS também influenciou no comportamento térmico do óleo de palma, acelerando a cristalização, especialmente devido ao seu efeito sobre os TAGs trissaturados (SSS). Nos eventos de fusão foi verificado que a adição de 5% de STS estabilizou a forma β', que é o polimorfo preferencial para o óleo de palma.

A adição de ES proporcionou pequenas mudanças nas propriedades físicas do óleo de palma. Observou-se grande diferença em relação ao ponto de fusão por RMN e também nos diagramas de compatibilidade, onde na presença de ES o óleo de palma não apresentou resistência em cristalizar. Estruturalmente, a adição de ES promoveu a formação de uma rede cristalina pouco desenvolvida e organizada, e apesar disso, verificou-se que a adição de ES aumentou a consistência do óleo de palma. Estes resultados apontam para uma possível aplicação do ES como coadjuvante no processo de fracionamento. Em relação a velocidade de cristalização, o ES proporcionou uma cristalização mais rápida, mas a adição de 1% e 3% resultou em uma nucleação mais esporádica, assim como no óleo de palma. Particularmente para a adição de ES, a interpretação das curvas de fusão foi mais difícil, devido à sobreposição dos eventos. O comportamento polimórfico do óleo de palma na presença de ES favoreceu a transição β'→β, não havendo a estabilização de um polimorfo preferencial.

5. Referencias bibliográficas

AINI, I.N. MISKANDAR, M.S. Utilization of palm oil and palm products in shortenings and margarines. **European Journal Lipid Science and Technology**, special issue: palm oil, 2007, v. 109, n. 4, p. 422–432.

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

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

BASSO, R.C.; RIBEIRO, A.P.B.; MASUCHI, M.H.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L.A.G.; SANTOS, A.O.; CARDOSO, L.P.; GRIMALDI, R. Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. **Food Chemistry**, 2010, v. 122, n. 4, p. 1185–1192.

BRAIPSON-DANTHINE, Sabine; GIBON, Véronique. Comparative analysis of triacylglycerol composition, melting properties and polymorphic behavior of palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2007, v. 109, n. 4, p. 359-372.

CHEN, C. W.; LAI, O. M.; GHAZALI, H. M.; CHONG, C. L. Isothermal crystallization kinetics of refined palm oil. **Journal American Oil Chemists Society**, 2002, v. *79*, n.4, p 403–410.

CHE MAN, Y.B. *et al*. A study on the crystal structure of palm oil-based whipping cream. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 2003, v.80, p.409-415.

CHONG, C.L. *et al*. Thermal and structural behavior of crude palm oil: crystallization at very slow cooling rate. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 2007, v.109, p.410-421.

CALLIAUW, G.; GIBON, V.; GREYT, W.; PLEES, L.; FOUBERT, I.; DEWETTINCK, K. Phase Composition During Palm Olein Fractionation and its Effect on Soft PMF and Superolein Quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2007, v. 84, n. 9, p. 885–891.

CALLIAUW, G.; GIBON, V.; GREYT, W. Principles of palm olein fractionation: a bit of science behind the technology. **Lipid Technology**, 2007, v. 19, n. 7, p. 152-155.

CALLIAUW, G.; FREDRICK, E.; GIBON, V.; GREYT, W.; WOUTERS, J.; FOUBERT, I.; DEWETTINCK, K. On the fractional crystallization of palm olein: Solid solutions and eutectic solidification. **Food Research International**, 2010, v. 43, n. 4, p. 972–981.

CAMPOS, R., NARINE, S.S., MARANGONI, A.G. Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. **Food Research International**, VOL. 35, N. 10, P. 971-981, 2002.

CERDEIRA, M., PASTORE, V., VERA, L. V., MARTINI, S., CANDAL, R. J.; HERRERA, M. L. Nucleation behavior of blended high-melting fractions of milk fat as affected by emulsifiers. **European Journal Lipid Science and Technology**, 2005, v. 107, n. 12, p. 877–885.

CHALEEPA, K., SZEPES, A., ULRICH, J. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, 2010, v. 163, N. 4-5, P. 390-396.

CHAPMAN, G.M.; AKEHURST, E.E.; WRIGHT, W.B. Cocoa butter and confectionery fats. Studies using programmed temperature X-ray diffraction and differential scanning calorimetry. **Journal of the American Oil Chemists Society**, 1971, v. 48, n. 12, p. 824-830,.

DEMAN, L.; DEMAN, J.M.; BLACKMAN, B. Polymorphic behavior of some fully hydrogenated oils and their mixtures with liquid oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1989, v. 66, n. 12, p. 1777-1780.

DEWETTINCK, K., FOUBERT, I., BASIURA, M., GODERIS, B. Phase behaviour of cocoa butter in a two-step isothermal crystallization. **Crystal Growth and Design**, 2004, v. 4, n. 6., p. 1295–1302.

FOUBERT, M.; DEWETTINCK, K.; VANROLLEGHEM, P.A. Modelling of the crystallization kinetics of fats. **Trends in Food Science & Technology,** 2003, v. 14, n. 3, p. 79–92.

GARBOLINO, C.; BARTOCCINI, M.; FLÖTER, E. The influence of emulsifiers on the crystallisation behaviour of a palm oil-based blend. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2005, v. 107, n. 9, p. 616-626.

GARTI, N.; YANO, J. The Roles of Emulsifiers in Fat Crystallization. In: Crystallization Processes in Fat and Lipid systems Ed. Gartin; N.; Sato, K., **Marcel Dekker, Suiça** (2001), p. 211-250.

GARTI, N. Effects of surfactants on crystallization and polymorphic transformation of fats and fatty acids. In: **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. Ed. Garti, N.; Sato, K., Marcel and Dekker, Inc., New York, NY. (1988), p. 267–300,.

GARTI, N. Food emulsifiers: Structure-reactivity relationships, design, and applications. In **Physical Properties of Lipids** (A.G. Marangoni and S.S. Narine, eds.), Marcel and Dekker, Inc., NewYork, NY, (2002), p. 265–340

GOH, E. M.; KER, T. H. Relationship between slip melting point and pulsed NMR data of palm kernel oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1991, v. 68, n. 3, p. 144-146.

GIBON, V. Fractionation of lipids for use in food. F.D. Gunstone (Ed.), **Modifying Lipids for Use in Food**, CRC Press, Boca Raton, FL, (2006) pp. 201–233.

HERRERA, M.L.; ROCHA, F.J.M. Effects of sucrose ester on the kinectics of polymorphic transition in hydrogenated sunflower oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1996, v. 73, n. 3, p. 321-326.

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

IBRAHIM, Mohammad. Effect of sucrose polyesters and sucrose polyester-lecithins on crystallization rate of vegetable ghee. In: **Crystallization and solidification properties of lipids**, (2001), p. 87.

KAWAMURA, K. The DSC thermal analysis of crystallization behavior in palm oil II. **Journal of American Oil Chemists' Society**, 1980, v.57, p.48-52.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, 2004, v. 218, n. 3, p. 224-229.

KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; GREYT, W. Palm oil fractionation. **European Journal Lipid Science Technology**, 2007, v. 109, n. 4, p. 336–349.

KROG, Niels J. Food emulsifiers and their chemical and physical properties. **FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-**, (1997), p. 141-188,.

KROG N, LARSSON K. Crystallization at interfaces in food Emulsions: a general phenomenon. **Fat Sci Technol**, 1992, v 94, p 55–57.

LITWINENKO, J. W., ROJAS, A. M., GERSCHENSON, L. N., & MARANGONI, A. G. Relationship between crystallization behavior, microstructure, and mechanical properties in a palm oil-based shortening. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2002, v. 79, n. 7, p. 647-654.

LIU, Y., MENG, Z., SHAN, L., JIN, Q., & WANG, X. Preparation of specialty fats from beef tallow and canola oil by chemical interesterification: physico-chemical properties and bread applications of the products. **European Food Research and Technology**, 2010, v. 230, n. 3, p. 457-466,.

MARTINI, S.; HERRERA, M.L. Physical properties of shortenings with low-trans fatty acids as affected by emulsifiers and storage conditions. **European Journal Lipid Science and Technology**, 2008, v. 110, n. 2, p. 172–182.

MARTINI, S.; PUPPO, M.C.; HARTEL, R.W.; HERRERA, M.L. Effect of Sucrose Esters and Sunflower Oil Addition on Crystalline Microstructure of a High-melting Milk Fat Fraction. **Journal of Food Science**, 2002, v. 67, n. 9, p. 3412–3418,.

MARANGONI, ALEJANDRO G. et al. **Crystallization kinetics**. Marcel Dekker: New York, NY, USA, (2005).

MÁRQUEZ-RUIZ G, JORGE N, MARTÍN-POLVILLO M, DOBARGANES MC. Rapid, quantitative determination of polar compounds in fats and oils by solid-phase extraction and size-exclusion chromatography using monostearin an internal standard. **J Chromatography A**, 1996, v. 749, p. 55-60,.

MCGAULEY, S.E.; MARANGONI, A.G. Static Crystallization behavior of cocoa butter and its relationship to network microstructure. **Physical properties of lipids. New York: Marcel Dekker**, (2002), p. 85-123.

MENG, Z., LIU, Y., SHAN, L., JIN, Q., WANG, F., & WANG, X. Specialty fats from beef tallow and canola oil: establishment of reaction conditions, characterization of products, and evaluation of crystal stability. **Food Biophysics**, 2011, v. 6, n. 1, p. 115-126.

MISKANDAR, M.S.; CHE MAN, Y.B.; ABDUL RAHMAN, R.; NOR AINI, I.; YUSOFF, M.S.A. Effects of emulsifiers on crystal behavior of palm oil blends on slow crystallization. **Journal of Food Lipids**, 2007, v. 14, n. 1, p. 1–18.

MIURA, S.; KONISHI, H. Crystallization behavior of 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol and 1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-glycerol. **European Journal of Lipid Science and Technology**, 2001, v. 103, n. 12, p. 804-809.

PODCHONG, P.; SONWAI, S.; ROUSSEAU, D. Early-stage Crystallization of Cocoa Butter Influenced by Different Emulsifiers. In: 103rd AOCS Annual Meeting, San Francisco 2012.

RIBEIRO, A.P.B.; BASSO, R.C.; GRIMALDI, R., GIOIELLI, L.A., GONÇALVES, L.A.G. Instrumental methods for the evaluation of interesterified fats. **Food Anal. Method**, 2009, n. 2, 282-302.

ROUSSEAU, D. *et al*. Regulating the $\beta' \rightarrow \beta$ polymorphic transition in food fats. **Journal of American Oil Chemists' Society**. 2005, Champaign, v.82, p.7-12.

SMITH, K.W. Crystallization of Palm Oil and Its Fractions. In: **Crystallization Processes in Fat and Lipid systems**. Ed. Garti; N.; Sato, K., Marcel and Dekker, Inc., Suiça, (2001), p. 357-380.

SULAIMAN, M.Z.; SULAIMAN, N.M.; KANAGARATNAM, S. Triacylglycerols responsible for the onset of nucleation during clouding of palm olein. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1997, v. 74, n. 12, p. 1553-1558.

SUPAPHOL, P.; SPRUIELL, J.E. Application of the Avrami, Tobin, Malkin and simultaneous Avrami macrokinetic models to isothermal crystallization of syndiotactic polypropylene. **Journal of Macromolecular Science Physics**, B, 2000, v. 39, n. 2, p. 257–277.

SIEW, WAI-LIN; NG, WEE-LAM. Effect of diglycerides on the crystallisation of palm oleins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 1996, v. 71, n. 4, p. 496-500.

SWE, P. Z., MAN, Y. C., GHAZALI, H. M., & WEI, L. S. Identification of major triglycerides causing the clouding of palm olein. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 1994, v. 71, n. 10, p. 1141-1144.

SIEW, WAI LIN. Palm oil. **Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses** , 2002, p. 59.

TANAKA, L.; MIURA, S.; YOSHIOKA, T. Formation of granular crystals in margarine with excess amount of palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society,** 2007. Champaign, v.84, p.421-426.

VAN DAM, P; HOGERVORST, W.; KAMP, F. **Fractionation of triglyceride oils**. WIPO Patent n. 1996031580, 11 out. 1996.

WALSTRA, P. Soft solids. **Physical Chemistry of Foods**, 2003, p. 683-771.

WRIGHT, A. J., HARTEL, R. W., NARINE, S. S., & MARANGONI, A. G. The effect of minor components on milk fat crystallization.. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 2000, v. 77, n. 5, p. 463-475.

WEYLAND M. Emulsifiers in confectionery. In: Hasenhuettl GL, Hartel RW, editors. **Food emulsifiers and their applications**. New York: Chapman & Hall. (1997). p 235-254.

ZHANG, X., LI, L., XIE, H., LIANG, Z., SU, J., LIU, G., & LI, B. Effect of Temperature on the Crystalline Form and Fat Crystal Network of Two Model Palm Oil-Based Shortenings During Storage. **Food and Bioprocess Technology**, 2013, p. 1-14.

Capítulo 5

Modificação das propriedades de cristalização da *soft* PMF pela adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose

Maria Aliciane Fontenele Domingues, Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves

(será submetido para a revista Food Structure)

Modificação das propriedades de cristalização da *soft* PMF pela adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose

Resumo

A fração mediana de palma (*soft* PMF) é obtida a partir do fracionamento da oleína de palma, e contém níveis elevados de TAGs monoinsaturados, sendo considerada uma *commodity* muito utilizada na produção de margarinas. Buscando melhorar a qualidade tecnológica da *soft* PMF, especialmente na adequação do teor de sólidos e consistência, comportamento de cristalização compatível com as aplicações industriais e estabilidade polimórfica, o presente trabalho utilizou os emulsificantes triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES) nas concentrações de 1%, 3% e 5% para estudo dos efeitos sobre as propriedades de cristalização desta fração do óleo de palma. Ambos os emulsificantes influenciaram as propriedades de cristalização da *soft* PMF, alterando propriedades importantes, como teor de sólidos, ponto de fusão, consistência e microestrutura. A adição de STS e ES aumentou a velocidade de cristalização da *soft* PMF e provocou mudanças nos mecanismos de cristalização. A adição de STS indicou a cristalização das formas β' e β, enquanto que a adição de ES indicou atraso na transição β'→β.

Abstract

Palm mid fraction (soft PMF) is obtained from the fractionation of palm olein, and contains high levels of monounsaturated TAGs, being considered a commodity widely used in the production of margarine. In attempt to improve the technological quality soft PMF, especially of the solids content and consistency adequacy, crystallization behavior compatible with industrial applications and polymorphic stability. This study used the sorbitan tristearate (STS) and sucrose stearate (ES) at concentrations of 1%, 3% and 5% to evaluate the their effects on the crystallization properties of this fraction of palm oil. Both emulsifiers influenced the crystallization properties of soft PMF, changing important properties, such as solids content, melting point, consistency, and microstructure. The addition of STS and ES increased the crystallization rate of soft PMF and caused changes in the mechanisms of crystallization. The addition of STS

indicated the crystallization of β' and β forms, while addition of ES indicated delay of β' → β transition.

1. Introdução

O óleo de palma é o mais produzido no mundo (USDA, 2013). Cerca de metade é fracionado para se obter várias frações líquidas (oleínas), estearinas (frações de alto ponto de fusão), e frações medianas (frações com ponto de fusão intermediário) com uma grande variedade de propriedades de fusão (TIMMS, 2007).

A fração mediana do óleo de palma (*soft* PMF) é obtida a partir do fracionamento da oleína de palma, e contém níveis elevados de TAG monoinsaturados. A *soft* PMF é considerada uma *commodity*, sendo muito utilizada na produção de margarinas (GIBON *et al*., 2009), podendo ainda ser fracionada, resultando em uma fração de oleína e outra de *hard* PMF, que serve como uma base para equivalentes de manteiga de cacau (CALLIAUW, GIBON E GREYT, 2007a). A realização do fracionamento da *soft* PMF para obtenção de *hard* PMF implica em maior custo de produção.

Apesar de apresentar valor agregado superior à oleína de palma, a *soft* PMF possui aplicação limitada para uso como gordura especial devido a maior retenção de componentes di-insaturados (SUU-USU) e tri-insaturados (UUU) com influência sobre o conteúdo de gordura sólida (SFC), e a presença de diacilgliceróis (DAG), com efeitos negativos sobre o rendimento de cristalização da gordura especial (KELLENS *et al*., 2007; CALLIAUW, GIBON E GREYT, 2007a; CALLIAUW, GIBON E GREYT, 2007b). Outro fator que complica o uso da *soft* PMF, especialmente em misturas para margarinas, são as propriedades inadequadas de cristalização, tais como baixa taxa de nucleação e formação de cristais granulares durante o armazenamento. Estes cristais são responsáveis pela baixa qualidade sensorial dos produtos (arenosidade) e são formados devido à segregação dos cristais de POP e sua eventual transição polimórfica (β' → β) (LUMOR *et al*., 2008). Acompanhando estes fatores, a *soft* PMF apresenta comportamento polimórfico incomum. A baixas temperaturas foram observadas as formas polimórficas β'2, α e β'1, já na temperatura de 18°C observa-se uma transformação polimórfica de β'1 → β_2-2. Com o aquecimento, os espaçamentos são

deslocados, apresentando polimorfismo em β'. A 30°C, pouco antes da fusão a 31°C, apresenta transformação de fase para a forma β-3 estável, isto provavelmente devido aos polimorfos estáveis do POP e POS. As frações com maior concentração de PLP, não apresentam forma β-3 estável, mas mostram mudança de fase α → β'2, que é mais estável (TIMMS, 1984; BRAIPSON-DANTHINE E GIBON, 2007).

Sabe-se que os emulsificantes são aditivos funcionais de extrema importância na indústria de alimentos, que podem ser utilizados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase gordurosa. O estudo dos efeitos de emulsificantes em sistemas gordurosos é de grande interesse para o melhoramento de bases industriais, particularmente em relação às gorduras para uso em chocolates, confeitaria e panificação. No entanto, o papel destes compostos como modificadores de cristalização em gorduras naturais e comerciais é pouco explorado na literatura técnica (HASENHUETTL, 2008). Neste sentido, buscando melhorar a qualidade tecnológica da *soft* PMF, especialmente na adequação do teor de sólidos e consistência, comportamento de cristalização compatível com as aplicações industriais e estabilidade polimórfica, o presente trabalho utilizou triestearato de sorbitana e estearato de sacarose nas concentrações de 1%, 3% e 5% para estudo dos efeitos sobre as propriedades de cristalização da *soft* PMF.

2. Material e Métodos

2.1.1 Matérias-Primas

A fração mediana de palma (*soft* PMF) foi fornecida pela Fuji Oil Company. Os emulsificantes utilizados no estudo foram triestearato de sorbitana (GRINDSTED STS 30-B-PÓ), HLB 2.1, fornecido pela DuPont (Brasil), e estearato de sacarose em pó (S-370), HLB 3, fornecido pela Mitsubishi-Kagaku Foods (Japão). As proporções utilizadas para ambos os emulsificantes foram 1%, 3% e 5% (m/m).

2.1.2 Preparação das amostras

A *soft* PMF foi aquecida até completa fusão. Em seguida, foram preparadas amostras de *soft* PMF adicionada dos emulsificantes triestearato de sorbitana (STS) nas proporções de 1%, 3% e 5% e estearato de sacarose nas proporções de 1%, 3% e 5%. As misturas de *soft* PMF e emulsificantes foram homogeneizadas até completa dissolução do emulsificante na *soft* PMF.

2.2 Métodos

2.2.1 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi realizada pelo Método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009) em Cromatógrafo em fase gasosa CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, com injetor automático e detector de ionização em chama (FID). O preparo dos ésteres metílicos foi realizado pelo método de Hartman e Lago (1973), e a separação utilizando coluna capilar de sílica fundida DB-23 AGILENT (50% cianopropil-metilpolisiloxano, 60m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). As condições de análise foram: temperatura do forno: 110 °C/5min, 110 °C-215 °C (5 °C/min), 215°C/24min; temperatura do detector: 280 °C; temperatura do injetor: 250 °C; gás de arraste: hélio, razão split 1:50; volume de injeção: 1 µL. A composição qualitativa foi determinada comparando os tempos de retenção de cada pico, com os respectivos padrões de ácidos graxos. O índice de iodo foi calculado a partir da composição em ácidos graxos pelo Método AOCS Cd 1c-85 (AOCS, 2009). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2 Composição Triacilglicerólica

A composição triacilglicerólica foi realizada pelo Método AOCS Ce 5-86 (AOCS, 2009), utilizando cromatógrafo gasoso CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, coluna capilar cromatográfica DB-17 HT AGILENT (50% fenil– metilpolissiloxano, 15m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,15 µm de espessura do filme). As condições cromatográficas foram: injeção split; razão 1:100; temperatura da coluna: 250

°C, programada até 350 °C numa razão de 5 °C/min; gás de arraste: hélio, numa vazão de 1mL/min; temperatura do injetor: 360 °C; temperatura do detector: 375°C; volume de injeção: 1 µL; concentração da amostra: 100mg/5mL de tetrahidrofurano. Os grupos de triacilgliceróis foram identificados por comparação dos tempos de retenção, seguindo os procedimentos descritos por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.3 Quantificação de lipídios minoritários

As amostras foram diluídas na proporção 10 mg em 1 mL de tetrahidrofurano e analisadas (20 µL) em cromatógrafo líquido equipado com injetor Rheodyne 7725i e bomba Waters 510 (Waters Associates, Milford, Mass., USA), com duas colunas Ultrastyragel (100 Å e 500 Å) (Waters Associates, Milford, Mass., USA), 25 cm x 0,77 cm I.D., empacotadas com copolímero de estireno-divinilbenzeno (aproximadamente 10 mm), conectadas em série e com um detector de índice de refração (Hewlett Packard, Califórnia, EUA). Condições: fase móvel: tetrahidrofurano (grau HPLC); fluxo: 1 mL/min; volume injetado: 20,0 µL. As famílias de compostos foram identificadas por comparações dos tempos de eluição com padrões de: triacilgliceróis (TAG), diacilgliceróis (DAG) e monoacilgliceróis (MAG) e ácidos graxos livres (AG) (MARQUEZ-RUIZ, JORGE E DOBARGANES, 1996). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.4 Distribuição regioespecífica

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear, a alta resolução de carbono-13 (C13) de cadeias acila de TAG foi utilizada como um método quantitativo para a análise regioespecífica das amostras. As análises foram realizadas em um espectrômetro de ressonância magnética nuclear (RMN) (Silberstreifen, Rheinstetten, Alemanha), Bruker Advanced DPX 300. A determinação de C13 foi feita a 75,8 MHz com 5 mm de funcionamento da sonda nuclear múltipla, a 30 °C, de acordo com a metodologia descrita por Vlahov (VLAHOV, 1998; VLAHOV, 2005). Os resultados são

dados como composição de ácidos graxos saturados, oleico e linoleico nas posições *sn-2* e *sn-1,3* dos triacilgliceróis. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.5 Conteúdo de gordura sólida (SFC)

Foi determinado utilizando Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, acoplados a banhos secos com faixa de temperatura de 0 °C a 70 °C, Tcon 2000 (Duratech, EUA). Foi utilizado o Método AOCS Cd 16b- 93: método direto com leitura das amostras em série nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 °C, com temparagem para gorduras não estabilizadas (AOCS, 2009). Os diagramas de compatibilidade foram montados baseando-se nos dados de conteúdo de gordura sólida pela proporção de emulsificante em cada temperatura de análise. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.6 Ponto de fusão

Calculou-se o ponto de fusão para a temperatura correspondente ao teor de sólidos igual a 4% obtido da curva de sólidos por RMN (GOH E KER, 1991; KARABULUT *et al*., 2004), através de equações polinomiais ajustadas com auxílio de *softwares* matemáticos.

2.2.7 Consistência

A consistência foi determinada utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT2i (Stable Micro Systems), controlado por microcomputador. As amostras foram totalmente fundidas para destruição do histórico cristalino. Em seguida foram condicionadas a 5°C por 24h e então estabilizadas na temperatura de análise por mais 24h. O condicionamento das amostras foi efetuado em estufa (BIOSYSTEMS) com controle de temperatura, sendo que a análise foi realizada nas seguintes temperaturas 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. Para a análise foi utilizado cone de acrílico com ponta não truncada e ângulo de 45°. As determinações foram realizadas nas seguintes condições: distância de 10 mm; velocidade de 2mm/s; tempo de 5s; em triplicata para cada amostra (RODRIGUES, GIOIELLI, ANTON, 2003). A partir destas condições,

obteve-se a força de compressão em gf. Os dados de penetração foram convertidos em *yield value* conforme (HAIGHTON, 1959)

$$C=\frac{KW}{p^{1,6}},$$

onde C é o *yield value* medido em gf/cm^2, K é o fator dependente do ângulo do cone (igual a 4700, para cone de 45°), W é a força de compressão medida em gf e p é a profundidade de penetração (igual a 10 mm).

2.2.8 Microestrutura

A microestrutura (morfologia e dimensões cristalinas) das amostras foi determinada por microscopia sob luz polarizada. As amostras foram fundidas à temperatura de 70°C em estufa. Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida em temperatura controlada (semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), sendo coberta com uma lamínula. As lâminas foram preparadas em duplicata e cristalizadas a 25°C em estufa (BIOSYSTEMS) por 2h. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus) acoplado a câmara de vídeo digital (Media Cybernetics). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à mesma temperatura de cristalização. As imagens foram capturadas pelo software Image Pro-Plus (Media Cybernetics) versão 7.01, utilizando luz polarizada e com ampliação de 40 vezes. Para cada lâmina foram focalizados três campos visuais, dos quais apenas um foi escolhido para representar os cristais observados (GAMBOA, GIOIELLI, 2006). Os parâmetros de avaliação selecionados para a análise quantitativa das imagens no software Image Pro-Plus foram o diâmetro médio dos cristais e proporção de área cristalizada. Foi utilizado o *software Benoit* 1.3 (*TruSoft* International Inc.) para determinação da dimensão fractal das amostras, pelo método da contagem de caixas.

2.2.9 Visualização da rede tridimensional por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras foram fundidas e colocadas em cápsulas de 15 mL com tampa hermética (AQUALAB). Em seguida foram temperadas por 48h, sendo estabilizadas por

24h a 5 °C, seguindo por mais 24h a 25 °C. Devido a plasticidade das amostras, as cápsulas contendo as amostras foram submersas individualmente em nitrogênio líquido no momento da análise, para ocasionar a quebra das amostras. Em seguida, as amostras foram imediatamente analisadas em microscópio eletrônico de varredura (Hitachi TM-3000), com magnificação de 1000x e voltagem de 15 kV.

2.2.10 Cinética de cristalização

As amostras foram fundidas e mantidas em banho seco a 70 °C para completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado na temperatura de 15 °C. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada minuto, durante 90 minutos na temperatura de 15°C. A caracterização da cinética de cristalização foi realizada segundo o período de indução (t_{SFC}), teor máximo de sólidos (SFC_{max}) e tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami para um modelo multi-componente, empregada para o estudo da cristalização é dada por (MARANGONI, 2005)

$$SFC=SFC_0+\sum_{i=1}^{n} SFC_{max,\,i}\,(1-e^{-k_1 t^{ni}}),$$

onde SFC_0 descreve o conteúdo de gordura sólida inicial, $SFC_{max,i}$ é o i-ésimo conteúdo limite de gordura sólida, k é a constante de Avrami (min^{-n}), que considera tanto a nucleação quanto o crescimento do cristal e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais. O ponto de inflexão da curva de cristalização foi obtido através do cálculo da primeira e segunda derivada a partir dos dados de cristalização isotérmica. Em seguida, o modelo estimado foi ajustado ao modelo real.

2.2.11 Comportamento térmico

A análise térmica das amostras foi realizada por calorimetira diferencial de varredura (DSC) em um equipamento (modelo Q2000 – TA *Instruments*), utilizando o índio (TA *Instruments*) como padrão para calibração.

Foi adicionado de 4mg a 10mg de amostra em panelas herméticas de alumíno. A análise foi realizada de acordo com o Método da IUPAC (1987), que inclui manter as amostras a 0°C durante 90 minutos, depois a 26°C durante 40 horas e em seguida 0°C durante 90 minutos antes da análise por DSC. Os eventos de fusão foram registados por meio de uma taxa de aquecimento de 2°C/min, com uma rampa de aquecimento de -10 a 60ºC.

Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação dos resultados: temperatura *onset* de fusão (T_f), temperatura de fusão máxima e entalpia de fusão (ΔH_f).

2.2.11 Polimorfismo e Difração de Raios-X

A forma polimórfica dos cristais de gordura das amostras foi determinada por difração de Raios-X, segundo o método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2004). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-Bretano (Θ:2Θ) com radiação de Cu-Kα (λ = 1.54056Å, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,02° em 2Θ e tempo de aquisição de 2 segundos, com scans de 15 a 27° (escala 2Θ). As amostras foram fundidas em microondas a aproximadamente 80°C e estabilizadas a 25°C por 24 horas em estufa. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais. Os teores dos diferentes tipos de cristais foram estimados pela intensidade relativa dos *short spacings* (α = 4.15Å; β' = 3.80Å e 4.20Å e β = 4.60Å) (AOCS, 2004; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

5.1.2 Análise estatística

As análises estatísticas para ponto de fusão, diâmetro de cristal e dimensão fractal foram baseadas na análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para determinar as diferenças significativas das médias em um nível de probabilidade de 5% ($p < 0,05$) utilizando Statistica 8.0 (Statsoft, EUA).

3. Resultados e discussão

3.1 Composição química da *soft* PMF

As frações do óleo de palma têm encontrado aplicações importantes na indústria de alimentos devido às propriedades únicas funcionais inerentes a esses produtos. Tais aplicações incluem margarinas, gorduras para panificação e gorduras para confeitaria (DEMAN, 1998). Para entender as propriedades funcionais da fração mediana de palma é imprescindível observar a composição em ácidos graxos e triacilglicerólica, assim como a distribuição regioespecífica dos ácidos graxos na molécula de glicerol (Tabelas 1 e 2).

O fracionamento do óleo de palma permite a obtenção de frações com perfis diferenciados tanto para a composição em ácidos graxos quanto triacilglicerólica. Foram observados quatro ácidos graxos majoritários para a *soft* PMF, ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0), ácido oléico (C18:1) e ácido linoléico (C18:2), havendo maior concentração dos ácidos palmítico (C16:0) e oléico (C18:1), com um índice de iodo de 47, correspondendo aos valores encontrados na literatura técnica para uma *soft* PMF típica (BRAIPSON-DANTHINE E GIBON, 2007). A Tabela 1 também apresenta a composição triacilglicerólica, com uma presença expressiva de triacilgliceróis trissaturados (SSS) com elevado ponto de fusão, representados por tripalmitoil-glicerol (PPP), sn-1-miristoil-3-dipalmitoil-glicerol (MPP) e sn-1-2-dipalmitoil-3-stearoilglicerol (PPS), que influenciam na cristalização do óleo e da oleína de palma (SULAIMAN *et al.,* 1997; BASSO *et al*., 2010). O tiracilglicerol PPP, em especial, atua como agente de semeadura, acelerando a cristalização, por promover a cristalização do POP (SMITH *et al*., 2005; VEREECKEN *et al*., 2009; VEREECKEN *et al*.; 2010). Contudo, um conteúdo de 2% de PPP na *soft* PMF, pode causar a formação de cristais com elevado ponto de fusão, com aspecto arenoso e que são indesejáveis no produto final (CALLIAUW, GIBON E GREYT, 2007a).

Tabela 1. Composição em ácidos graxos e triacilglicerólica da *soft* PMF.

Ácidos graxos	Composição (%m/m)	TAG	Composição (%m/m)
C12:0 – ácido láurico	0,25± 0,00	MPP	0,50 ± 0,01
C14:0 – ácido mirístico	1,03 ± 0,01	PPP	2,01 ± 0,02
C16:0 – ácido palmítico	47,52 ± 0,05	MOP	2,01 ± 0,17
C16:1 – ácido palmitoléico	0,14 ± 0,02	PPS	13,26 ± 0,01
C17:0 – ácido margárico	0,14 ± 0,02	POP	36,2 ± 0,10
C18:0 – ácido esteárico	4,75 ± 0,00	PLP	7,94 ± 0,12
C18:1- ácido oléico	38,14 ± 0,02	POS	4,41± 0,04
C18:2 – ácido linoléico	6,87 ± 0,00	POO	20,05 ± 0,03
C18:3 – ácido linolênico	0,12 ± 0,02	POL	5,28 ± 0,04
C20:0 – ácido araquídico	0,37 ± 0,00	PLL	0,97 ± 0,06
C20:1 – ácido gadoleico	0,11 ± 0,02	SOO	2,52 ± 0,00
C22:0 – ácido behênico	0,08 ± 0,00	OOO	3,57 ± 0,03
C24:0 – ácido lignocérico	0,09 ± 0,00	OOL	1,04 ± 0,03
		OLL	0,20 ± 0,03
Diacilgliceróis	4,26 ± 0,03		
Ácidos graxos saturados	54,22	SSS	15,76
Ácidos graxos insaturados	45,37	SUS	50,56
Índice de iodo (IV)	47	SUU+UUU	33,62

*M (ácido misrístico); P (ácido palmítico); S (ácido esteárico); O (ácido oléico); L (ácido linoléico).
*SSS (trissaturados); SUS (dissaturados); SUU (monossaturados); UUU (triinsaturados).

Embora o processo de fracionamento concentre os diacilgliceróis (DAGs) na oleína de palma, a *soft* PMF ainda apresentou 4,26% de DAGs, que influenciam negativamente as propriedades de cristalização. Sabe-se que os DAGs interagem com os TAGs e como resultado da sua incompatibilidade parcial, inibem ou retardam a cristalização, e em seguida, reduz sua taxa. Em adição, a Tabela 1 mostra que durante o fracionamento do óleo de palma ocorreu uma maior retenção da fase líquida, indicada pela presença expressiva de triacilgliceróis SUU e UUU, que assim como os DAGs também são responsáveis por retardar a cristalização, reduzindo o desempenho tecnológico da *soft* PMF quando comparada com a *hard* PMF (KELLENS, 2001).

Os triacilgliceróis POP e POO representaram mais de 50% dos TAGs da *soft* PMF. O predomínio destes dois triacilgliceróis e a interação entre eles resulta em características indesejáveis nos produtos baseados em óleo de palma, como a

formação de aglomerados cristalinos (MIURA E KONISHI, 2001 E MIURA, *et al*., 2002). Por outro lado, observa-se alto teor de triacilgliceróis simétricos (SUS), especialmente de POP, que responde por propriedades tecnológicas importantes, como a fusão intensa nas temperaturas entre 30 °C e 35 °C, conduzindo a um derretimento rápido na boca. A presença dos triacilgliceróis simétricos tem grande efeito sobre as propriedades físicas das gorduras. Na fração mediana de palma, os triacilgliceróis simétricos foram representados por POP, PLP, POS e MOP.

A Tabela 2 apresenta os dados de regioespecificidade dos ácidos graxos presentes na *soft* PMF obtidos por RMN de C-13. Evidencia-se que os ácidos oleico e linoleico estão localizados principalmente na posição *sn-2* da molécula de triacilglicerol, o que torna a *soft* PMF uma gordura especial, bastante similar à manteiga de cacau. De acordo com Afowaka (2010), os triacilgliceróis simétricos da manteiga de cacau dominam a cristalização e as transformações polimórficas, proporcionando ao chocolate propriedades sensoriais incomuns.

Tabela 2. Distribuição regioespecífica dos ácidos graxos oleico, linoleico e saturados da *soft* PMF.

Posição	Ácidos graxos saturados	Ácido oléico	Ácido linoléico
Sn-1,3	79,83±0,06	17,73±0,12	2,43±0,06
Sn-2	12,41±0,13	73,98±0,11	13,61±0,03

3.2 Efeito da adição dos emulsificantes sobre o perfil de sólidos da *soft* PMF

A Figura 1 apresenta o perfil de sólidos da *soft* PMF e das misturas com os emulsificantes triestearato de sorbitana (STS) e estearato de sacarose (ES) nas proporções de 1%, 3% e 5%. Foi observado que a adição de STS provocou a redução do teor de sólidos da *soft* PMF a partir da temperatura de 20 °C, atuando como um inibidor de cristais. Estes resultados estão de acordo com Miskandar *et al*. (2007), que mostraram uma tendência de inibição do crescimento de cristais no óleo de palma a partir da adição de baixas concentrações de STS. Garti (1988) também verificou efeito inibidor de cristais do STS para margarinas a base de óleo de girassol. Por outro lado, a

adição de ES modificou ligeiramente o teor de sólidos da soft PMF nas temperaturas abaixo de 30 °C, contudo, acima desta temperatura, as concentrações de 3% e 5% de ES apresentaram teor de sólidos maior que 4%. Considerou-se que estes resultados vão além das características distintas de cada emulsificante, STS e ES, principalmente em relação à porção hidrofílica (sorbitol e sacarose) e atribuiu-se estes efeitos a interação dos emulsificantes com a composição especial da *soft* PMF.

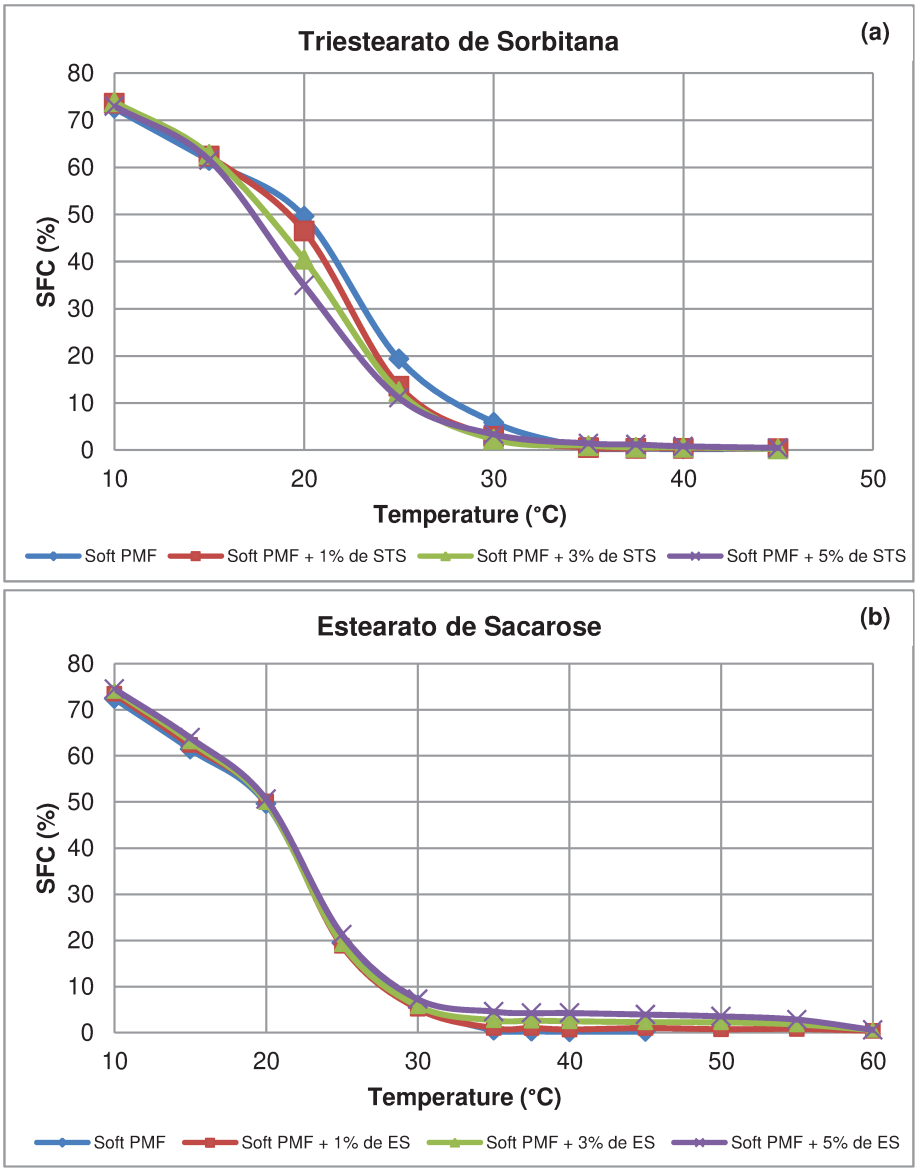


Figura 1. Conteúdo de gordura sólida da soft PMF e das misturas com STS e ES.
*STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose)

A *soft* PMF apresentou baixa proporção de fase líquida contínua e a maior proporção de triacilgliceróis simétricos, o que pode ter facilitado a ação inibidora do STS ou mesmo o baixo efeito do ES sobre o conteúdo de gordura sólida. Uma possível interação do STS com PLP pode ter resultado no atraso da formação de sólidos, uma vez que o PLP cristaliza preferencialmente ao POP nas gorduras base palma (TIMMS, 1984). Outra observação importante é o efeito que o STS apresenta sobre a PPP e ácidos graxos de cadeia média (C12 e C14) (GARTI *et al*., 1988). De acordo com Chapman *et al*, (1971) o STS estabiliza a forma α da tripalmitina (PPP), resultando no atraso da cristalização. Como anteriormente, o PPP influencia a cristalização do POP, desencadeando o processo de cristalização em massa das gorduras base palma. Desta forma, a adição de STS pode ter interferido no desempenho do PPP como agente de semeadura, o que pode ter conduzido ao menor teor de sólidos das amostras adicionadas de STS. O atraso no processo de formação de cristais de gordura pode ser uma solução em processos industriais onde este efeito é desejado. No caso das gorduras base palma, a estabilidade dos produtos é comprometida devido ao crescimento indesejável no tamanho dos cristais e consequente formação de aglomerados. Desta forma, o uso de STS tem um efeito positivo, evitando a formação de aglomerados cristalinos na gordura e nos produtos derivados.

Em relação ao efeito do ES, um comportamento similar foi verificado quando se adicionou lecitina de soja (HLB 3,6; 6 e 7) ao óleo de palma, havendo pequeno aumento de sólidos nas temperaturas de 10 °C e 40 °C (CORREA *et al*., 2011). De acordo com Nelen e Cooper (2004), os ésteres de sacarose com baixo HLB podem ser usados efetivamente como alternativas à lecitina de soja na produção de chocolates e produtos de confeitaria, pois reduzem a viscosidade da massa de chocolate e são eficazes como dispersante de gorduras nas concentrações de 5 a 10%.

3.3 Diagramas de compatibilidade e ponto de fusão

O ponto da fusão (PF) da *soft* PMF foi representado principalmente pelos triacilgliceróis com ponto de fusão intermediário (SUS) e aqueles com baixo ponto de fusão (SUU). Os triacilgliceróis PLP, POS e POP, caracterísiticos das frações medianas de palma, apresentam ponto de fusão entre 35,3 °C - 41,2 °C (Tabela 3). Já o ponto de

fusão dos triacilgliceróis PLO, POO e SOO, situa-se ao redor de -2,8 °C, 19,2 °C e 23,7 °C respectivamente, e estes componentes são líquidos à temperatura ambiente (BOCKISCH, 1998). No entando, a presença dos triacilgliceróis trissaturados, foi o que realmente elevou o ponto de fusão das gorduras, neste caso o PPP, PPS e MPP com pontos de fusão de 67 °C, 62.9 °C e 59 °C, respectivamente (SULAIMAN *et al*., 1997). Corroborando com o perfil de sólidos das misturas, o ponto de fusão foi menor para as amostras contendo STS e maior para as amostras adicionadas de ES (Tabela 3). A redução do PF com a adição de STS pode ser devido ao atraso da cristalização dos TAGs trissaturados (SSS) presentes na *soft* PMF. Por outro lado, atribui-se o aumento do PF nas misturas contendo ES ao próprio emulsificante, visto que o mesmo apresenta PF maior que os TAGs majoritários da *soft* PMF. De acordo com Tan *et al.* (1981), as frações medianas de palma apresentam uma faixa de fusão entre 23 °C a 40 °C, situando os valores encontrados de acordo com a literatura.

Tabela 3. Perfil de fusão da *soft* PMF e das misturas com STS e ES

Amostras	**Ponto de fusão (°C)**
Soft PMF	33,53 ± 0,04[a]
Soft PMF + 1% de STS	32,46 ± 0,04[b]
Soft PMF + 3% de STS	31,88 ± 0,06[c]
Soft PMF + 5% de STS	31,53 ± 0,03[d]
Soft PMF + 1% de ES	33,61 ± 0,00[a]
Soft PMF + 3% de ES	34,16 ± 0,07[e]
Soft PMF + 5% de ES	35,13 ± 0,11[f]

*STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

De acordo com Timms (2003), os diagramas de compatibilidade são indicativos de interações sólidas positivas ou negativas em misturas. A Figura 2 apresenta os diagramas de compatibilidade das misturas de *soft* PMF com STS e *soft* PMF com ES nas temperaturas de 10 °C a 30 °C. Observou-se que nas temperaturas mais baixas (10 °C e 15 °C) houve um pequeno aumento no teor de sólidos das amostras com STS, indicando um efeito positivo da interação do STS com a PMF nestas temperaturas. Por

outro lado, a 20 °C houve uma queda acentuada no teor de sólidos da *soft* PMF adicionada de STS (Figura 2a). Uma explicação para este efeito seria o fato de que na temperatura de 20 °C, a maioria dos emulsificantes atrasa o início da cristalização das gorduras base palma, devido a mudanças no ponto de turvação, ou resistência à cristalização (SMITH, 2000). Apesar da redução do teor de sólidos e consequente redução do ponto de fusão da *soft* PMF adicionada de STS a 20 °C, a mesma não perde suas características tecnológicas, pois manteve mais de 30% de sólidos nesta temperatura para todas as concentrações de STS, o que lhe confere boa resistência a exsudação de óleo. De igual modo, nas temperaturas de 25 °C e 30 °C foi verificado a mesma tendência na redução de sólidos. Sulaiman *et al.* (1997), identificaram o PPP, MPP e PPS, como sendo os responsáveis pela turvação, a temperaturas relativamente elevadas (30 °C) e tempos curtos (24h). Estes resultados estão condizentes, considerando que o STS retarda a cristalização destes triacilgliceróis e consequentemente, menos sólidos destes triacilgliceróis estariam presentes nestas temperaturas. Sugere-se neste caso, que a redução de sólidos esteve relacionada às interações do STS com os TAGs simétricos da PMF, pois segundo Swe *et al.* (1994) tanto o POP quanto o POS estariam envolvidos no processo de turvação dos óleos e gorduras base palma.

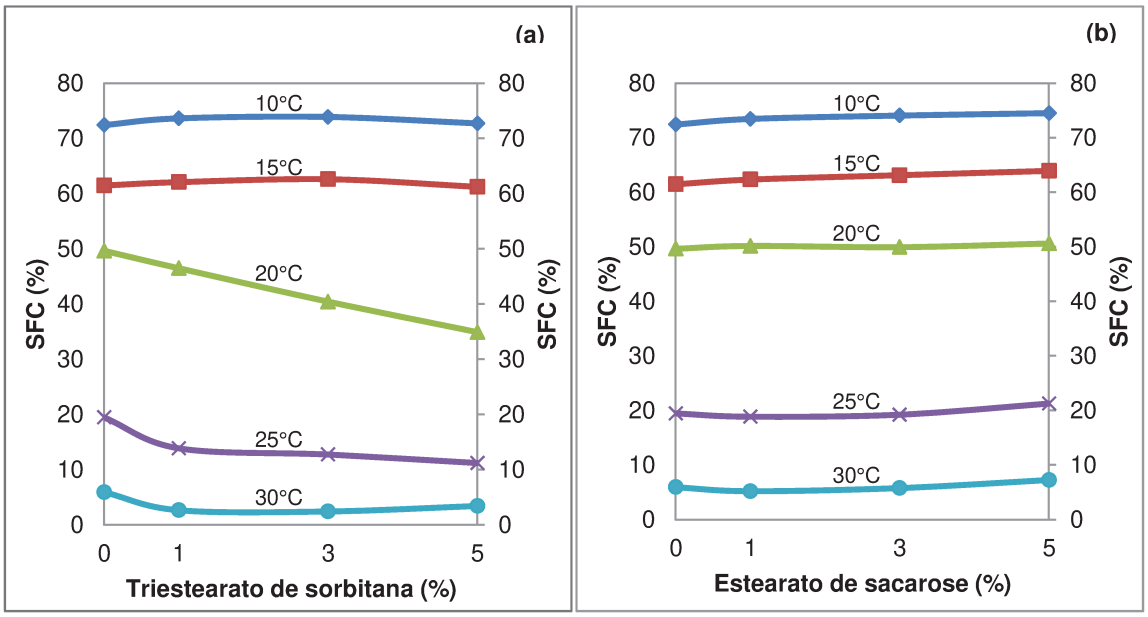


Figura 2. Diagramas de compatibilidade das misturas *soft* PMF/STS (a) e *soft* PMF/ES (b) *STS (triestearato de sorbitna); ES (estearato de sacarose)

Analisando os diagramas de compatibilidade para a mistura *soft* PMF com ES (Figura 2b), observa-se um comportamento similar a adição de STS, contudo, menos evidente. A adição de 3% de ES causou uma pequena diminuição do teor de sólidos a 20°C. Já nas temperaturas de 25°C e 30°C a adição de 1% e 3% de ES apresentou pequena redução no teor de sólidos da *soft* PMF, indicando talvez, uma pequena ação inibidora do ES nestas temperaturas e concentrações sobre os triacilgliceróis PPP, MPP e PPS da fração mediana de palma, visto que de acordo com Nelen e Cooper (2004), em determinadas bases gordurosas, os ésteres de sacarose também podem atuar como inibidores de cristais.

3.4 Efeito da adição dos emulsificantes sobre a consistência da *soft* PMF

A consistência é uma das características mais importante dos produtos baseados em gordura, sendo determinada pelas propriedades físicas dos óleos e gorduras utilizados. Gorduras especiais, como a fração mediana de palma, são amplamente utilizadas na indústria de alimentos para aplicações onde específicas propriedades físicas ou químicas são essenciais. A maioria dos produtos de confeitaria, por exemplo, têm um alto teor de gordura e, como resultado, a consistência e comportamento de fusão na boca são críticos (PANTZARIS E BASIRON, 2002).

Analisando os gráficos apresentados na Figura 3 foi possível observar que ambos os emulsificantes STS e ES contribuíram para melhorar a consistência da soft PMF, especialmente nas temperaturas de 20°C e 25°C. Contudo, a 30°C os valores de consistência foram inexpressivos (variando de 40 gf/cm^2 a 90 gf/cm^2), não sendo visualizados no gráfico. A consistência da *soft* PMF a 25°C está ao redor de 600 gf/cm^2, enquanto que com a adição de STS situa-se entre 1000 gf/cm^2 e 2300 gf/cm^2 e com a adição de ES esses valores são ainda maiores, estando entre 2250 gf/cm^2 a 4700 gf/cm^2. Na temperatura de 10°C, a adição de STS na PMF contribuiu com um aumento expressivo na consistência na seguinte ordem 1% > 3% > 5%. Este resultado foi contrário aos valores de consistência nas demais temperaturas, em que a PMF adicionada de 3% de STS apresentou maior dureza. Para o ES, em todas as temperaturas, a adição de 1%, 3% e 5% resultou em valores de consistência muito próximos. A redução acentuada a 25°-30 °C é atribuída à quantidade elevada de

triacilgliceróis simétricos (POP, PLP, POS) presentes na *soft* PMF (Nusantoro, 2009). Em adição, considera-se que a maior proporção de triacilgliceróis com 50 e 52 carbonos é indicativo da formação de cristais β' (DEMAN, 1998), caracterizados por uma textura macia e fusão rápida.

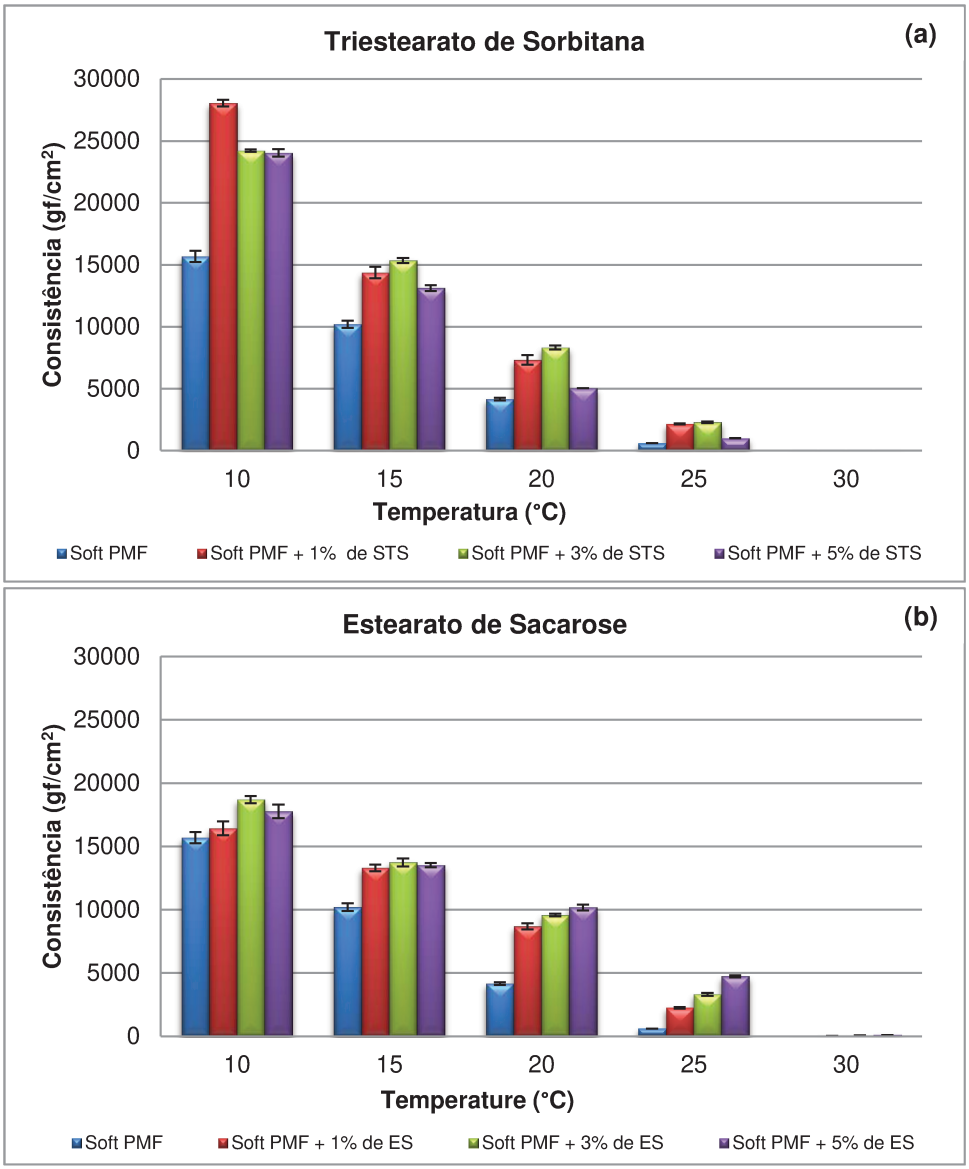


Figura 3. Valores de consistência das amostras de soft PMF e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose).

Observamos que os valores apresentados pelo SFC não corresponderem aos resultados de dureza das misturas de *soft* PMF com STS e *soft* PMF com ES. Segundo

Marangoni e Ollivon (2007), a rede cristalina gerada a partir da interação dos diferentes componentes mostrou ter influência direta sobre a consistência das gorduras. Assim, sugere-se que a variabilidade da dureza para as amostras foi devido às diferentes estruturas formadas durante a cristalização das misturas de *soft* PMF com STS ou ES.

3.5 Efeito da adiçao dos emulsificantes sobre microestrutura da *soft* PMF

O conceito de microestrutura deve incluir informações sobre o estado, quantidade, forma, tamanho, relação espacial, e interação de todos os componentes (sólidos, líquidos, etc) em um sistema. Para sistemas lipídicos, SFC, polimorfismo, morfologia, tipo de ligações entre as partículas cristalinas e a força relativa das ligações intracristalinas e intercristalinas são características microestruturais que afetam as propriedades macroscópicas (SHI *et al.*, 2005). Na Figura 5, visualiza-se melhor a ação dos emulsificantes sobre os TAGs da PMF. Os cristais verificados na microestrutura foram formados pela cristalização dos TAGs de alto ponto de fusão e aqueles de ponto de fusão intermediário, enquanto a fase líquida onde os cristais estavam dispersos foi formada pelos TAGs de baixo ponto de fusão. Foi observado que a adição de 3% e 5% de STS favoreceu o desenvolvimento de cristais com diâmetros menores (aproximadamente 4 μm), mais uniformes e melhor distribuídos, resultando em uma menor procentagem de área cristalizada. Por outro lado, com a adição de 1% de STS, foram obtidos cristais com diâmetros maiores (6,03 μm) e maior proporção de área cristalizada (Tabela 4). Com a adição de 1%, 3% e 5% de ES, o aumento no diâmetro dos cristais foi proporcional às concentrações de ES incorporadas, sendo de 5,48 μm 5,86 μm e 9,61 μm, respectivamente. Apesar de não serem observadas diferenças na proporção de área cristalizada, a morfologia da rede cristalina formada pelas concentrações de ES foi bastante diferente.

O STS atuou atrasando a cristalização dos TAGs de alto ponto de fusão, apresentando uma fase contínua maior que para a adição de ES. A fase contínua é responsável por ligar as partículas cristalinas dispersas, e a resistência das ligações entre a fase contínua e os cristais influencia na força da rede cristalina e, portanto, nas propriedades macroscópicas do sistema. De acordo com Shi *et al.* (2005) e Wiking *et al.* (2009) a natureza das ligações intra e entre as particulas cristalinas afetam a

microestrutura de lipídios, podendo ser vagamente dividida em dois tipos diferentes, microestrutura móvel ou imóvel.

Tabela 4. Número de cristais, diâmetro médio (µm), dimensão fractal (D_b) e porcentagem de área cristalizada da *soft* PMF sem e com emulsificantes analisada na temperatura de 20°C

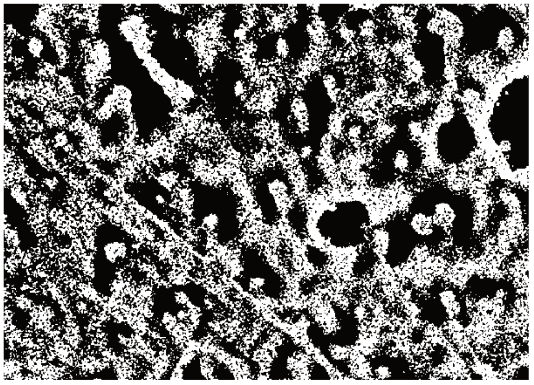
Amostras	Número de cristais	Diâmetro médio (µm)	Dimensão Fractal (D_b)	Área cristalizada (%)
Soft PMF	5140	5,28 ± 0,47[a]	1,79 ± 0,03[ac]	41
Soft PMF + 1% de STS	12617	6,03 ± 0,14[b]	1,78 ± 0,05[a]	80
Soft PMF + 3% de STS	14267	4,46 ± 0,11[c]	1,81 ± 0,02[b]	37
Soft PMF + 5% de STS	17526	4,24 ± 0,13[d]	1,80 ± 0,02[cb]	36
Soft PMF + 1% de ES	11661	5,48 ± 0,20[e]	1,68 ± 0,00[d]	76
Soft PMF + 3% de ES	5399	5,86 ± 0,11[f]	1,76 ± 0,01[e]	76
Soft PMF + 5% de ES	2714	9,61± 0,04[g]	1,71 ± 0,01[f]	75

*STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose). Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

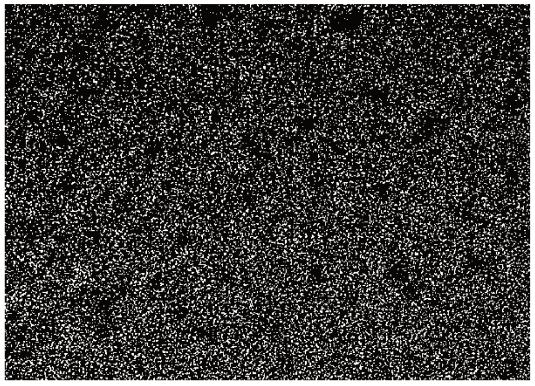
Na Figura 4, observa-se que a adição de ES proporcionou a formação de aglomerados cristalinos, que se dispersavam sobre a fase contínua de forma desordenada. Acredita-se que os aglomerados ocorreram possívelmente devido à formação de micelas reversas na fase oleosa pelo ES (GARTI E YANO, 2002), havendo menor interação com o meio líquido, liderado pela maior força de ligação no interior das partículas cristalinas, com possível aprisionamento de óleo. Por outro lado, a adição de STS favoreceu o desenvolvimento de uma rede cristalina com pequenos cristais distribuídos ordenadamente por toda a superfície da fase contínua, sugerindo a existência de ligações mais fortes entre os cristais formados e a fase líquida adjacente. Kanagaratnam *et al.* (2013), estudando a capacidade de ligação de óleo em *shortenings* base palma, definiram a estabilidade como a capacidade de ligação ao óleo, onde as fases sólida e líquida permanecem como uma fase sólida contínua e homogênea. Os cristais com diâmetros menores foram mais eficazes na capacidade de ligação ao óleo, enquanto nos cristais com diâmetros maiores, a fase líquida livre impediu a ligação dos cristais, fazendo com que os mesmos atuassem como estruturas individuais. Portanto, a

microestrutura da *soft* PMF adicionada de STS foi considerada mais estável e possivelmente mais imóvel em comparação com a *soft* PMF adicionada de ES.

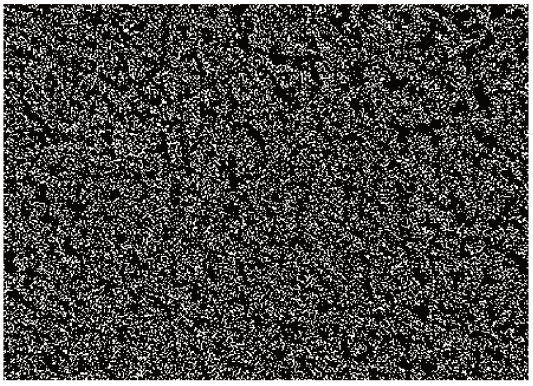
Embora, a partir de 20°C, a consistência da *soft* PMF adicionada de STS tenha sido menor que aquela apresentada pela adição de ES, as amostras com STS apresentaram-se mais quebradiças durante a penetração do cone na análise de consistência, enquanto a adição de ES apresentou maior maciez. Isto pode ser devido a mudanças de polimorfismo dos cristais formados, visto que alterações morfológicas da rede cristalina geralmente são acompanhadas por mudanças polimórficas (NARINE E MARANGONI, 1999). Outra explicação para este efeito foi sugerida por Campos *et al.* (2002), que relataram que após a inserção de um cone, as amostras com maior homogeneidade em termos de distribuição espacial, irão proporcionar maior resistência à penetração do que as amostras mais heterogêneas. No caso das amostras heterogêneas, o reajanjo da estrutura durante a penetração do cone é prejudicado, permitindo maiores profundidades de penetração, mesmo quando apresentam forma polimórfica mais estável. Neste caso a resistência mecânica está mais relacionada com o tipo de força de interação existente entre os componentes microestruturais (CAMPOS et al., 2002).



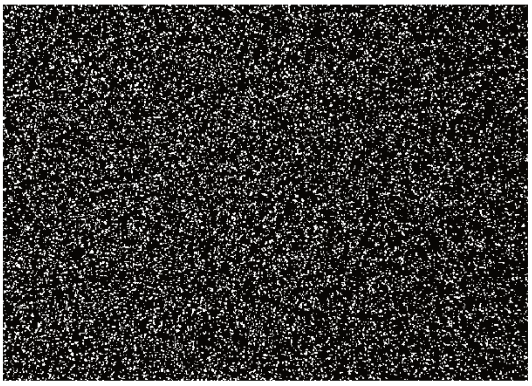
Soft PMF



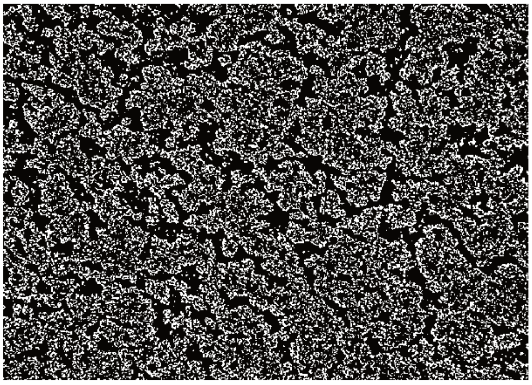
Soft PMF + 1% de STS



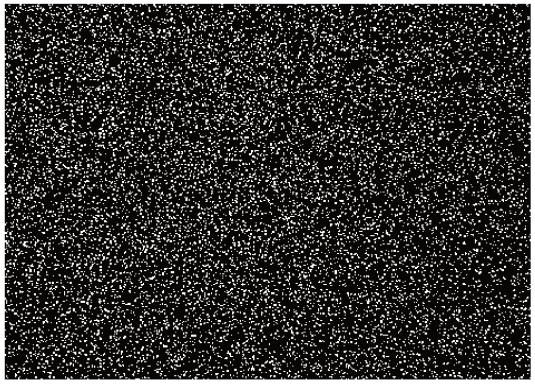
Soft PMF + 1% de ES



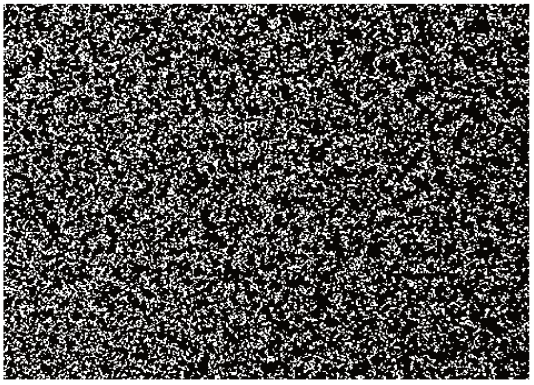
Soft PMF + 3% de STS



Soft PMF + 3% de ES



Soft PMF + 5% de STS



Soft PMF + 5% de ES

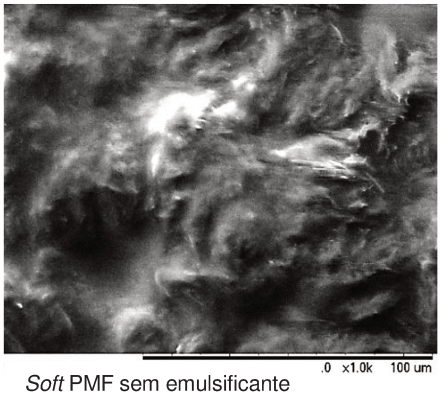
Figura 4. Microscopia sob luz polarizada das amostras de *soft* PMF e sua mistura com STS e ES estabilizadas na temperatura de 20°C.

Estruturas maiores, como agregados cristalinos, apresentam força de ligação menor quando comparados a pequenos cristais. Os mesmos resultados foram observados por Shi *et al.* (2005), que encontraram estruturas tipo gel entre a mistura de dissaturados e trissaturados de cadeia longa, proporcionando a estas amostras mais resistência à quebra. Assim, sugere-se uma possível gelificação da fase contínua a partir da mistura de TAGs dissaturados (POP, POS, PLP) com o STS.

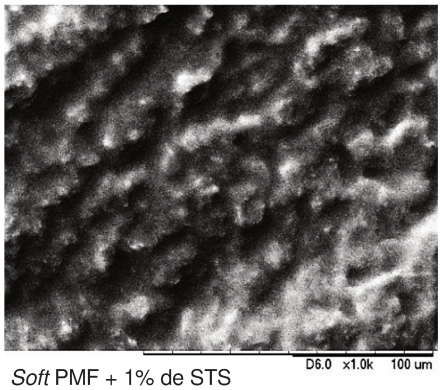
A distribuição espacial da massa cristalina na rede de gordura, caracterizada por sua dimensão fractal, também apresentou mudanças para as diferentes misturas de *soft* PMF com os emulsificantes STS e ES (Tabela 4). De acordo com Narine e Marangoni (2002), a dimensão fractal das gorduras comestíveis, determinada por microscopia, varia entre 1,47 a 1,88, como a manteiga de cacau (D = 1,56) e a gordura do leite anidra (D = 1,85). Neste estudo, a dimensão fractal da *soft* PMF e de suas misturas com STS e ES variou entre 1,68 a 1,81. A dimensão fractal quando determinada pelo método de caixas, depende do grau de preenchimento da estrutura cristalina e da forma dos cristais obtidos (SIMÕES E GIOIELLI, 1999), sendo que maiores valores para a dimensão fractal representam uma distribuição mais organizada (WRIGHT *et al.*, 2001) e homogênea (CAMPOS *et al.*, 2002). A adição de STS manteve a dimensão fractal da *soft* PMF em torno de 1,80, indicando maior organização cristalina para estas amostras. Já as concentrações de 1%, 3% e 5% de ES reduziram a dimensão fractal para 1,68, 176 e 1,71 respectivamente, indicativos de uma desordem na estrutura. Ainda, de acordo com Claro *et al.* (2008) a dimensão fractal pode apresentar tendência a diminuir pela maior quantidade de óleo na mistura, reduzindo a ordem de empacotamento dos elementos microestruturais. Esta hipótese relaciona-se bem com a ideia de microestrutura móvel e imóvel discutida anteriormente, visto que os maiores valores de dimensão fractal foram apresentados pela *soft* PMF adicionada de STS, sugerindo maior imobilização da fase oleosa por este emulsificante, enquanto a formação de aglomerados cristalinos, de maior diâmetro, observados com a adição de ES reduziu os valores de dimensão fractal da *soft* PMF.

3.6 Visualização da superfície por MEV

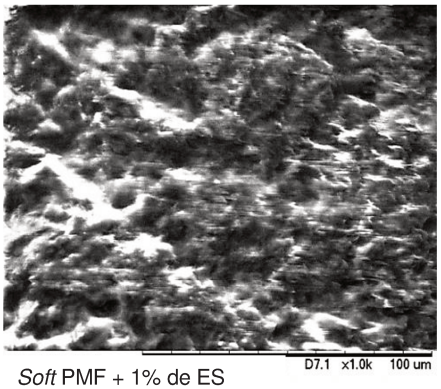
Contribuindo com os dados de consistência e microestrutura, a Figura 5 apresenta a visualização da superfície de quebra da *soft* PMF e das amostras adicionadas de STS e ES. Realizando uma análise visual da rede tridimensional, observa-se que a adição de STS resultou na formação de agregados compactos, sem a presença de estruturas livres para o possível movimento da rede cristalina, enquanto que a adição de ES proporcionou suavidade à estrutura, apresentando uma rede cristalina formada por aglomerados cristalinos. Sabe-se que o STS apresenta alta habilidade em adsorver as particulas de gordura (GARTI E YANO, 2000), possibilitando a formação de estruturas mais estáveis, enquanto a capacidade de aeração do ES proporciona maior maciez. Tais caracterísitcas influenciaram na formação da rede cristalina tridimensional da *soft* PMF que foi bastante modificada por ambos os emulsificantes. Ainda destaca-se que os resultados obtidos foram dependentes das condições de análise, e que técnica é limitada para visualização da superfície de gorduras plásticas, a exemplo, a fusão da gordura durante a análise, como verificado na amostra de *soft* PMF com 5% de ES.



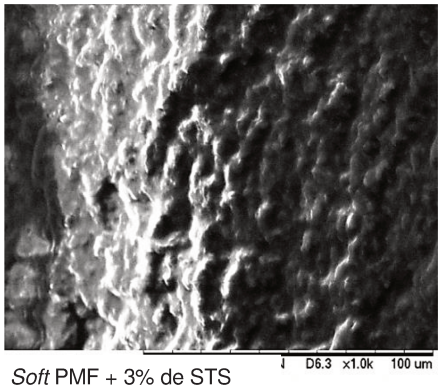
Soft PMF sem emulsificante



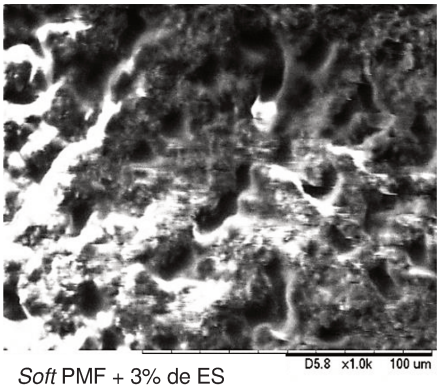
Soft PMF + 1% de STS



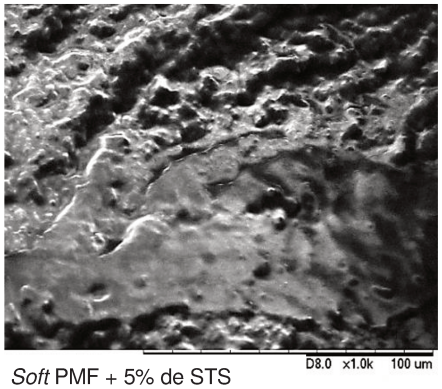
Soft PMF + 1% de ES



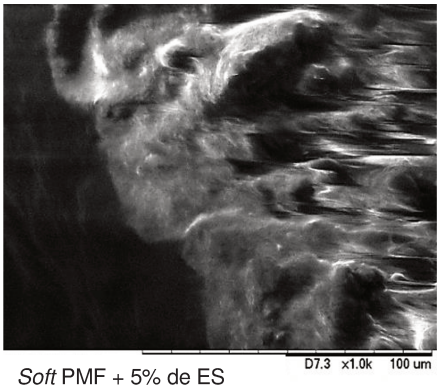
Soft PMF + 3% de STS



Soft PMF + 3% de ES



Soft PMF + 5% de STS



Soft PMF + 5% de ES

Figura 5. Microscopia eletrônica de varredura da superfície do corte vertical das amostras de *soft* PMF e sua mistura com STS (triestearato de sorbitana) e ES (estearato de sacarose).

3.7 Efeito da adição dos emulsificantes sobre a cinética de cristalização isotérmica

3.7.1 Tempo de indução

A cristalização é a mais importante mudança de fase, influenciando na funcionalidade das gorduras (TIMMS, 2003). A Figura 6 mostra as curvas de cristalização isotérmica para a *soft* PMF e as respectivas misturas com STS e ES na temperatura de 15 °C. Observou-se que a presença de 1% de STS originou maior teor de sólidos, seguida pelas amostras de *soft* PMF adicionadas de ES (1%, 3% e 5%). Os valores mais baixos de SFC foram apresentados pela *soft* PMF e pelas misturas com 3% e com 5% de STS, de acordo com o perfil de sólidos das amostras. Todas as amostras contendo emulsificantes apresentaram menor tempo de indução, variando entre 2 a 7 minutos, enquanto que a *soft* PMF apresentou 13 minutos de tempo de indução. As misturas contendo 1% de STS e 1%, 3% e 5% ES mostraram curvas com padrão sigmoidal, enquanto que a *soft* PMF e as amostras contendo 3% e 5% de STS apresentaram claramente uma inclinação da curva de cristalização. Geralmente, as variações na inclinação das curvas de cristalização sugerem a ocorrência de diferentes mecanismos de cristalização, com variações dos tipos de cristais formados (LIU *et al.*, 2010). Em adição, ainda observando a Figura 6, verifica-se um processo de cristalização em duas etapas, que de acordo com Foubert *et al.* (2006), pode ser associado à formação de diferentes formas polimórficas ou devido à cristalização de diferentes frações, gerando curvas que se elevam a um patamar intermediário e, em seguida, voltam a aumentar em um segundo patamar.

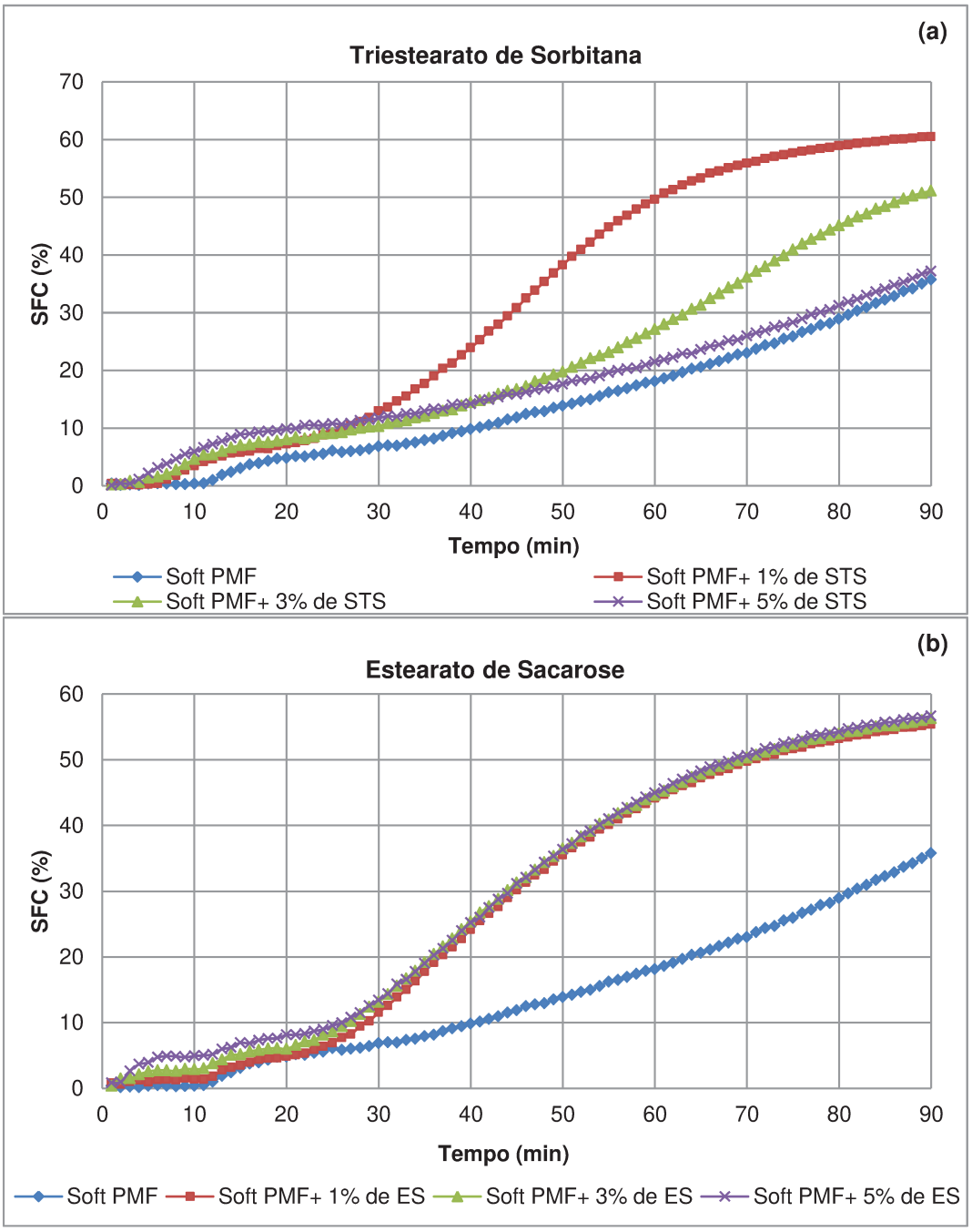


Figura 6. Isotermas de cristalização das amostras de *soft* PMF e sua mistura com (a) STS (triestearato de sorbitana) e (b) ES (estearato de sacarose) na temperatura de 15°C.

3.7.2 Efeito sobre os Parâmetros de Avrami

A cinética de cristalização é indicativa do mecanismo de nucleação e do crescimento dos cristais (CERDEIRA *et al.*, 2006). Como um exemplo representativo, a Figura 6 mostra o aumento do SFC com o tempo, sob a temperatura de 15°C, para monitorar o efeito da adição de STS e ES sobre o comportamento de cristalização da *soft* PMF. Para descrever o comportamento de cristalização mais detalhadamente, utilizou-se a equação de Avrami não linearizada para cristalização em duas etapas, da qual obtemos a constante de Avrami (k) e o expoente de Avrami (n) para ambas as etapas de cristalização, determinados a partir do ajuste do modelo. Os resultados para estes parâmetros estão apresentados na Tabela 5. Observou-se que a adição de STS e ES modificou a cinética de cristalização da *soft* PMF. Os valores obtidos para a constante de Avrami (k) indicaram, de um modo geral, que tanto o STS quanto o ES aumentaram a velocidade de cristalização da *soft* PMF a 15°C. Isso refletiu-se no menor tempo de indução, e consequentemente, os mecanismos de nucleação e crescimento dos cristais foram afetados. Observou-se que a adição de 1% de STS resultou na diminuição do expoente de Avrami (n) em ambas as etapas de cristalização. Já a adição de 3% e 5% de STS proporcionou maior valor de n na 1ª etapa de cristalização e reduziu este valor na 2ª etapa. Por outro lado, a adição ES na *soft* PMF gerou maiores valores de n nas duas etapas de cristalização. Segundo Sharples (1996) o expoente de Avrami (n) é sensível ao mecanismo de nucleação e a dimensão do crescimento. Quando o valor de n aumenta, os eventos de nucleação tendem a ser mais esporádicos e a dimensão do crescimento do material cristalino é superior, quando n diminui a nucleação é considerada instantânea. Nos eventos de nucleação instantânea, observou-se cristais com diâmetros menores, mais numerosos e um maior número de interações cristal-cristal (LITWINENKO *et al.*, 2004). Por outro lado, quando a nucleação é esporádica, a velocidade de cristalização é menor (k), com formação de grandes agregados cristalinos (CAMPOS *et al.*, 2002).

Tabela 5. Parâmetros de Avrami das amostras de *soft* PMF e sua mistura com STS e ES determinados a partir da isoterma de cristalização na temperatura de 15°C

Amostras	t_{SFC} (min)	$SFC_{máx}$ (%)	Etapa	*k* (min^{-n})	*n*	R^2
Soft PMF	13	35,86	1º	$17x10^{-6}$	3,8407	0,99
			2º	$1,2\ x10^{-6}$	3,1101	0,99
Soft PMF + STS 1%	7	60,50	1º	$2.200\ x10^{-6}$	1,0000	0,99
			2º	$22,5\ x10^{-6}$	2,7249	0,99
Soft PMF + STS 3%	5	51,14	1º	$324,0\ x10^{-6}$	4,0000	0,99
			2º	$3,2\ x10^{-6}$	2,9484	0,99
Soft PMF + STS 5%	4	37,22	1º	$321,8\ x10^{-6}$	4,0000	0,99
			2º	$2,3\ x10^{-6}$	2,9429	0,99
Soft PMF + ES 1%	6	55,37	1º	$323,7\ x10^{-6}$	4,0000	0,98
			2º	$2,1\ x10^{-6}$	3,2526	0,98
Soft PMF + ES 3%	2	56,31	1º	$324,0\ x10^{-6}$	4,0000	0,97
			2º	$1,9\ x10^{-6}$	3,2361	0,97
Soft PMF + ES 5%	3	56,67	1º	$324,0\ x10^{-6}$	4,0000	0,97
			2º	$2,2\ x10^{-6}$	3,1488	0,97

*STS (triestearato de sorbitana); ES (estearato de sacarose)

De acordo com Dewettinck *et al*. (2004), o processo de cristalização em duas etapas geralmente ocorre quando a temperatura de cristalização está abaixo do ponto de fusão da forma polimórfica metaestável, e uma vez que esta forma tem baixa energia de ativação para nucleação, a velocidade de nucleação será superior, sendo formada na primeira etapa, enquanto que na segunda etapa, ocorre a transformação polimórfica para uma forma mais estável. Analisando os resultados apresentados na Tabela 5, observou-se que a adição de STS possivelmente favoreceu a formação de polimorfos estáveis mais rapidamente, enquanto que a adição de ES pode ter atrasado o desenvolvimento da forma polimórfica mais estável, visto que apesar de ter menor tempo de indução, o mesmo variou muito até atingir o máximo de sólidos para finalizar a primeira etapa de cristalização (Figura 6b). Era esperado que o ES acelerasse a cristalização dos sistemas de gordura devido a seu ponto de fusão mais elevado que o da *soft* PMF ou mesmo do STS, o que significaria que, após o resfriamento, o mesmo cristalizaria antes do óleo, pela

capacidade de atuar como impureza. Contudo, isto não ocorreu neste estudo, o que indica que a função do ES foi mais específica que uma impureza. Huck-Iriart e Candal (2009) verificaram que a adição de éster sacarose do ácido palmítico em sistemas de emulsão também atrasou a cristalização. Estes resultados também estão de acordo com Chaleepa *et al.* (2010), que encontraram efeito inibidor da nucleação quando adicionaram ésteres de sacarose ao óleo de coco.

Acredita-se que estes resultados foram dependentes da compatibilidade dos emulsificantes com a *soft* PMF, pois, segundo Boistelle e Astier (1988), quando a solubilidade entre os componentes aumenta, devido a mudanças no meio, a energia interfacial diminui e a taxa de nucleação torna-se maior. Geralmente a nucleação ocorre a baixa supersaturação. Quando existe solubilidade parcial entre os componentes do meio, a nucleação é dificultada e necessita de alta supersaturação para ocorrer. Quando a supersaturação é elevada, a nucleação pode resultar na formação de uma fase amorfa ou pouco cristalina. Boistelle (1988) ainda sugeriu que a diferença na cinética de nucleação entre os polimorfos de lipídios ocorre devido à diferenças na tensão interfacial. Quanto maior a afinidade dos cristais pela fase líquida adjacente, menor será a tensão interfacial entre eles, facilitando a nucleação da forma polimórfica mais estável àquelas condições de cristalização. Neste contexto, o STS atuou como um facilitador da nucleação pela maior compatibilidade com os TAG's da *soft* PMF. Embora a mistura com ES também tenha apresentado valores de k maiores que a *soft* PMF, sua solubilidade parcial no meio oleoso proporcionou a formação de uma fase amorfa que resultou no atraso da formação de uma fase mais estável.

3.8 Efeito dos emulsificantes sobre o comportamento de fusão da *soft* PMF

Os eventos de fusão por DSC da amostra de *soft* PMF (IV 47) diferiram das amostras de *soft* PMF adicionadas de STS e ES (Figura 7 e 8). Para a *soft* PMF, a intensidade dos eventos de fusão para os TAGs de baixo ponto de fusão foi devido a maior presença de TAGs SUU e UUU. Observou-se que essa intensidade foi menor nas amostras contendo emulsificante, com redução na entalpia de fusão (ΔH) quando comparada com a *soft* PMF sem emulsificante. Também se verifica que os TAGs de

alto ponto de fusão presentes na *soft* PMF, surgem em temperaturas mais baixas em comparação com as amostras adicionadas de emulsificantes. Essas observações podem estar relacionadas com a composição triacilglicerólica da *soft* PMF, resultando da interação tanto do STS quanto do ES sobre os TAGs do grupo SUS e SSS. Para a *soft* PMF adicionada de STS e ES a entalpia do 1º evento de fusão foi menor enquanto a do 2º evento de fusão foi maior em relação à *soft* PMF sem emulsificante, indicando mudanças na estabilidade polimórifca.

O comportamento de fusão das amostras cristalizadas refletiu o tipo de empacotamento molecular em que os diferentes TAGs cristalizaram, observados como diferentes formas polimórficas presentes no estado sólido (CAMPOS *et al*., 2002). Na Figura 7 observamos os eventos de fusão da *soft* PMF e de suas misturas com STS. Na Figura 8 estão os eventos de fusão das misturas de *soft* PMF com ES. Quando adicionou-se STS os eventos de fusão foram muitos próximos aos apresentados por Braipson-Danthine e Gibon (2007) para a fusão de uma *hard* PMF (IV 35). De acordo com Noor-Lida *et al.* (2002), a presença de POP pode aumentar o tempo da presença da forma α nos óleos de palma. Assim, verificou-se que para o 1º evento de fusão, que representa as formas polimórficas menos estáveis, a *soft* PMF apresentou maior entalpia de fusão que as misturas com STS. Possivelmente, a adição de STS acelerou transição polimórfica, reduzindo a entalpia do 1° evento de fusão (GARTI *et al*., 1988).

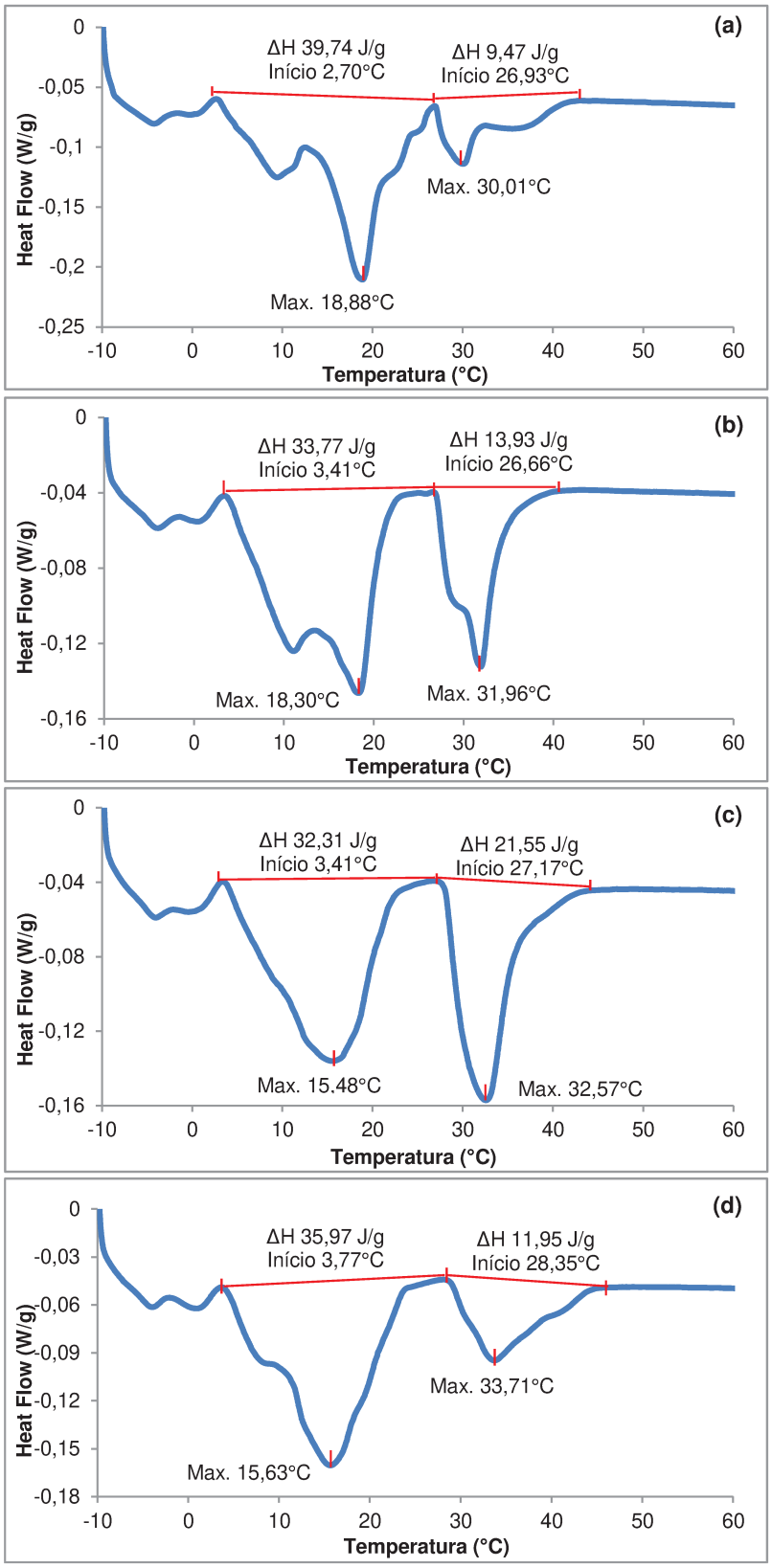


Figura 7. Fenômenos térmicos de fusão da *soft* PMF (a) e das misturas com 1% de STS (b), 3% de STS (c) e 5% de STS (d), em uma taxa de 2°C/min.

Analisando o 2° evento de fusão, que representa as formas polimórficas mais estáveis, observou-se que as amostras adicionadas de STS apresentaram maior estabilidade que a *soft* PMF. Isto pode ser confirmado pelo aumento da temperatura de fusão máxima, com consequente aumento da entalpia (ΔH), indicativo da maior presença de polimorfos estáveis. De acordo com Elisabettini *et al*. (1995), a entalpia de fusão (ΔH) está relacionada à estabilidade relativa de uma forma polimórfica. A presença de ácidos graxos insaturados nas moléculas de TAGs originam formas menos estáveis com redução da entalpia (ΔH). A *soft* PMF apresentou quantidades consideráveis de TAGs SUS e USU, o que conferiu menor intensidade e menor entalpia (ΔH) do 2º evento de fusão. Saidin e Ramli (2010) estudando uma mistura de fração mediana de palma com óleo de arroz observaram maior entalpia de fusão (ΔH) devido à maior proporção de cristais β estáveis.

Por outro lado, observou-se no 1º evento de fusão, redução considerável na temperatura de fusão máxima na mistura *soft* PMF+STS e uma pequena redução para a mistura *soft* PMF+ES. De acordo com Garti *et al.* (1988), essa diminuição na temperatura de fusão sugere que durante a fusão, o emulsificante pode ter atuado como uma impureza no meio, promovendo o colapso da estrutura cristalina. Analisando os resultados para a adição de ES, verifica-se redução da entalpia (ΔH) do 1º evento de fusão, possivelmente devido à transformação polimórfica para uma forma cristalina mais estável. Observou-se que a adição de ES gerou dois picos exotérmicos nos eventos de fusão, um após a temperatura de 18°C e outro após a temperatura de 32°C, o que pode indicar atraso na transição polimórfica. O 3º evento de fusão observado na *soft* PMF com 3% e 5% de ES corresponde à fusão do próprio emulsificante, como resultado da solubilidade parcial do mesmo em meio líquido.

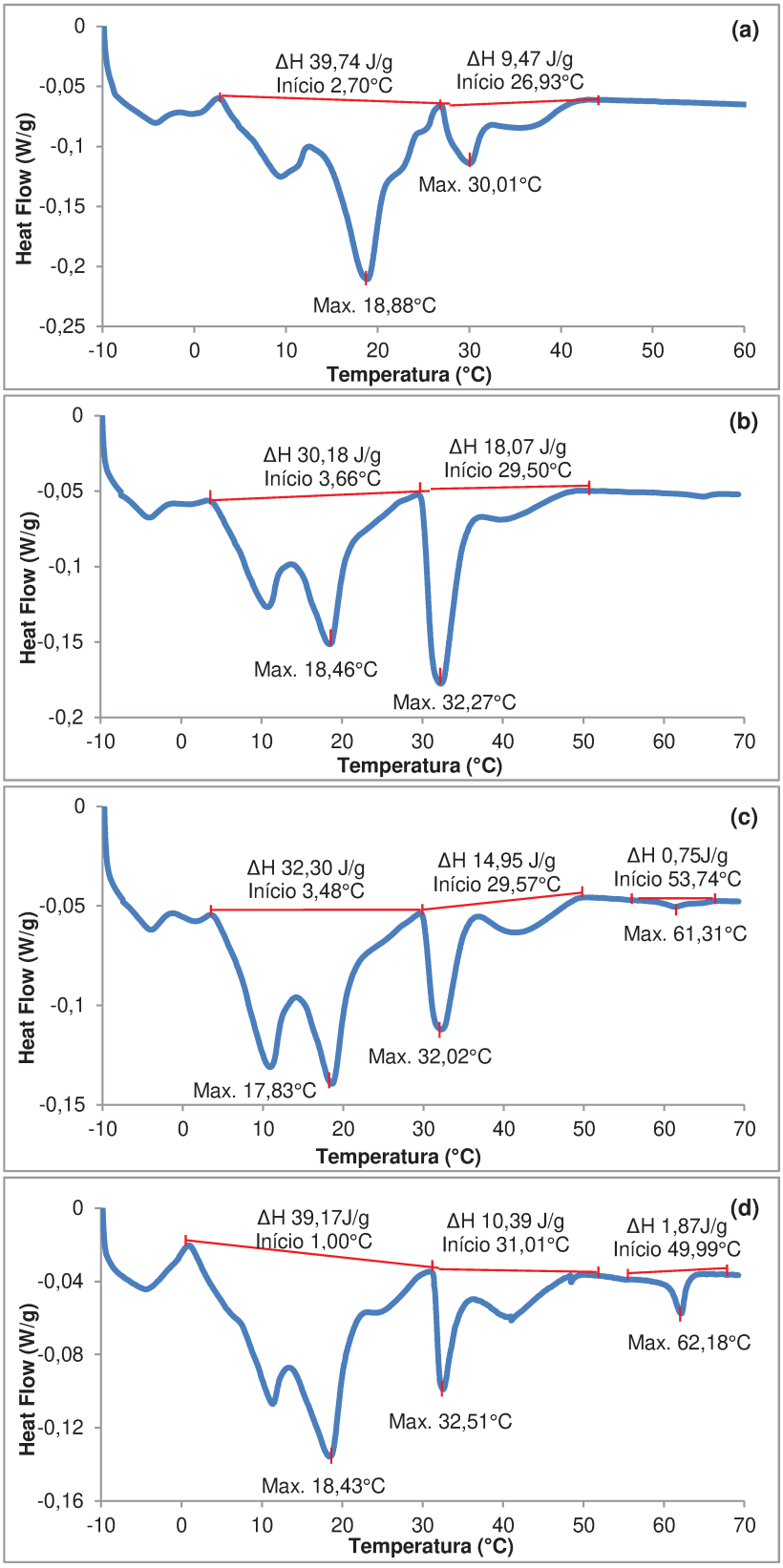


Figura 8. Fenômeno térmico de fusão da soft PMF (a) e das misturas com 1% de ES (b), 3% de ES (c) e 5% de ES. (d), em uma taxa de 2°C/min.

3.9 Efeito dos emulsificantes sobre o comportamento polimórfico da *soft* PMF

O polimorfismo é outra propriedade importante dos óleos e gorduras, uma vez que cada polimórfo tem suas próprias características físicas, que determinam em grande parte as propriedades físicas do produto final (VAN LANGEVELDE *et al*., 2000). Dependendo do condicionamento térmico, os TAG's cristalizam preferencialmente nas formas sub-α, α, β' ou β, e o desenvolvimento de gorduras polimorficamente estáveis é um passo chave na produção de produtos de qualidade. A difração de Raios-X é usada para identificar o polimorfismo cristalino, através da determinação das dimensões da unidade de cristal e sub-células. Devido a diferentes configurações geométricas, os polimorfos difratam os Raios-X em ângulos diferentes. Nas gorduras, ângulos de difração elevados correspondem ao espaçamento curto das sub-células e permite a verificação de diferentes polimorfos. Os espaçamentos curtos podem ser definidos como a distância entre os grupos acilo paralelos na molécula TAG e refere-se ao empacotamento cruzado das cadeias de TAG (GARTI *et al*., 1986; RIBEIRO *et al*., 2009).

As Tabelas 6 e 7, juntamente com as Figuras 9 e 10, apresentam os resultados da difração de Raios-X da *soft* PMF cristalizada sem e com emulsificantes. A *soft* PMF mostrou padrão característico da forma β'. A adição de STS e ES modificou expressivamente o comportamento polimórfico da *soft* PMF, indicando que ambos os emulsificantes interferiram na estrutura dos cristais formados. Curiosamente, a adição de STS nas concentrações de 3% e 5% favoreceu o desenvolvimento das formas polimórficas β' e β, com padrão de difração similar a forma β' da manteiga de cacau (VAN MALSSEN *et al*., 1999; SCHENK e PECHAR, 2004). Assim, sugere-se que possivelmente, o STS atuou sobre os TAGs SUS presentes na *soft* PMF, através de sua co-cristalização com os mesmos, conferindo a formação de polimorfos de interesse industrial na produção de chocolates. Aronhime, Sarig e Garti (1988), estudaram o fenômeno de "*The Button Syndrome*", onde os ésteres de sorbitana atuam como controladores dinâmicos das transições polimórficas pela capacidade de criarem ligações de hidrogênio com as moléculas de triacilgliceróis. Esse controle se dá por meio de impedimento estérico, evitando o deslocamento das moléculas (ARONHIME *et*

al, 1987). Ainda de acordo com Cottrell e Peij (2004), apesar da similaridade do STS com a gordura, a sorbitana (grupo polar), é bastante diferente. Como resultado, o STS é muito eficaz em controlar o crescimento cristalino. Quando o tamanho dos cristais β está abaixo do limiar de percepção do STS, cristais β' serão estabilizados, do contrário a forma β será estabilizada preferencialmente. Neste estudo, o STS não controlou a formação de polimorfos específicos, mas promoveu a formação de polimorfos estáveis.

Tabela 6. Efeito da adição de STS sobre o polimorfismo da *soft* PMF (temperatura de estabilização de 25 °C).

Triestearato de Sorbitana							
Amostras	***Short spacings (Å)***						**Forma polimórfica**
	5.4	**4.5**	**4.2**	**3.8**	**3.7**	**3.6**	
PMF	5.36 (m)		4.23 (s)	3.85 (m) 3.81 (vw)		3.61 (vw)	β'
1%	5.34 (m)	4,45 (vw)	4.23 (vs)	3.87 (m)	3.78 (vw)	3.61 (vw)	β'>β
3%	5.32 (w)	4.56 (s)	4.20 (vs)	3.87 (w)	3.72 (vw)	3.61 (vw)	β'+β
5%	5.49 (vw)	4.57 (vs)	4.21 (vs)	3.85 (vw)	3.70 (vw)	3.61 (w)	β'+β

*Intensidade dos picos: Forte (s); Muito forte (vs); Médio (m); Fraco (w); Muito fraco (vw)

De acordo com Garti *et al.* (1986), o STS foi o emulsificante mais efetivo para estabilização da forma βV da manteiga de cacau. Seu estudo indicou que o STS acelera a transformação βIV→βV, sugerindo que a maior eficiência como modificador da estrutura cristalina foi devido a maior compatibilidade física estrutural entre a gordura e o STS. No entanto, ainda de acordo com Garti *et al.* (1986), a fração líquida da manteiga de cacau aumentou à medida que mais STS foi adicionado (3%, 5%, 10%). Esse aumento na fração líquida pode ser causado pela redução do ponto de fusão, resultante da caracterísitca do emulsificante como impureza na amostra. Esse efeito também foi verificado neste estudo e pode ser analisado na Tabela 3 e também pelos dados de microestrutura, onde a adição de STS nas concentrações de 3% e 5% apresentou menor proporção de área cristalizada. Neste contexto, foi claro que a compatibilidade física entre a gordura e o emulsificante, é um requisito para influenciar uma forma polimórfica específica. Esta compatibilidade estaria muito relacionada com a cadeia hidrofóbica dos emulsificantes, que segundo Garti *et al.* (1988) seriam responsáveis por acelerar ou retardar a cristalização do polimorfo β. Contudo,

características apropriadas da parte hidrofílica dos emulsificantes estariam relacionadas com a indução da fusão da forma α.

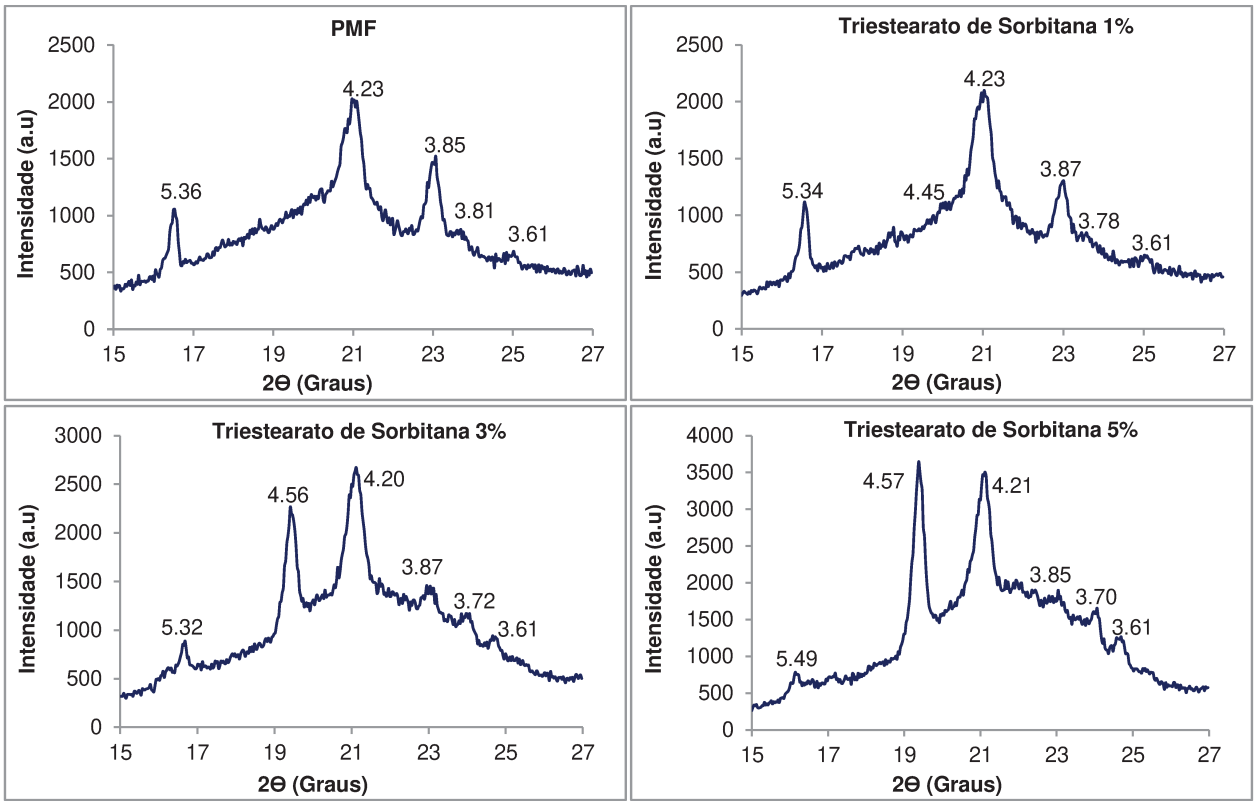


Figura 9. Padrões de difração da *soft* PMF e das misturas com triestearato de sorbitana por difração de raios-X estabilizadas em 25 °C.

Em relação ao efeito da adição de estearato de sacarose sobre o polimorfismo da PMF, observou-se na Tabela 7 e Figura 10 que o mesmo foi efetivo em retardar a transição polimórifca de β'→β no perído deste estudo. De acordo com Cerdeira *et al.* (2006), os ésteres de sacarose têm uma extremidade polar (sacarose) com uma natureza química diferente da gordura, que é capaz de afetar a formação dos núcleos críticos. Herrera e Rocha (1996) também relataram um atraso na transformação de β'→β pela adição de ésteres de sacarose no óleo de girassol hidrogenado. Os mesmos autores sugeriram que apenas a forma β' pode ser obtida a partir da fusão e que a transição β'→β ocorre apenas em estado sólido. Segundo Huck-Iriart *et al.* (2009), a adição de éster de sacarose do ácido palmítico em um sistema de emulsão afetou fortemente as características polimórficas, sendo verificada a presença da forma α e por

algum período de tempo, as formas α e β' coexistiram no sistema. Lumor *et al*. (2008) verificaram que a razão β/β' em misturas de fração mediana de palma contendo éster de sacarose (S-170), STS e monoacilgliceróis foi maior que em sua amostra controle, sugerindo que os emulsificantes adicionados não foram eficazes na estabilização de uma forma polimórfica específica. Isto indicou que o ES não foi eficaz na estabilização de um polimorfo preferencial e que com o tempo de estocagem a *soft* PMF possivelmente apresentará a forma polimórfica β, como pode ser visualizado na Tabela 7 e na Figura 10.

Tabela 7. Efeito da adição de ES sobre o polimorfismo da *soft* PMF (temperatura de estabilização de 25°C)

Estearato de Sacarose							
Amostras	***Short spacings (Å)***						**Forma Polimórfica**
	5.3	**4.4**	**4.2**	**3.8**	**3.7**	**3.6**	
PMF	5.36 (m)		4.23 (s)	3.85 (m) 3.81 (vw)		3.61 (vw)	β'
1%	5.32 (m)	4.43 (vw)	4.20 (vs)	3.86 (m)	3.79 (vw)	3.58 (vw)	β'>β
3%	5.33 (w)	4.42 (vw)	4.19 (vs)	3.85 (m)	3.77 (vw)		β'>>β
5%	5.31 (w)	4.40 (vw)	4.18 (vs)	3.84 (m)	3.77 (vw)		β'>>β

*Intensidade dos picos: Forte (s); Muito forte (vs); Médio (m); Fraco (w); Muito fraco (vw)

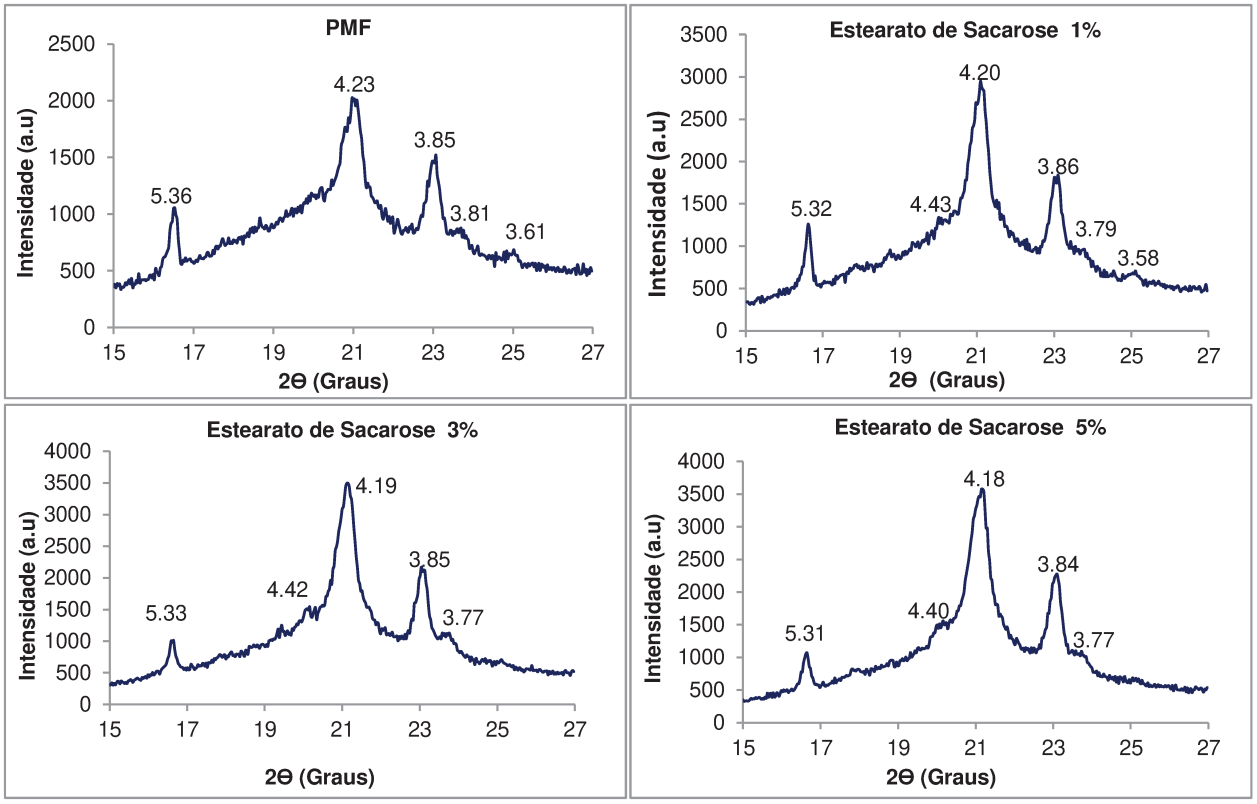


Figura 10. Padrões de difração da *soft* PMF e das misturas com estearato de sacarose por difração de raios-X estabilizadas em 25°C.

4. Conclusão

A caracterização da *soft* PMF mostrou uma gordura com facilidade para aglomeração dos cristais, baixa consistência e presença de fase líquida a temperatura ambiente. A adição de triestearato de sorbitana e estearato de sacarose modificou a estrutura física da fração mediana de palma. A adição de STS a *soft* PMF proporcionou redução SFC e ponto de fusão, aumento da consistência e modificação da microestrutura, favorecendo uma distribuição ordenada dos pequenos cristais sobre a fase contínua da gordura. A *soft* PMF contendo ES apresentou maior SFC nas temperaturas de 10°C e acima de 35°C, maior ponto de fusão, maior consistência e modificação da microestrutura pela formação de aglomerados cristalinos. A rede cristalina tridimensional indicou maior dureza para as amostras com STS e maior maciez para a *soft* PMF adicionada de ES. Verificou-se que a adição de STS proporcionou maior velocidade de cristalização, indicados pelos maiores valores de k e menores de n, enquanto a adição de ES contribuiu para nucleação esporádica, reduzindo a velocidade de cristalização. O comportamento de fusão indicou maior estabilidade polimórfica para a *soft* PMF contendo 3% e 5% de STS e menor estabilidade para a adição de ES. Acompanhando estes resultados, o comportamento polimórfico da *soft* PMF adicionada de emulsificantes difereriu no tipo e estabilidade polimórfica. A adição de STS resultou no desenvolvimento dos polimórfos β' e β, enquanto que a adição de ES demostrou atraso na transição β'→β. Desta forma, conclui-se que a adição de STS e ES influenciou as características tecnológicas da *soft* PMF, contudo, devido a composição especial dessa base gordurosa e de seu valor comercial, sugerimos maiores estudos, especialmente quanto o efeito destes emulsificantes sobre a *soft* PMF após a remoção dos diacilgliceróis.

5. Referências Bibliográficas

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

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

ARONHIME, J.S.; SARIG, S.; GARTI, N. (1987). Mechanistic considerations of polymorphic transformations of tristearin in the presence of emulsifiers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.64, p.529-533.

BASSO, R.C.; RIBEIRO, A.P.B.; MASUCHI, M.H.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L.A.G.; SANTOS, A.O.; CARDOSO, L.P.; GRIMALDI, R. (2010). Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. **Food Chemistry**, vol 122, n. 4, p. 1185–1192, 2010.

BRAIPSON-DANTHINE, S.; GIBON, V. (2007). Comparative analysis of triacylglycerol composition, melting properties and polymorphic behavior of palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 4, p. 359-372.

CALLIAUW, G.; GIBON, V.; GREYT, W.; PLEES, L.; FOUBERT, I.; DEWETTINCK, K. (2007a). Phase composition during palm olein fractionation and its effect on soft pmf and superolein quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 84, n. 9, p. 885–891.

CALLIAUW, G.; GIBON, V.; GREYT, W. (2007b). Principles of palm olein fractionation: a bit of science behind the technology. **Lipid Technology**, Vol. 19, n. 7, p. 152-155.

CALLIAUW, G., FREDRICK, E., GIBON, V., GREYT, W. D., WOUTERS, J., FOUBERT, I., (2010). DEWETTINCK, K. On the fractional crystallization of palm olein: solid solutions and eutectic solidification. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 972-981.

CAMPOS, R., NARINE, S.S., MARANGONI, A.G. (2002). Effect of cooling rate ON THE structure and mechanical properties of milk fat and lard. **Food Research International**, vol. 35, n. 10, p. 971-981.

CERDEIRA, M., PASTORE, V., VERA, L. V., MARTINI, S., CANDAL, R. J. HERRERA, M. L. (2005). Nucleation behavior of blended high-melting fractions of milk fat as affected by emulsifiers. **European Journal Lipid Science and Technology**, vol. 107, n. 12, p. 877–885.

CERDEIRA, M., MARTINI, S., CANDAL, R.J., HERRERA, M.L. (2006) Polymorphism and growth behavior of low-*trans* fat blends formulated with and without emulsifiers. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 83, n. 6, p. 489-496.

CHALEEPA, K., SZEPES, A., ULRICH, J. (2010). Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, VOL. 163, N. 4-5, P. 390-396.

CHAPMAN, G.M.; AKEHURST, E.E.; WRIGHT, W.B. (1971). Cocoa butter and confectionery fats. Studies using programmed temperature X-ray diffraction and differential scanning calorimetry. **Journal of the American Oil Chemists Society**, vol. 48, n. 12, p. 824-830.

COTTRELL, T.; VAN PEIJ, J. (2004). Sorbitan esters. In: **Emulsifiers in food technology**.

FOUBERT, I.; DEWETTINCK, K.; JANSSEN, G.; VANROLLEGHEM, P.A. (2006). Modelling two-step isothermal fat crystallization. **Journal of Food Engineering**, vol. 75, n. 4, p. 551-559.

DEMAN, L.; DEMAN, J.M.; BLACKMAN, B. (1989). Polymorphic behavior of some fully hydrogenated oils and their mixtures with liquid oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 66, n. 12, p. 1777-1780.

DEMAN, J.M. (1998). Functionality of palm oil in foods. **Journal of Food Lipids**, vol. 5, n. 2, p. 159-170.

DEWETTINCK, K., FOUBERT, I., BASIURA, M., GODERIS, B. (2004). Phase behaviour of cocoa butter in a two-step isothermal crystallization. **Crystal Growth and Design**, vol. 4, n. 6., p. 1295–1302.

ELISABETTINI, P., DESMEDT, A., GIBON, V., DURANT, F. (1995). Effect of sorbitan tristearate on the thermal and structural properties of monoacid triglycerides - influence of a "cis" or '"trans" double bond. **European Journal of Lipid Science and Technology**, vol. 97, n. 2., p. 65-69.

GARTI, N.; YANO, J. (2001). The Roles of Emulsifiers in Fat Crystallization. In: **Crystallization Processes in Fat and Lipid systems** Ed. Gartin; N.; Sato, K., Marcel Dekker, Suiça p. 211-250.

GARTI, N. (1988). Effects of surfactants on crystallization and polymorphic transformation of fats and fatty acids. In: **Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids**. Ed. Garti, N.; Sato, K., Marcel and Dekker, Inc., New York, NY. p. 267–300.

GARTI, N.; SCHLICHTER, J.; SARIG, S. (1986). Effect of food emulsifiers on polymorphic transitions of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 63, n.2, p. 231-236.
GARTI, N.; SCHLICHTER, J.; SARIG, S. DSC (1988). Studies Concerning Polymorphism of Saturated Monoacid triglycerides in the Presence of Food Emulsifiers**.** **European Journal of Lipid Science and Technology**, vol. 90, n. 8, p. 295-299.

GIBON, V.; AYALA, J.V.; DIJCKMANS, P.; MAES, J.; GREYT, W. (2009). Future prospects for palm oil refining and modifications. **Oléagineux, Corps Gras, Lipides**, vol. 16, n. 4, p. 193-200.

GOH, E. M.; KER, T. H. (1991). Relationship between slip melting point and pulsed NMR data of palm kernel oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 68, n. 3, p. 144-146.

HASENHUETTL, G.L. (2008). Overview of Food Emulsifiers. In: **Food Emulsifiers and Their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 1-7.

HERRERA, M.L.; ROCHA, F.J.M. (1996). Effects of sucrose ester on the kinectics of polymorphic transition in hydrogenated sunflower oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 73, n. 3, p. 321-326.

International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) (1987) In: Paquot C, Hautfenne A (eds) Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 7th edn. Blackwell Scientific Publications, London.

KANAGARATNAM, S.; HOQUE, M.E.; MISKANDAR, M.S.; SPOWAGE, A. (2013). Investigating the effect of deforming temperature on the oil-binding capacity of palm oil based shortening **Journal of Food Engineering**, In Press, Accepted Manuscript, Available online, 26 March.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 3, p. 224-229.

KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; GREYT, W. (2007). Palm oil fractionation. **European Journal Lipid Science Technology**, vol. 109, n. 4, p. 336–349.

KELLENS, M.J. (2001). Oil modification processes. In: Hamm W, Hamilton RJ (eds) **Edible Oil Processing**. Sheffield Academic Press, Sheffield, pp 129–173.

LEE, J.H.; AKOH, C.; LEE, K. (2008). Physical properties of ***trans***-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 85, n. 1, p. 1-11.

LIU, Y.; MENG, Z.; ZHANG, F.; SHAN, L.; WANG, X. (2010). Influence of lipid composition, crystallization behavior and microstructure on hardness of palm oil-based margarines. **European Food Research and Technology**, vol. 230, n.5, p. 759-767.

LUMOR, S.E.; KIM, B.H.; AKOH, C. (2008). Optimization of solid fat content and crystal properties of a *trans*-free structured lipid by blending with palm midfraction. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, vol. 56, n.19, p. 9294–9298.

MARANGONI, A.G.; OLLIVON, M. (2007). Fractal character of triglyceride spherulites is a consequence of nucleation kinetics. **Chemical Physics Letters**, vol. 442, n. 4-6, p. 360–364.

MÁRQUEZ-RUIZ G, JORGE N, MARTÍN-POLVILLO M, DOBARGANES MC. (1996). Rapid, quantitative determination of polar compounds in fats and oils by solid-phase extraction and size-exclusion chromatography using monostearin an internal standard. **Journal of Chromatography A**, v. 749, p. 55-60.

MECHELEN, J.B.V.; PECHAR, R.; SCHENK, H. (2006). Structures of mono-unsaturated triacylglycerols. II. The b2 polymorph. **Acta Crystallographica**, B62, p. 1131–1138.

MISKANDAR, M.S.; CHE MAN, Y.B.; ABDUL RAHMAN, R.; NOR AINI, I.; YUSOFF, M.S.A. (2007). Effects of emulsifiers on crystal behavior of palm oil blends on slow crystallization. **Journal of Food Lipids**, vol. 14, n. 1, p. 1–18.

MIURA, S.; KONISHI, H. (2001). Crystallization behavior of 1,3-dipalmitoyl-2-oleoyl-glycerol and 1-palmitoyl-2,3-dioleoyl-glycerol. **European Journal Of Lipid Science And Technology**, VOL. 103, N. 12, P. 804-809.

MIURAA, S.; YAMAMOTOB, A.; KONISHIA, H. (2002). Effect of agglomeration of triacylglycerols on the stabilization of a model cream. **European Journal Lipid Science Technology**, vol. 104**,** n. 4, p**.** 222–227.

NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. (1999). Mechanical and structural model of fractal networks of fat crystals at low deformations. **American Physical Society**, **Phys. Rev**. E 60. p. 6991–7000.

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

NELEN, B. A. P.; COOPER, J. M.; WHITEHURST, R. J. (2004). **Emulsifiers in food technology**.

NOOR-LIDA, H.M.D., SUNDRAM, K., SIEW, W.L., AMINAH, A., MAMOT, S. (2002). TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil, and palm kernel olein belends before and after chemical interesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 79, n. 11, p. 1137-1144.

NUSANTORO,B.P**.** (2009). Isothermal crystallization properties of rbd-palm oil as measured by dsc and oscillatory rheometry**. Journal Agritech Fakultas Teknologi Pertanian,** v. 29, n. 4, p 146.

PANTZARIS, T.P.; BASIRON, Y. (2002). The lauric (coconut and palmkernel) oils. In: **Vegetable oils in food technology: composition, properties and uses**. Ed. Gunstone, F.D. BlackWell Publishing, British, p. 157-201.

RIBEIRO, A.P.B.; BASSO, R.C.; GRIMALDI, R., GIOIELLI, L.A., GONÇALVES, L.A.G. (2009). Instrumental methods for the evaluation of interesterified fats. **Food Anal. Method**, n. 2, 282-302.

SHARPLES, A. (1996). Overall kinetics of crystallization. In A. Sharples (Ed.), Introduction to polymer crystallization (pp. 44–59). London: Edward Arnold.

SHI, Y.; LIANG, B.; HARTEL, R.W. (2005). Crystal morphology, microstructure, and textural properties of model lipid systems. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 82, n.6, p. 399-408.

SMITH, K.W. (2001) Crystallization of Palm Oil and Its Fractions. In: **Crystallization Processes in Fat and Lipid systems**. Ed. Gartin; N.; Sato, K., Marcel and Dekker, Inc., Suiça, p. 357-380.

SMITH, K.W.; CAIN, F.W.; TALBOT, G. (2005). Crystallisation of 1,3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol and tripalmitoylglycerol and their mixtures from acetone. **European Journal of Lipid Science and Technology** special issue: lipid structure and fat crystallization, vol 107, n. 9, p. 583–593.

SULAIMAN, M.Z.; SULAIMAN, N.M.; KANAGARATNAM, S. (1997). Triacylglycerols responsible for the onset of nucleation during clouding of palm olein. **Journal Of The American Oil Chemists' Society**, vol. 74, n. 12, p. 1553-1558.

TIMMS, R.E. (2007). Fractionation of palm oil: current status, future possibilities**. International news on fats, oils and related materials: informe**, vol. 18, n. 1, p. 59-62.

TIMMS, R.E. (2003). **Confectionery fats handbook: properties, production and application**. The oily Press, England, vol. 14, p. 441.

TIMMS R.E. (1984). Phase behaviour of fats and their mixtures**. Prog. Lipid Res**, v. 23, p. 1-38.

WIKING, L.; GRAEF, V.; RASMUSSEN, M.; DEWETTINCK, K. (2009). Relations between crystallisation mechanisms and microstructure of milk fat. **International Dairy Journal**, v. 19, n. 8, p. 424–430.

VAN LANGEVELDE, A.J., VAN MALSSEN, K., PESCHAR, R., SCHENK, H. (2001). Effect of temperature on re-crystallization behaviour of cocoa-butter. **J. Am. Oil Chem. Soc**., v. 78, p. 919–925.

VAN MALSSEN, K.F., A.J. VAN LANGEVELDE, R. PESCHAR, AND H. SCHENK, Phase behavior and extended phase scheme of static cocoa butter investigated with real-time x-ray powder diffraction, **IBID**. v. 76, p. 669–676, 1999.

VEREECKEN, J.; FOUBERT, I.; SMITH, K.W.; DEWETTINCK, K. (2009). Effect of satsatsat and satosat on crystallization of model fat blends. **European Journal of Lipid Science and Technology**. special issue: crystallisation and physical properties of fats, vol. 111, n. 3, p. 243–258.

VEREECKEN, J.; FOUBERT, I.; SMITH, K.W.; SASSANO, G.J.; DEWETTINCK, K. (2010). Crystallization of model fat blends containing symmetric and asymmetric monounsaturated triacylglycerols. **European Journal of Lipid Science and Technology**, vol 112, n. 2, p. 233-245.

Capítulo 6

Estudo da modificação da cristalização de gorduras industriais zero *trans* a partir da adição de behenato de sacarose

Maria Aliciane Fontenele Domingues, Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves

(Será submetido para a revista Food Chemistry)

Estudo da modificação da cristalização de gorduras industriais zero *trans* a partir da adição de behenato de sacarose

Resumo

O presente trabalho propôs o uso de 1% de behenato de sacarose como modificador das propriedades físicas de gorduras industriais como a gordura interesterificada base óleo de soja (GI), o óleo de palma refinado (OP) e a fração mediana de palma (PMF). Verificou-se que a adição de 1% de behenato de sacarose afetou a rede cristalina das gorduras, acarretando mudanças no perfil de sólidos e na consistência. O estudo apresentou uma análise do comportamento de cristalização isotérmica das misturas de gorduras industriais com 1% de behenato de sacarose nas temperaturas de 20°C e 25°C. A temperatura apresentou maior efeito sobre a velocidade de cristalização (k) que a presença do emulsificante, contudo, o behenato de sacarose influenciou o mecanismo de cristalização, indicando mudanças no expoente de Avrami (n). Essas mudanças também foram visualizadas na microestrutura das gorduras. A adição de 1% de behenato de sacarose influenciou o comportamento polimórfico, com possível retardo da transição β'→β para a gordura interesterificada, nenhum efeito sobre a PMF e formação do polimorfo β no óleo de palma.

Abstract

This paper proposed the use of sucrose behenate at the concentration of 1% as a modifier of physical properties of industrial fats such as the soybean oil-based interesterified fat (GI), the refined palm oil (PO), and the palm mid fraction (soft PMF). It was verified that the addition of sucrose behenate affects the fat crystal lattice, altering its solids profile and consistency. This study presented an analysis of the isothermal crystallization behavior for industrial fat blends added of sucrose behenate at the concentration of 1%, considering temperatures of 20 °C and 25 °C. The temperature showed a greater effect on the crystallization rate (k) than the emulsifier presence. However, the sucrose behenate influenced the crystallization mechanism, indicating changes in the Avrami exponent (n). These changes were also detected in the

microstructure of the fats. Furthermore, the addition of sucrose behenate influenced the polymorphic behavior, with a possible delay of the transition β'→ β for the interesterified fat, and without any effect on the PMF and the formation of β polymorph in the palm oil.

1. Introdução

Com o aumento das questões de saúde sobre os ácidos graxos trans, a substituição de gorduras parcialmente hidrogenadas por óleos de palma e suas frações ou por gorduras obtidas por interesterificação tem atraído progressiva atenção da indústria. As gorduras interesterificadas se apresentaram como a principal alternativa de execelente plasticidade e com baixos teores de isômeros *trans* ou mesmo ausência desses compostos (RIBEIRO *et al*., 2009). Já o óleo de palma e suas frações são normalmente usados como ingredientes nos *shortenings*, devido à sua fácil disponibilidade, características físicas e competitividade dos preços (NOR-AINI E MISKANDAR, 2007). No entanto, essas alternativas devem fornecer a mesma funcionalidade do produto que contém a indesejável gordura *trans* (GRAEF *et al*., 2007).

Considerando que este processo de substituição tem sido ampliado, os problemas de comportamento de cristalização devido à não adequação das novas frações gordurosas são inúmeros, destacando-se problemas como as transições polimórficas indesejáveis, exsudação de óleo, desenvolvimento de *fat bloom*, formação de aglomerados cristalinos, além de bases gordurosas com teor máximo de gordura sólida ou períodos de indução incompatíveis com determinadas aplicações industriais. Características das gorduras, tais como espalhamento, dureza e sensação na boca, são altamente dependentes da estrutura formada pela rede de cristais de gordura (MARANGONI, 2002).

Os *shortenings* são gorduras técnicas, geralmente adicionadas de emulsificantes, conhecidos por fornecerem propriedades desejáveis de textura aos produtos (MATTIL, 1964; ZHANG *et al*., 2013). Assim, verifica-se a importância do estudo dos efeitos provocados pela adição dos emulsificantes nestas bases gordurosas a partir da necessidade de se disponibilizar soluções adequadas para os processos envolvendo a

cristalização e estabilização das matérias-primas de relevância industrial. Sabe-se que os ésteres de sacarose apresentam grande potencial como modificadores de cristalização de gorduras, contudo, apenas os ésteres do ácido palmítico ou esteárico foram testados até o momento. Desta forma, o presente trabalho propôs o uso de behenato de sacarose como modificador das propriedades físicas das seguintes gorduras industriais: gordura interesterificada base soja (GI), óleo de palma (OP) e fração mediana de palma (PMF).

2. Material e Métodos

2.1 Matérias-Primas

O estudo utilizou óleo de palma refinado fornecido pela Agropalma (Brasil); uma fração mediana de palma (PMF) fornecida pela Fuji Oils Co (Japão) e uma gordura interesterificada base soja. Para a produção da gordura interesterificada foram utilizados 70% de óleo de soja, adquirido em um mercado local e 30% de óleo de soja totalmente hidrogenado fornecido pela Triangulo Alimentos (Brasil). Foi utilizado o emulsificante em pó behenato de sacarose (B-370), HLB 3, fornecido pela Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation (Japão), na proporção de 1% (m/m).

2.1.1 Preparação das amostras

As gorduras foram aquecidas até completa fusão. Em seguida, foram preparadas três misturas de gordura com adição de 1% de emulsificante (m/m): óleo de palma + 1% de B-370; PMF + 1% de B-370 e gordura interesterificada base soja + 1% de B-370. As misturas foram homogeneizadas até completa fusão do behenato de sacarose (observação visual).

2.2 Métodos

2.2.1 Composição em ácidos graxos

A composição em ácidos graxos foi realizada pelo Método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2009) em Cromatógrafo em fase gasosa CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, com injetor automático e detector de ionização em chama (FID). O preparo dos ésteres metílicos foi realizado pelo método de Hartman e Lago (1973), e a separação utilizando coluna capilar de sílica fundida DB-23 AGILENT (50% cianopropil-metilpolisiloxano, 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de espessura do filme). As condições de análise foram: temperatura do forno: 110°C/5min, 110 °C-215 °C (5°C/min), 215°C/24min; temperatura do detector: 280 °C; temperatura do injetor: 250 °C; gás de arraste: hélio, razão *split* 1:50; volume de injeção: 1 µL. A composição qualitativa foi determinada comparando os tempos de retenção de cada pico, com os respectivos padrões de ácidos graxos. A análise foi realizada em triplicata.

2.2.2 Composição Triacilglicerólica

A composição triacilglicerólica foi realizada pelo Método AOCS Ce 5-86 (AOCS, 2009), utilizando cromatógrafo gasoso CGC AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM, coluna capilar cromatográfica DB-17 HT AGILENT (50% fenil– metilpolissiloxano, 15m de comprimento, 0,25mm de diâmetro interno, 0,15 µm de espessura do filme). As condições cromatográficas foram: injeção split; razão 1:100; temperatura da coluna: 250°C, programada até 350°C numa razão de 5°C/min; gás de arraste: hélio, numa vazão de 1mL/min; temperatura do injetor: 360°C; temperatura do detector: 375°C; volume de injeção: 1µL; concentração da amostra: 100mg/5mL de tetrahidrofurano. Os grupos de triacilgliceróis foram identificados por comparação dos tempos de retenção, seguindo os procedimentos descritos por Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995). A análise foi realizada em triplicata.

2.2.3 Conteúdo de gordura sólida (SFC)

Foi determinado utilizando Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, acoplados a banhos secos com faixa de temperatura de 0°C a 70°C, Tcon 2000 (Duratech, EUA). Foi utilizado o Método AOCS Cd 16b- 93: método direto com leitura das amostras em série nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65°C, com temperagem para gorduras não estabilizadas (AOCS, 2009).

2.2.4 Consistência

A consistência foi determinada utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT2i (Stable Micro Systems), controlado por microcomputador. As amostras foram totalmente fundidas para destruição do histórico cristalino. Em seguida foram condicionadas a 5 °C por 24h e então estabilizadas na temperatura de análise por mais 24h. O condicionamento das amostras foi efetuado em estufa (BIOSYSTEMS) com controle de temperatura, sendo que a análise foi realizada nas seguintes temperaturas 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 °C. Para a análise foi utilizado cone de acrílico com ponta não truncada e ângulo de 45°. As determinações foram realizadas nas seguintes condições: distância de 10mm; velocidade de 2mm/s; tempo de 5s; em triplicata para cada amostra (RODRIGUES, GIOIELLI, ANTON, 2003). A partir destas condições, obteve-se a força de compressão em gf. Os dados de penetração foram convertidos em *yield value*, conforme Haighton (1959)

$$C=\frac{KW}{p^{1,6}},$$

onde C é o *yield value* medido em gf/cm^2, K é o fator dependente do ângulo do cone (igual a 4700, para cone de 45°), W é a força de compressão medida em gf e p é a profundidade de penetração (igual a 10 mm).

2.2.5 Cinética de cristalização

As amostras foram fundidas e mantidas em banho seco Tcon 2000 (Duratech, EUA) na temperatura de 70 °C para completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado na temperatura de 20°C. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada minuto, durante 90 minutos. A caracterização da cinética de cristalização foi realizada segundo o período de indução (t_{SFC}), teor máximo de sólidos ($SFC_{máx}$) e tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami não linearizada, empregada para o estudo da cristalização é dada por (MARANGONI, 1998)

$$SFC=SFC_{max}\,(1-e^{-kt^{n}}),$$

onde SFC_{max} é o conteúdo limite de gordura sólida, *k* é a constante de Avrami (min^{-n}), o qual considera tanto a nucleação e crescimento do cristal e *n* é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais. O meio tempo de cristalização $t_{1/2}$ expressa a magnitude dos valores de k e n de acordo com

$$t_{1/2}=\left(\frac{0,693}{k}\right)^{1/n}.$$

2.1.1 Microestrutura

A microestrutura (morfologia e dimensões cristalinas) das amostras foi determinada por microscopia sob luz polarizada. As amostras foram fundidas à temperatura de 70°C em estufa. Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida em temperatura controlada (semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), sendo coberta com uma lamínula. As lâminas foram preparadas em duplicata e cristalizadas a 25°C em estufa (BIOSYSTEMS) por 2h. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus) acoplado a câmara de vídeo digital (Media Cybernetics). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à mesma temperatura de cristalização. As imagens foram capturadas pelo software Image Pro-

Plus (Media Cybernetics) versão 7.01, utilizando luz polarizada e com ampliação de 40 vezes. Para cada lâmina foram focalizados três campos visuais, dos quais apenas um foi escolhido para representar os cristais observados (GAMBOA, GIOIELLI, 2006). Os parâmetros de avaliação selecionados para a análise quantitativa das imagens no software Image Pro-Plus foram o diâmetro médio dos cristais e proporção de área cristalizada. Foi utilizado o *software Benoit* 1.3 (*TruSoft* International Inc.) para determinação da dimensão fractal das amostras, pelo método da contagem de caixas.

2.1.2 Comportamento térmico

A análise térmica das amostras foi realizada por calorimetira diferencial de varredura (DSC) em um equipamento (modelo Q2000 – TA *Instruments*), utilizando o índio (TA *Instruments*) como padrão para calibração.

Foi adicionado de 4mg a 10mg de amostra em panelas herméticas de alumíno. A análise foi realizada de acordo com o Método AOCS Cj 1-94 (AOCS 2009). As condições de análise foram:

- Evento de cristalização: 1) Equilibra a 80°C (10min); 2) Rampa de resfriamento 10°C/min até -60°C,
- Evento de fusão: 1) Equilibra a -40°C (30min); 2) Rampa de aquecimento 5°C/min até 80°C.

Foram utilizados os seguintes parâmetros para avaliação dos resultados: temperatura *onset* de cristalização (T_c), entalpia de cristalização (ΔH_c) e altura de pico de cristalização (Ap_c) seguindo os mesmos parâmetros para fusão, temperatura *onset* de fusão (T_f), entalpia de fusão (ΔH_f) e altura de pico de fusão (Ap_f). A análise foi realizada em triplicata.

2.1.3 Polimorfismo e Difração de Raios-X

A forma polimórfica dos cristais de gordura das amostras foi determinada por difração de Raios-X, segundo o Método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2004). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-

Bretano (Θ:2Θ) com radiação de Cu-Kα (λ = 1.54056Å, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,02° em 2Θ e tempo de aquisição de 2 segundos, com *scans* de 15 a 27° (escala 2Θ). As amostras foram fundidas em microondas a aproximadamente 80 °C e estabilizadas a 25 °C por 24 horas em BOD. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais. Os teores dos diferentes tipos de cristais foram estimados pela intensidade relativa dos *short spacings* (β' = 3.80Å e 4.20Å; β = 4.60Å) (AOCS, 2009; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

3. Resultados e Discussão

3.1 Composição química

Os ácidos oléico e linoléico foram os principais ácidos graxos insaturados para as três gorduras. A gordura interesterificada apresentou o maior teor de ácidos graxos insaturados e TAGs SUU e UUU, seguida pelo óleo de palma. A PMF apresentou o menor teor de TAGs SUU e UUU (Tabela 1). Os TAGs SUU e UUU, representam a fase líquida da gordura, sendo que a gordura interesterificada apresentou a maior proporção de fase líquida, seguida pelo óleo de palma. De acordo com Chaiseri e Dimick (1995) o SFC depende da quantidade de TAGs SUU presentes na gordura, quanto maior a quantidade, mais suave será a gordura.

Tabela 1. Teor de ácidos graxos insaturados e triacilgliceróis SUU+UUU e SSS das gorduras industriais em estudo.

Amostra de gordura	Ácidos graxos Insaturados (%)	TAG's SUU+UUU (%)	TAG's SSS (%)
GI	58,61	61,63	9,90
ÓP	50,21	41,56	10,28
PMF	45,37	33,62	15,76

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); SSS (trissaturados); SUU (monossaturado); UUU (tri-insaturado).

3.2 Efeito sobre o perfil de sólidos das gorduras

O perfil de sólidos das três gorduras industriais, gordura interesterificada (GI), óleo de palma e fração mediana de palma (PMF) adicionadas de behenato de sacarose estão apresentados na Figura 1. Observa-se que não ocorreram mudanças pela incorporação do emulsificante a PMF. Entre 10 °C e 25 °C, verificou-se um piqueno aumento no teor de sólidos do óleo de palma com behenato de sacarose, enquanto que a adição de behenato de sacarose à gordura interesterificada aumentou expressivamente o teor de sólidos, onde o processo de recristalização observado entre as temperaturas de 15 °C e 25 °C, foi corrigido pela presença do emulsificante.

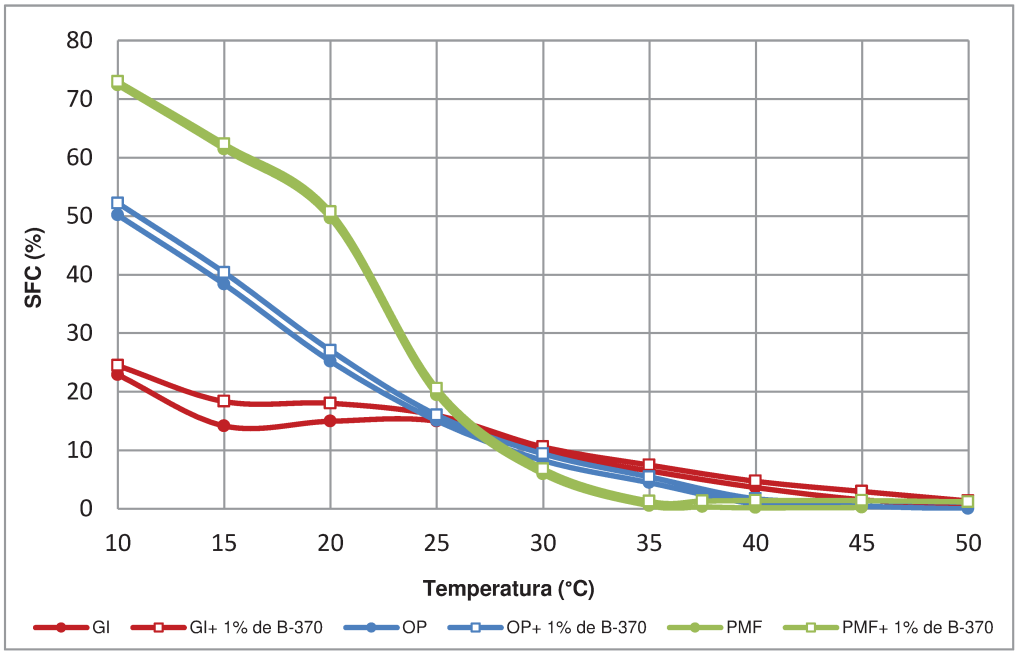


Figura 1. Conteúdo de gordura sólida (SFC) das gorduras industriais e sua mistura com 1% de Behenato de sacarose (B-370).

*GI (gordura interesterifiaca); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma)

Os emulsificantes são associados com os TAGs, através dos seus grupos hidrofóbicos, especificamente a interacção acil-acil. O grupo acila dos emulsificantes determina a sua funcionalidade em relação ao TAG. Os principais efeitos dos aditivos sobre os cristais de gordura ocorrem na etapa de nucleação, na transformação polimórfica e no crescimento de cristais. Estes efeitos alteram as propriedades físicas

da gordura, tais como tamanho do cristal, conteúdo de gordura sólida (SFC) e arranjos cristalinos (KATSURAGI, 1999). Embora, os ésteres de sacarose, neste caso o behenato de sacarose, apresente miscibilidade limitada em meio líquido, tanto pela maior estrutura molecular da sacarose (Garbolino et al, 2005), quanto pelo tamanho da cadeia acila (C22:0), a ação de impureza poderia justificar o maior efeito do behenato de sacarose sobre o SFC das gorduras com maior teor de fase líquida (GARTI E YANO, 2001). Miskandar *et al*. (2007), também verificaram que a maior presença de fase líquida na gordura, garantia o maior efeito do emulsificante quanto ao teor de sólidos.

3.3 Efeito da adição de behenato de sacarose sobre a consistência das gorduras industriais

A textura constitui importante atributo usado pelos consumidores para avaliar a qualidade dos alimentos, pois influencia na sensação na boca durante a degustação dos produtos. A consistência das gorduras é determinada pelo SFC, e também influenciada pelo polimorfismo e pela rede de cristais de gordura, o que por sua vez são resultantes da composição da gordura e condições de cristalização (MARANGONI E NARINE, 2002). A Figura 2 apresenta a consistência das gorduras industriais e suas misturas com behenato de sacarose nas temperaturas de 20°C e 25°C. Na temperatura de 20°C, observou-se que a adição de behenato de sacarose aumentou a consistência do óleo de palma (de 390 gf/cm^2 para 1250 gf/cm^2) e da PMF (de 4165 gf/cm^2 para 7662 gf/cm^2), enquanto que para a gordura interesterificada verifica-se uma pequena redução (de 942 gf/cm^2 para 681 gf/cm^2). Na temperatura de 25°C, o óleo de palma apresentou consistência de 93 gf/cm^2, mostrando menor resistência ao aquecimento, provavelmente devido a sua ampla faixa de fusão e ao seu complicado comportamento de fase. Os principais TAG's do óleo de palma (POP, POO, PPP), geralmente formam uma mistura eutética, com consequente amolecimento da gordura (SMITH, 2000) em temperatura ambiente. O óleo de palma adicionado de behenato de sacarose apresentou consistência de 492 gf/cm^2 a 25°C, indicando aumento de cinco vezes em comparação a consistência do óleo de palma. Pouca diferença foi observada quando o behenato de sacarose esteve presente na gordura interesterificada (de 288 gf/cm^2 para 346 gf/cm^2), indicando que apesar de ter contribuído com o ajuste do SFC, não alterou

a dureza da gordura interesterificada, mantendo sua característica de maciez. Embora não tenha apresentado efeito sobre o SFC da PMF, a adição de behenato de sacarose contribuiu com um grande aumento na consistência da PMF na temperatura de 25°C.

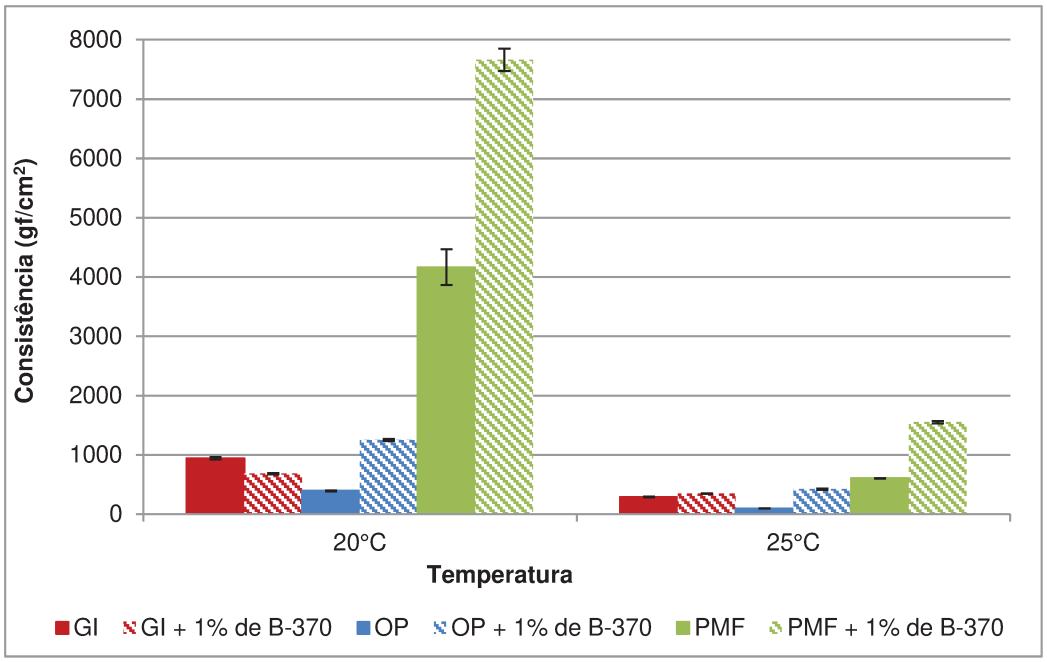


Figura 2. Valores de consistência das gorduras industriais usadas neste estudo e suas misturas com 1% de behenato de sacarose (B-370).

*GI (gordura interesterifiaca); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma)

3.4 Efeito sobre a cinética de cristalização das gorduras

Para efeito de comparação com os resultados obtidos na análise de consistência, foi realizada a cinética de cristalização de todas as amostras sob duas condições isotérmicas, a 20 °C e 25 °C. A Figura 3 apresenta o comportamento de cristalização das amostras. Observou-se que a 20 °C a adição de behenato de sacarose influenciou o comportamento de cristalização de todas as gorduras. Para a gordura interesterificada, a adição de behenato de sacarose provocou menor inclinação na curva, indicando redução no SFC máximo, contudo, antecipou seu tempo de indução. Para o óleo de palma, embora a adição de behenato de sacarose também tenha reduzido a inclinação da curva de cristalização, maior tempo de indução foi verificado. Entretanto, a maior mudança foi observada para a presença de behenato de sacarose na PMF, onde a curva de cristalização alcança um maior teor de sólidos.

Por outro lado, não foram observadas mudanças significativas no comportamento de cristalização das gorduras com aumento da temperatura para 25 °C. Nesta temperatura, a gordura interesterificada apresentou o mesmo tempo de indução observado na isoterma a 20 °C. Contudo, a adição de behenato de sacarose aumentou a formação de sólidos na gordura interesterificada e diminuiu no óleo de palma. Para a *soft* PMF, depois de 90 minutos, nenhuma cristalização foi detectada, mesmo com a adição do emulsificante. Os ésteres de sacarose são conhecidos por retardar a cristalização. De acordo com Martini et al (2002), utilizando os ésteres de sacarose P-1670, P-170 e S-170 no estudo de cristalização da gordura de leite, reportaram que a adição de P-1670 atrasou a cristalização a 40 °C, mas não teve efeito em temperaturas mais baixas. Na temperatura de 35 °C, o S-170 atrasou menos a cristalização que o P-170, devido a menor presença de ácido esteárico na gordura de leite, mas ambos os emulsificantes não apresentaram efeitos a temperaturas mais baixas. Neste estudo, verificou-se um efeito contrário, onde os efeitos da adição de behenato de sacarose foram mais evidentes a 20 °C que a 25 °C.

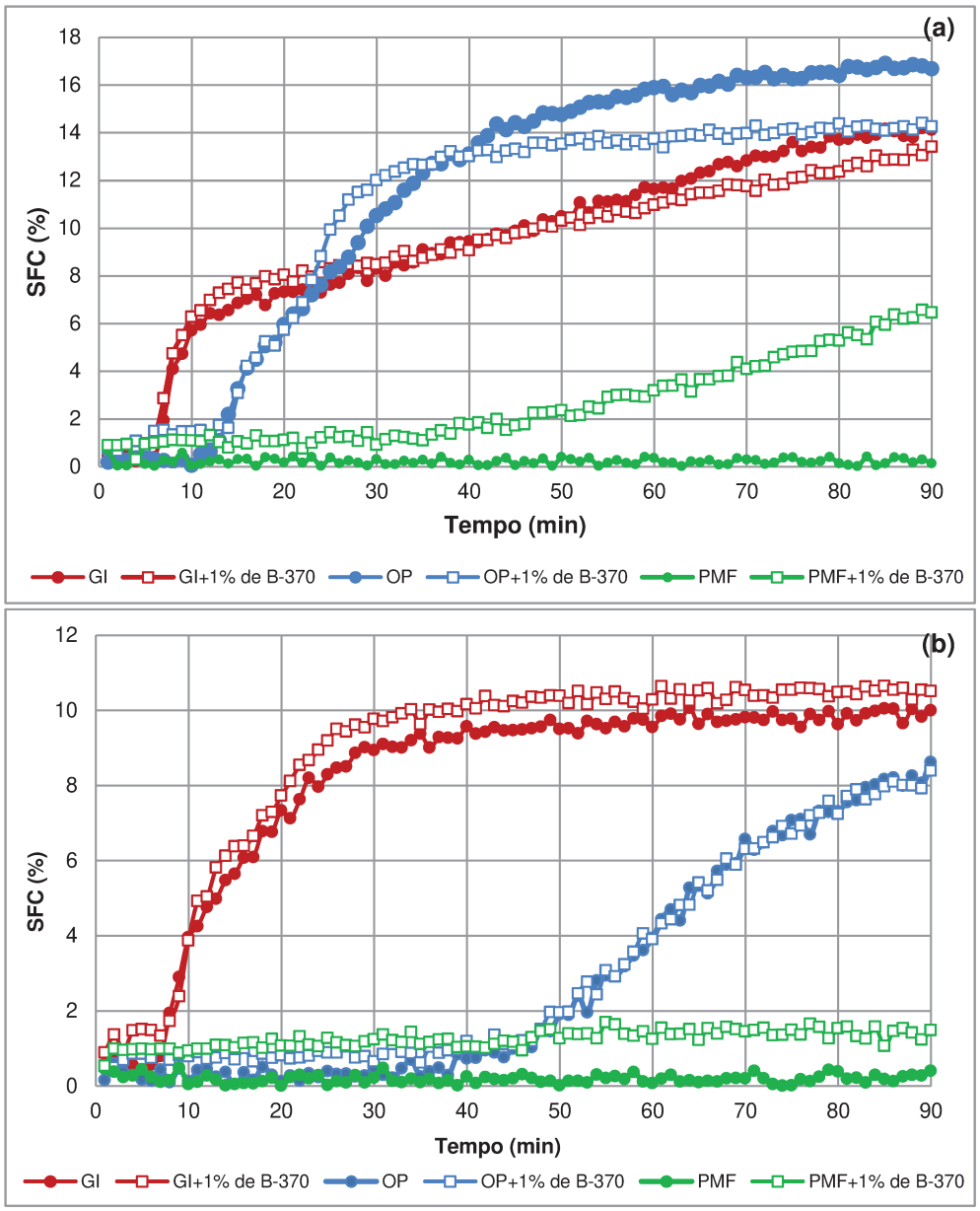


Figura 3. Isoterma de cristalização a 20 °C (a) e a 25 °C (b) das gorduras industriais e suas misturas com 1% de behenato de sacarose (B-370).

*GI (gordura interesterifiaca); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma)

A cinética de cristalização foi caracterizada por adaptação da equação de Avrami aos dados de cristalização por meio de regressão não linear. A equação se ajustou muito bem aos dados, apresentando coeficientes de correlação maiores que 0,92. A constante de Avrami (k), o expoente Avrami (n), e o meio tempo de cristalização ($t_{1/2}$) foram determinados a partir dos ajustes das curvas e estão apresentados na Tabela 2 e 3.

Tabela 2. Tempo de indução (t_{SFC}), conteúdo máximo de gordura sólida ($SFC_{máx}$), constante de *Avrami* (*k*), expoente de *Avrami* (*n*) e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) das amostras em estudo cristalizadas a 20°C.

Amostras	t_{SFC} (min)	$SFC_{máx}$ (%)	*k* (min^{-n})	*n*	$t_{1/2}$ (min)	R^2
GI	7	14,12	$38,1x10^{-3}$	0,9434	21,61	0,94
GI+1% de B-370	6	13,4	$77,7x10^{-3}$	0,7711	17,06	0,92
OP	13	16,67	$1,0x10^{-3}$	1,9860	26,22	0,99
OP+1% de B-370	15	14,24	$0,3x10^{-3}$	2,5642	21,50	0,99
PMF	90	0,677				
PMF+1% de B-370	31	6,56	$0,05x10^{-3}$	2,3470	57,74	0,93

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); B-370 (behenato de sacarose).

Para a cristalização isotérmica a 20°C, observa-se que o behenato de sacarose acelerou a cristalização da gordura interesterificada, apresentando valor de k superior aquele obtido sem a adição do emulsificante. Nesta temperatura, foi possível observar a cristalização da PMF adicionada de behenato de sacarose e ajustar os dados ao modelo de Avrami. Para o óleo de palma, a adição do emulsificante resultou em um valor de k mais baixo, indicando que o behenato de sacarose retardou a cristalização do óleo de palma. A constante de Avrami k, que indica a velocidade do processo de cristalização, diminuiu com o aumento da temperatura. Quando as gorduras foram cristalizadas a 25°C não foram observadas diferenças nos valores de k para as amostras com e sem behenato de sacarose (Tabela 3). De acordo com Miskandar *et al.* (2007) a atuação de um emulsificante como promotor ou retardador da cristalização de óleos e gordura, depende de vários fatores. No entanto, Katsuragi (1999) sugeriu que os grupos acila semelhantes promovem a cristalização, enquanto diferentes grupos acila retardam o desenvolvimento de cristais.

Tabela 3. Tempo de indução (t_{SFC}), conteúdo máximo de gordura sólida ($SFC_{máx}$), constante de *Avrami* (*k*), expoente de *Avrami* (*n*) e seus respectivos coeficientes de determinação (R^2) das amostras em estudo cristalizadas a 25°C.

Amostras	t_{SFC} (min)	$SFC_{máx}$ (%)	*k* (min^{-n})	*n*	$t_{1/2}$ (min)	R^2
GI	7	10,07	$13,00x10^{-3}$	1,5043	14,00	0,98
GI+1% de B-370	7	10,64	$13,00x10^{-3}$	1,5428	13,28	0,98
OP	46	8,61	$0,00015x10^{-3}$	3,7135	61,81	0,97
OP+1% de B-370	43	8,39	$0,00015x10^{-3}$	3,7379	60,17	0,98
PMF	90	0,445	-	-	-	-
PMF+1% de B-370	90	1,644	-	-	-	-

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); B-370 (behenato de sacarose).

A temperatura influenciou mais o valor de k que a presença do emulsificante. Contudo, o expoente de Avrami n é um melhor indicador desta mudança, pois é sensível tanto ao mecanismo de nucleação quanto a dimensionalidade do crescimento (SHARPLES, 1996). Observou-se que na temperatura de 20°C, o valor de n da gordura interesterificada foi maior em relação à adição de behenato de sacarose, contudo, ambos os valores foram abaixo de 1. Os expoentes fracionados se correlacionam com mecanismos de crescimento muito específicos. Nesses casos, um expoente de aproximadamente 0,5 pode indicar a formação de precipitados sobre uma estrutura cristalina com defeito (CHRISTIAN, 1965, WRIGTH *et al.*, 2000). A formação de precipitados cristalinos pode ter contribuído para reduzir o valor de n da gordura interesterificada adicionada de behenato de sacarose, da mesma forma que diminuiu o $t_{1/2}$, contudo, pode-se dizer que ambas apresentaram processo de nucleação instantânea, com formação de muitos pequenos cristais (LITWINENKO *et al.*, 2004), sugerindo um crescimento cristalino em uma única dimensão (WRIGHT *et al.*, 2000). Por outro lado, tanto a PMF quanto o óleo de palma com behenato de sacarose apresentaram um valor de ~2,5 para n, o que pode ser considerado como crescimento esferulítico e em mais de uma dimensão. Para o óleo de palma observamos um valor de n de aproximadamente 2, que representa alta velocidade de nucleação e forma de crescimento semelhante a placa, onde o crescimento cristalino é ao longo de duas dimensões (MARTINI *et al.*, 2002; WRIGHT *et al.*, 2000).

Observando a Tabela 3, de acordo com a análise de Avrami, dois mecanismos diferentes de cristalização foram verificados para as duas temperaturas estudadas. Quando as amostras foram analisadas a 25°C, não foi observada cristalização para a PMF e PMF adicionada de behenato de sacarose. O óleo de palma adicionado de behenato de sacarose apresentou valor de n superior ao óleo de palma sem emulsificante, contudo, estes valores foram muitos próximos e ambos indicaram um processo de nucleação esporádica com mecanismo de crescimento multidimensional (LITWINENKO *et al*., 2002; SINGH *et al*., 2004). Em conformidade com este resultado, os resultados para $t_{1/2}$ também foram altos. O valor de n para as amostras de gordura interesterificada foram maiores que os obtidos a 20°C, mas a adição de behenato de sacarose contribuiu para um valor de n um pouco maior. No entanto, como o teor máximo de sólidos foi menor, o $t_{1/2}$ foi muito menor que os observados a 20°C. Uma observação importante em relação ao expoente de Avrami foi que tanto a 20°C quanto a 25°C, quando as amostras apresentaram maior valor de n, o valor de consistência apresentado pela respectiva amostra também foi maior.

3.5 Efeito sobre a microestrutura das gorduras industriais

A microestrutura das três gorduras industriais foi analisada por microscopia sob luz polarizada. Observa-se na Tabela 4 e na Figura 4, que adição de behenato de sacarose resultou em algumas mudanças na característica dos elementos microestruturais de cada gordura. A incorporação do emulsificante à gordura interesterificada e à PMF proporcionou maior diâmetro de cristal (~ 6,0 μm). Uma explicação para este efeito seria a nucleação instantânea apresentada por estas amostras, ou seja, a formação de núcleos cristalinos em menor tempo, enquanto que o atraso provocado pelo behenato de sacarose na cristalização do óleo de palma, pode ter resultado na redução do diâmetro de cristal (de ~ 10 μm para 6,0 μm). Puppo *et al.* (2002) observaram que a adição de ésteres de sacarose na gordura de leite proporcionou a diminuição do tamanho dos cristais e isto resultou na redução da consistência das amostras. A relação entre consistência e microestrutura não pode ser realizada, mas, o efeito do behenato de sacarose sobre o tamanho dos cristais

formados nas diferentes gorduras, indica que o emulsificante pode se co-cristalizar com a gordura, interferindo nas propriedades de cristalização das mesmas (Martini et al, 2002). Nenhum estudo até o momento utilizou o behenato de sacarose como modificador da cristalização de gorduras. Martini *et al.* (2002) apresentaram resultados da adição de P-170 e S-170 sobre a cristalização da mistura de gordura de leite com óleo de girassol, e embora estes ésteres de sacarose tenham reduzido o tamanho dos cristais, os mesmos atrasaram a nucleação.

Tabela 4. Diâmetro de cristal e Dimensão Fractal das gorduras industriais e sua mistura com 1% de behenato de sacarose.

Amostras	**Diâmetro médio (µm)**	**Dimensão Fractal (D_b)**
GI	4,53 ± 0,49	1,71 ± 0,05
GI+B1%	5,63± 0,47	1,50 ± 0,00
Óleo de Palma	10,24 ± 0,39	1,63 ± 0,03
Óleo de Palma+B1%	6,95± 0,82	1,60 ± 0,01
PMF	5,28 ± 0,47	1,79 ± 0,03
PMF+B1%	6,02± 0,35	1,78 ± 0,01

A Figura 4 apresenta as imagens da microestrutura das gorduras em estudo. Observou-se maior uniformidade no tamanho dos cristais formados no óleo de palma após a adição de behenato de sacarose. Já para a gordura interesterificada, alguns núcleos cristalinos de maior diâmetro, espalhados na fina rede de pequenos cristais, foram observados. A maior mudança na organização da rede cristalina foi verificada na PMF adicionada de behenato de sacarose, onde a presença da fase líquida foi bem distribuída por toda a rede. Estes resultados estão de acordo com os obtidos para a dimensão fractal das amostras (Tabela 4). A distribuição espacial da massa de cristais dentro da rede cristalina pode ser medida pela dimensão fractal, que indica a complexidade da rede cristalina. Normalmente, a maior dimensão fractal ocorre em redes que são mais ordenadas, ao passo que as redes que surgem a partir de uma nucleação e processo de crescimento mais desordenado, resultam em dimensões fractais menores (MENG *et al.*, 2010; LEE *et al.*, 2008). Desse modo, a adição de behenato de sacarose alterou a distribuição espacial dos cristais na rede das gorduras, provocando maior desordem na formação da rede de cristais da gordura

interesterificada. Já em relação ao óleo de palma e a PMF, não foram observadas diferenças expressivas em relação a dimensão fractal, embora tenha ocorrido grande diferença visual quanto à formação da rede cristalina. Os mecanismos de cristalização sugeridos e mencionados anteriormente, estão de acordo com os resultados visualizados nas imagens da microestrutura das gorduras.

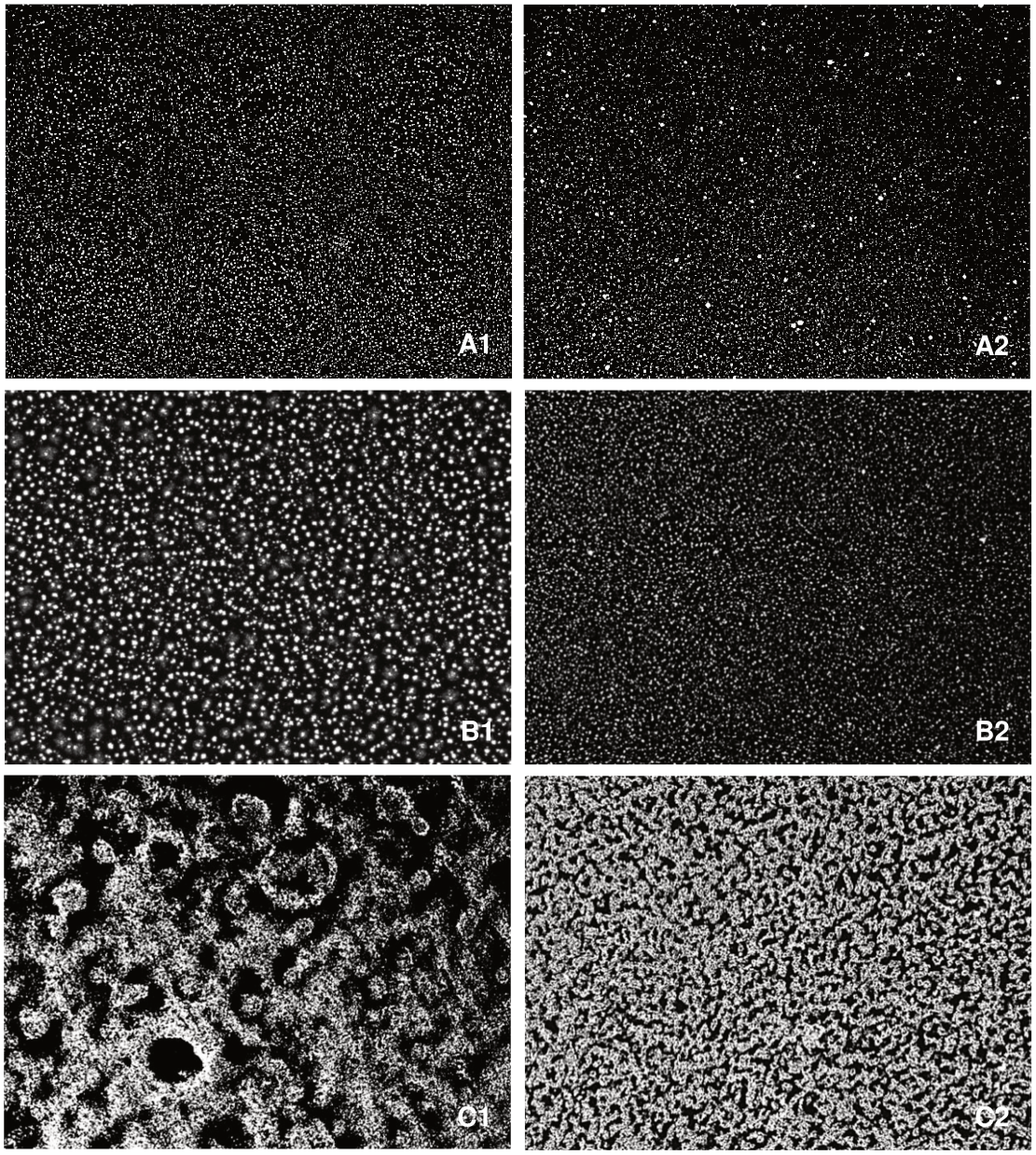


Figura 4. Microscopia sob luz polarizada das amostras de gordura interesterificada (A1); gordura interesterificada+1% de B-370 (A2); óleo de palma (B1); óleo de palma+1% de B-370 (B2); PMF (C1); PMF+1% de B-370 (C2) na temperatura de 20°C. Ampliação de 40x.

3.6 Efeito sobre o comportamento térmico das gorduras industriais

O comportamento de cristalização não isotérmico das amostras em estudo pode ser observado na Figura 5 e os resultados podem ser analisados na Tabela 5. De modo geral, o 1° evento de cristalização indica a cristalização dos TAGs trissaturados e dissaturados, enquanto o 2° evento indica a cristalização dos TAGs mais insaturados. A adição de behenato de sacarose influenciou o comportamento de cristalização dos TAGs trissaturados. Para a gordura interesterificada, o emulsificante apresentou efeito acelerador da cristalização, contudo, a intensidade do evento foi maior, ou seja, a entalpia foi um pouco maior. Basso *et al.* (2010) observaram que quando o monobehenato foi adicionado ao óleo de palma, também foi detectado um aumento na entalpia do 1º evento de cristalização. Segundo estes autores, um grande aumento na liberação de calor durante o processo de cristalização pode ser prejudicial, uma vez que pode resultar em temperaturas elevadas que provocam a dissolução dos cristais já formados. O behenato de sacarose também influenciou a cristalização dos TAGs trissaturados tanto do óleo de palma quanto da PMF, mas reduziu a entalpia. O óleo de palma e a PMF apresentam características similares em relação à composição dos TAGs trissaturados, o que pode explicar o efeito semelhante do behenato de sacarose sobre essas duas gorduras. A adição de behenato de sacarose atrasou o 2º evento de cristalização da gordura interesterificada, mas observamos um pequeno efeito acelerador tanto no óleo de palma quanto na PMF. O 2° evento de cristalização consiste na cristalização dos TAGs mais insaturados. Como vimos anteriormente, a gordura interesterificada difere do óleo de palma e da PMF na composição deste grupo de TAGs, o que possibilitou a diferença entre os efeitos. A entalpia do 2° evento de cristalização foi maior para a gordura interesterificada adicionada de behenato de sacarose, enquanto houve redução da entalpia para o óleo de palma e PMF com behenato de sacarose. Analisando os resultados de ambos os eventos, observamos que o behenato de sacarose apresentou maior influência sobre os TAGs de alto ponto de fusão do óleo de palma e da PMF, mas para a gordura interesterificada, o emulsificante afetou os TAGs de alto e baixo ponto de fusão.

Tabela 5. Fenômenos térmicos de cristalização e fusão das gorduras industriais e suas misturas com 1% de behenato de sacarose.

Amostras	Picos	Evento de cristalização			Evento de fusão		
		T_{Onset} (°C)	ΔH_c(J/g)	Ap_c (W/g)	T_{Onset} (°C)	ΔH_f (J/g)	Ap_f (W/g)
GI	1º	30,06±0,12	6,82±0,29	0,33±0,03	-22,34±0,93	48,98±0,06	-0,32±0,00
	2º	18,41±0,43	29,86±0,23	0,31±0,01	24,34±0,00	22,42±0,01	-0,13±0,00
GI+1% de B-370	1º	30,56±0,37	7,03±0,19	0,39±0,07	-24,71±0,87	61,39±2,73	-0,34±0,03
	2º	17,88±0,50	34,46±0,74	0,33±0,00	23,97±0,12	26,74±0,37	-0,15±0,00
OP	1º	19,19±0,09	10,71±0,01	0,73±0,00	-21,72±1,49	46,70±0,62	-0,25±0,01
	2º	5,88±0,08	39,76±0,02	0,45±0,00	13,72±0,62	39,40±0,72	-0,18±0,00
OP+1% de B-370	1º	21,67±0,28	9,10±0,38	0,49±0,04	-24,02±2,46	55,10±2,75	-0,27±0,00
	2º	6,07±0,35	38,32±0,18	0,45±0,00	13,21±0,43	43,95±0,35	-0,20±0,01
PMF	1º	17,57±0,08	6,27±0,00	0,39±0,00	-21,40±2,28	23,06±1,03	-0,19±0,00
	2º	8,93±0,00	44,76±0,05	0,71±0,00	15,33±0,06	21,78±0,63	-0,17±0,00
PMF+1% de B-370	1º	18,06±0,61	4,02±0,00	0,25±0,05	-20,6±2,67	16,20±3,16	-0,14±0,02
	2º	9,30±0,35	41,41±2,88	0,72±0,00	15,20±0,26	16,92±0,37	-0,12±0,00

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); B-370 (behenato de sacarose).

A adição de behenato de sacarose também modificou o comportamento de fusão das gorduras industriais em estudo. Observa-se na Figura 6 e Tabela 5 que a adição de behenato de sacarose adiantou os eventos de fusão da gordura interesterificada e do óleo de palma, mas apenas o 2º evento de fusão da PMF foi adiantado, indicando uma possível mudança na estabilidade das gorduras. Verificou-se que o pico exotérmico, que indica a recristalização da gordura devido a transformação polimórfica, não apresenta alteração na gordura interesterificada, foi maior no óleo de palma e diminuiu na PMF. Isto sugere que a PMF adicionada de behenato de sacarose apresentou maior estabilidade que as demais gorduras.

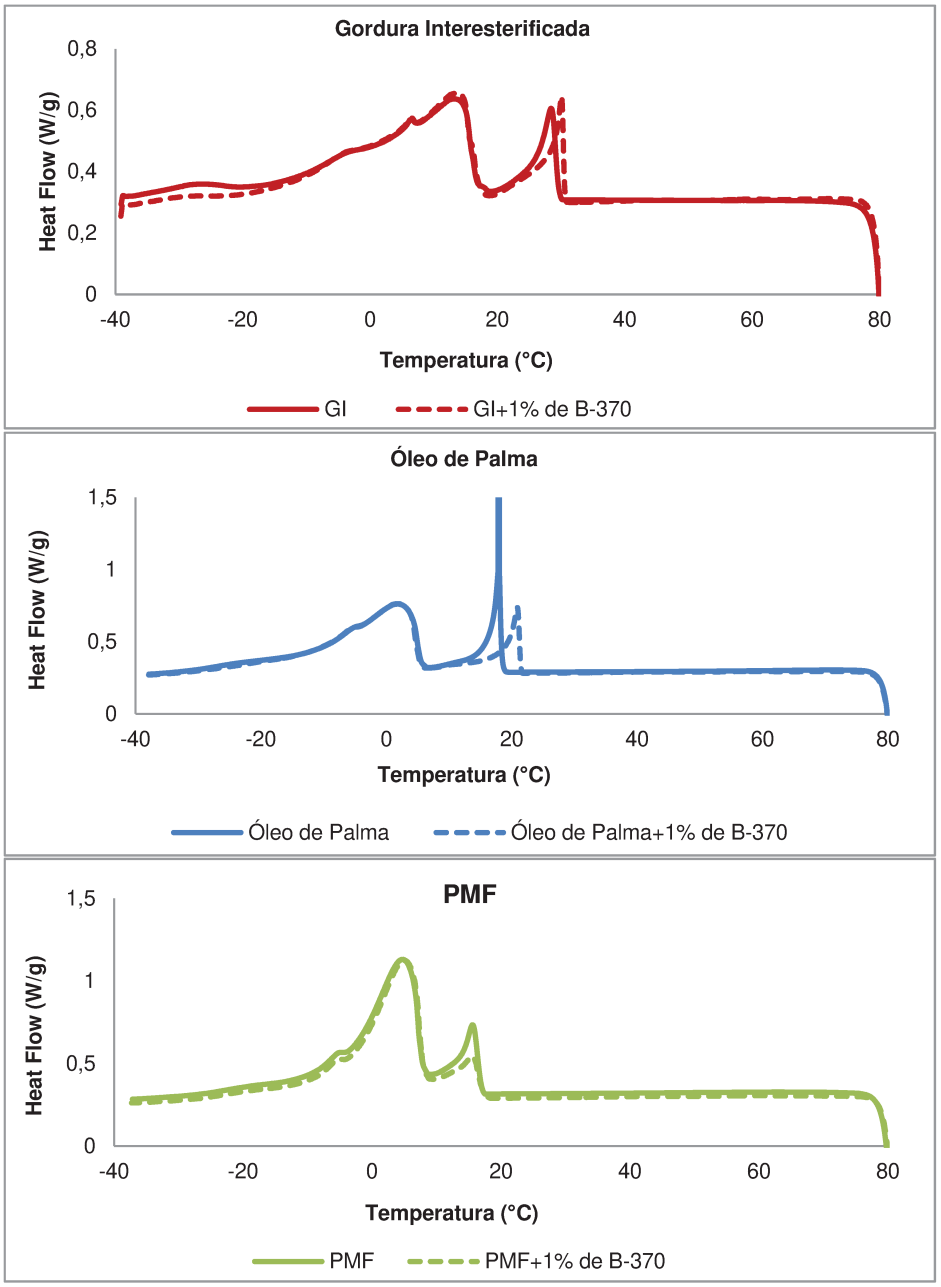


Figura 5. Fenômeno térmico de cristalização das gorduras industriais em estudo e suas misturas com 1% behenato de sacarose (B-370).

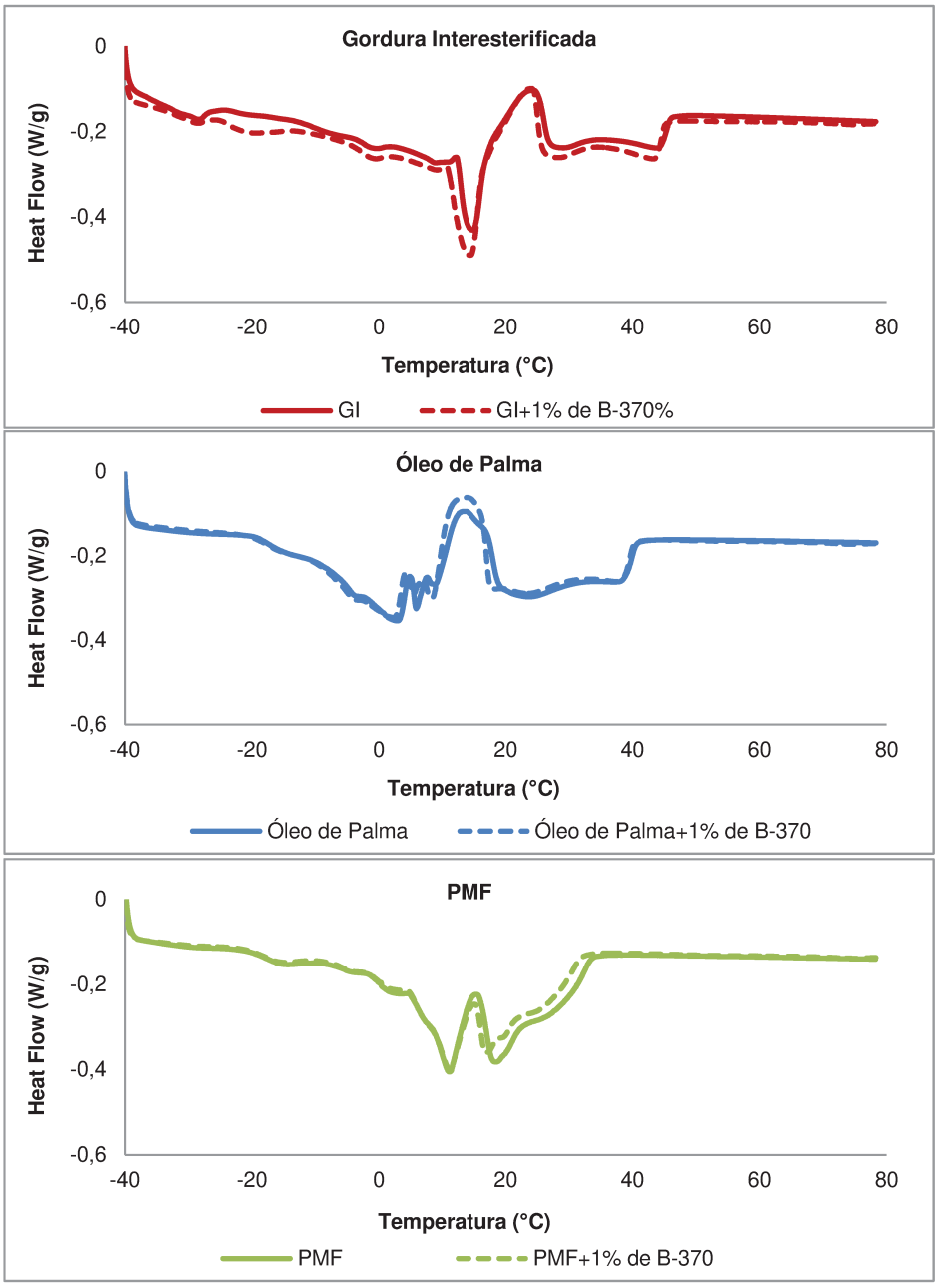


Figura 6. Fenômeno térmico de fusão das gorduras industriais em estudo e suas misturas com behenato de sacarose (B-370).

3.7 Efeito sobre o comportamento polimórfico das gorduras industriais

A estrutura cristalina dos alimentos é importante para a textura, estabilidade e qualidade do produto final. É esta estrutura cristalina, que determina aparência do produto, propriedades mecânicas, sensação na boca durante o consumo e sua vida de prateleira (HARTEL, 2002). O comportamento polimórfico das gorduras foi interpretado a partir dos estudos de D'Souza DeMan e DeMan (1990), Braipson-Danthine e Gibón (2007) e Ribeiro *et al.* (2009).

Tabela 6. Formas polimórficas e short spacings das gorduras industriais e suas mistruas com 1% de behenato de sacarose.

Amostras	Short spacings (Å)							Forma polimórfica
	5.4	4.6	4.3	4.2	3.9	3.8	3.6	
GI		4.61 (m)		4.17 (s)	3.92 (vw)	3.72 (m)		β'+β
GI+1% de B-370		4.64 (m)		4.17 (s)		3.72 (m)		β'>β
OP	5.37 (vw)		4.39 (vw)	4.21 (s)		3.81 (m)		β'
ÓP+1% de B-370	5.38 (vw)	4.61 (w)	4.35 (w)	4.20 (s)	4.04 (w)	3.80 (m)		β'+β
PMF	5.36 (m)			4.23 (s)		3.85 (m) 3.81 (vw)	3.61 (vw)	β'
PMF+1% de B-370	5.32 (m)			4.20 (s)		3.86 (m)	3.58 (vw)	β'

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); B-370 (behenato de sacarose).
*Intensidade dos picos: Forte (s); Muito forte (vs); Médio (m); Fraco (w); Muito fraco (vw)

Os TAGs das gorduras podem cristalizar em diferentes formas polimórficas com base no arranjo das moléculas no interior da matriz cristalina. Geralmente três polimorfos principais são caracterizados nas gorduras (α, β' e β) (HARTEL E KAYLEGIAN, 2001), no entanto, para manutenção da qualidade dos alimentos, apenas a fase termodinamicamente estável deve estar presente. A Tabela 6 e a Figura 7 mostram o comportamento polimórfico das gorduras industriais e suas misturas com behenato de sacarose. Observou-se que a adição de behenato de sacarose pouco alterou o comportamento polimórfico das gorduras, contudo, a intensidade dos picos foi maior quando o emulsificante esteve presente. O behenato de sacarose foi capaz de diminuir a presença do polimorfo β na gordura interesterificada, indicando atraso na

transição β'→β. Por outro lado, a presença de behenato de sacarose no óleo de palma, promoveu a formação do polimorfo β, enquanto não foram observadas grandes diferenças para a adição de Behenato de sacarose a PMF. Tanto a gordura interesterificada quanto a PMF cristalizaram mais rapidamente que o óleo de palma na presença de behenato de sacarose. Considerando que a nucleação dos polimorfos menos estáveis, como α e β' ocorre mais rapidamente que do polimorfo β (SATO E KURODA, 1987), este resultado estaria de acordo com aqueles apresentados pela cinética de cristalização das gorduras (20°C). Sakamoto *et al.* (2003) adicionaram 1% de ésteres de poliglicerol do ácido behênico no óleo de palma e estes emulsificantes promoveram a formação de cristais β' estáveis. De acordo com os autores, isto foi devido ao maior ponto de fusão dos emulsificantes, que cristalizaram preferencialmente e induziram a nucleação heterogênea do óleo de palma. Apesar de apresentar características semelhantes, o behenato de sacarose proporcionou padrões de difração para o óleo de palma distintos daqueles observados por Sakamoto *et al.* (2003), mas para a gordura interesterificada e PMF, manteve a tendência de cristalizar em β' dos demais ésteres de sacarose (CERDEIRA *et al.*, 2005; HUCK-IRIART *et al.*, 2009).

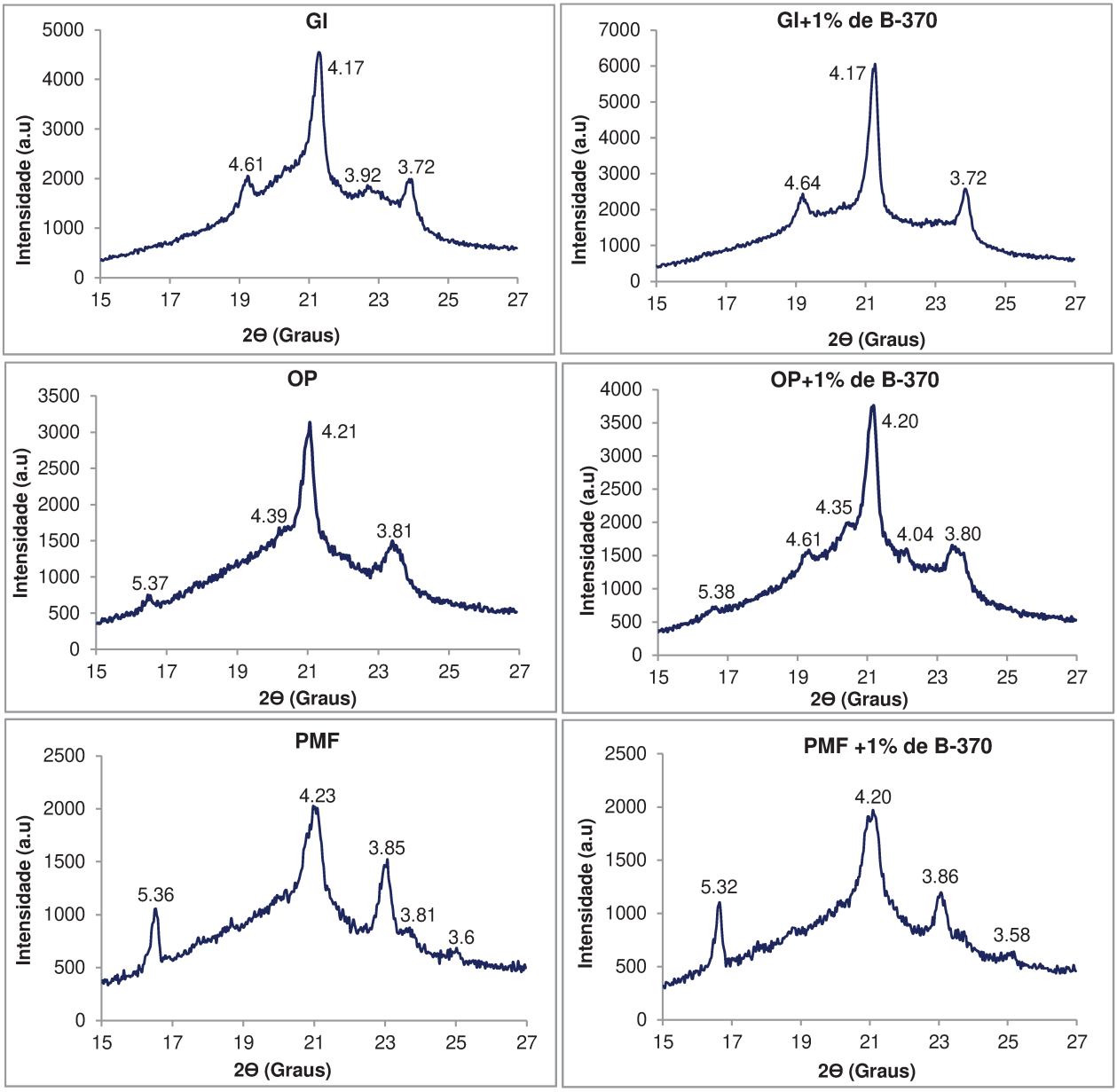


Figura 7. Padrões de difração de raios-X das amostras de gordura e suas misturas com behenato de sacarose (B-370), estabilizadas na temperatura de 25°C.

*GI (gordura interesterificada); OP (óleo de palma); PMF (fração mediana de palma); B-370 (behenato de sacarose).

4. Conclusões

A adição de behenato de sacarose modificou a fase continua das gorduras industriais utilizadas neste estudo. Verificou-se que o efeito do emulsificante sobre o perfil de sólidos foi proporcional à quantidade de fase líquida de cada gordura, com maiores mudanças para a gordura interesterificada. O behenato de sacarose também foi capaz de modificar a consistência das gorduras. Neste caso o óleo de palma e a PMF apresentaram maior consistência quando o behenato de sacarose esteve presente, enquanto que a consistência da gordura interesterificada foi maior apenas na temperatura de 25°C. Os resultados indicaram que o behenato de sacarose influencia na cinética de cristalização das gorduras apenas na temperatura de 20°C, mas não apresentou diferenças a 25°C. Observamos que existiu uma relação entre o mecanismo de cristalização (expoente de Avrami) e a consistência das gorduras. Quando as gorduras apresentaram maiores valores para o expoente de Avrami (n), a gordura correspondente apresentou maior consistência e consequentemente, a adição de behenato de sacarose proporcionou grandes diferenças na estruturação da rede cristalina das gorduras. Os eventos de cristalização e fusão foram efetados pela presença do emulsificante, mas este efeito foi dependente da composição de cada gordura. Para o óleo de palma e PMF os TAG's com ponto de fusão mais elevado foram mais afetados, enquanto para a gordura interesterificada, os TAG's de alto e baixo ponto de fusão foram afetados. As diferenças polimórficas causadas pela presença de behenato de sacarose foram pequenas, mas suficientes para confirmar sua tendência em cristalizar na forma polimórfica β' na gordura interesterificada e na PMF e a formação de cristais β no óleo de palma.

5. Referências Bibliográficas

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

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

BASSO, R.C.; RIBEIRO, A.P.B.; MASUCHI, M.H.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L.A.G.; SANTOS, A.O.; CARDOSO, L.P.; GRIMALDI, R. (2010) Tripalmitin and monoacylglycerols as modifiers in the crystallisation of palm oil. **Food Chemistry**, v. 122, n. 4, p. 1185–1192.

BRAIPSON-DANTHINE, S; GIBON, V. (2007). Comparative analysis of triacylglycerol composition, melting properties and polymorphic behavior of palm oil and fractions. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 109, n. 4, p. 359-372.

CERDEIRA, M., PASTORE, V., VERA, L. V., MARTINI, S., CANDAL, R. J. HERRERA, M. L. (2005) Nucleation behavior of blended high-melting fractions of milk fat as affected by emulsifiers. **European Journal Lipid Science and Technology**, vol. 107, n. 12, p. 877–885.

CHAISERI, Siree; DIMICK, Paul S. (1995). Dynamic crystallization of cocoa butter. I. Characterization of simple lipids in rapid-and slow-nucleating cocoa butters and their seed crystals. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 72, n. 12, p. 1491-1496.

CHRISTIAN JW. (1965). The theory of transformations in metals and alloys: In **Advanced textbook in physical metallurgy**. London: Permagon Press, p. 471–495.

D'SOUZA, V.; DEMAN, J.M.; DEMAN, L. (1990). Short spacings and polymorphic forms of natural and commercial solid fats: a review. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 67, n. 11, p. 835-843.

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

GARBOLINO, C; BARTOCCINI, M; FLÖTER, E. (2005). The influence of emulsifiers on the crystallisation behaviour of a palm oil-based blend. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 107, n. 9, p. 616-626.

GARTI, N.; YANO, J. (2001). The Roles of Emulsifiers in Fat Crystallization. In: **Crystallization Processes in Fat and Lipid systems** Ed. Gartin; N.; Sato, K., Marcel Dekker, Suiça p. 211-250.

GRAEF, V.; FOUBERT, I.; SMITH, K.W.; CAIN, F.W.; DEWETTINCK, K. (2007). Crystallization behavior and texture of trans-containing and trans-free palm oil based confectionery fats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v.* 55, n. 25, p. 10258–10265, 2007.

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

HARTEL, R. W.; KAYLEGIAN, K. E. (2001). Advances in milk fat fractionation. Technology and Applications. In: **Crystallization Processes in Fat and Lipid systems** Ed. Gartin; N.; Sato, K. NY: Marcel Dekker, p. 381-427.

HARTEL, R.W. (2002). Crystallization in foods, In:. **Handbook of industrial crystallization**. Ed. MYERSON, Allan. Butterworth-Heinemann, p. 287-304.

HUCK-IRIART, C.; CANDAL, R.J.; HERRERA, M.L. (2009). Effects of addition of a palmitic sucrose ester on *low-trans*-fat blends crystallization in bulk and in oil-in-water emulsions. **Food Biophysics**, v. 4, n. 3, p. 158-166.

JIN, Q.-Z., GAO, H.-Y., SHAN, L., LIU, Y.-F., & WANG, X.-G. (2007). Study on grainy crystals in edible beef tallow shortening. **Food Research International**, v. 40, n. 7, p. 909–914.

KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, v. 218, n. 3, p. 224-229.

KATSURAGI, T. (1999). Interactions between surfactants and fats. In **Physical Properties of Fats, Oils, and Emulsifiers** (N. Widlak, ed.), p. 211–219, AOCS Press, Champaign, IL.

LITWINENKO, J. W.; ROJAS, A. M.; GERSCHENSON, L. N.; MARANGONI, A. G. (2002). Relationship between crystallization behavior, microstructure, and mechanical properties in a palm oil-based shortening. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 79, n. 7, p. 647−654.

LITWINENKO, JW.; SINGH, AP; MARANGONI, AG. (2004). Effects of glycerol and Tween 60 on the crystallization behavior, mechanical properties, and microstructure of a plastic fat. **Crystal growth & design**, v. 4, n. 1, p. 161-168.

LEE, J.H.; AKOH, C.; LEE, K. (2008). Physical properties of *trans*-free bakery shortening produced by lipase-catalyzed interesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, vol. 85, n. 1, p. 1-11.

MARTINI, S.; PUPPO, M.C.; HARTEL, R.W.; HERRERA, M.L. (2002). Effect of Sucrose Esters and Sunflower Oil Addition on Crystalline Microstructure of a High-melting Milk Fat Fraction. **Journal of Food Science**, v. 67, n. 9, p. 3412–3418.

MARANGONI, A. G. (2002). The nature of fractility in fat crystal networks. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 2, p. 37–47.

MARANGONI, A. G.; NARINE, S. S. (2002). Identifying key structural indicators of mechanical strength in networks of fat crystals. **Food Research International**, v. 35, n. 10, p. 957 969.

MATTIL, K. F. (1964). Plastic shortening agents. In Swern (Ed.), **Bailey's industrial oil and fat products**, p. 265–388. New York: Interscience Publishers.

MENG, Z.; LIU, Y.; Jin, Q.; Huang, J.; Song, Z.; Wang, F.; Wang, X. (2010). Characterization of graininess formed in all beef tallow-based shortening. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 21, p. 11463-11470.

MISKANDAR, M.S.; CHE MAN, Y.B.; ABDUL RAHMAN, R.; NOR AINI, I.; YUSOFF, M.S.A. (2007). Effects of emulsifiers on crystal behavior of palm oil blends on slow crystallization. **Journal of Food Lipids**, v. 14, n. 1, p. 1–18.

NOR AINI, Idris; MISKANDAR, Mat Sahri. (2007). Utilization of palm oil and palm products in shortenings and margarines. **European journal of lipid science and technology**, v. 109, n. 4, p. 422-432.

PUPPO, M. C.; MARTINI, S.; HARTEL, R.W.; HERRERA, M. L. (2002). Effects of Sucrose Esters on Isothermal Crystallization and Rheological Behavior of Blends of Milk-fat Fraction Sunflower Oil. **Journal of food science**, v. 67, n. 9, p. 3419-3426.

SHARPLES, A. (1996). Overall kinetics of crystallization. In A. Sharples (Ed.), **Introduction to polymer crystallization**, p. 44–59. London: Edward Arnold.

SAKAMOTO, M., MARUO, K., KURIYAMA, J., KOUNO, M., UENO, S., SATO, K. (2003). Effects of Adding Polyglycerol Behenic Acid Esters on the Crystallization of Palm Oil. **Journal of Oleo Science**, v. 52, n. 12, p. 639-645.

SATO, K. (2001). Crystallization behaviour of fats and lipids—a review. **Chemical Engineering Science**, v. 56, n. 7, p. 2255-2265.

SATO, K.; KURODA, T. (1987). Kinetics of Melt Crystallization and Transformation of Tripalmitin Polymorphs, **J. Am Oil Chem.Soc**., Vol. 64, 124-127.

SATO, K.; KURODA, T. (1987) Kinetics of melt crystallization and transformation of tripalmitin polymorphs. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 64, n. 1, p. 124-127.

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

SINGH, A.P.; BERTOLI, C.; ROUSSET, P.R.; MARANGONI, A.G. (2004). Matching Avrami Indices Achieves Similar Hardnesses in Palm Oil-Based Fats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry***, v.* 52, n. 6, p. 1551–1557.

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

RIBEIRO, A.P.B. *et al*. (2009). Zero *trans* fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications. **Food Research International**. Ontario, v.42, p.401-410.

YAP, P.H.; deMAN, J.M.; deMAN, L. (1989). Polymorphism of palm oil and palm oil products. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.66, p.693-697.

WRIGHT, A.J.; Hartel, R.W.; Narine, S.; Marangoni, A.G. (2000). The effect of minor components on milk fat crystallization. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.77, n. 5, p.463-475.

ZHANG, X., LI, L., XIE, H., LIANG, Z., SU, J., LIU, G., & LI, B. (2013). Effect of temperature on the crystalline form and fat crystal network of two model palm oil-based shortenings during storage. **Food and Bioprocess Technology**, p. 1-14.

Conclusões Gerais

- ✓ O efeito dos emulsificantes sobre as propriedades físicas das gorduras industriais foi fortemente dependente da composição em ácidos graxos e triacilglicerólica de cada gordura, especialmente quanto ao teor de fase contínua ou líquida;

- ✓ **Triestearato de sorbitana:**
  - ✓ Demonstrou grande potencial de adequação das propriedades de cristalização das gorduras industriais, apresentando grande efeito sobre o teor de sólidos da gordura interesterificada e da *soft* PMF, mas com efeito sutil no teor de sólidos do óleo de palma. Estes resultados acompanharam os verificados para a consistência das amostras;
  - ✓ Modificou a microestrutura das gorduras industriais (gordura interesterificada base soja, óleo de palma e *soft* PMF), através da redução do tamanho dos cristais e maior uniformidade na distribuição dos cristais na rede cristalina;
  - ✓ Influenciou a cinética de cristalização, acarretando a formação de núcleos cristalinos estáveis a menores tempos de indução. Para a gordura interesterificada, ocorreu alta velocidade de cristalização, com nucleação foi instantânea. Para o óleo de palma, a cristalização também foi mais rápida, mas a formação dos núcleos deu-se a partir dos dois tipos nucleação, instantânea e esporádica. Por outro lado, a *soft* PMF, devido ao maior grau de resfriamento, apresentou cristalização em duas etapas, indicando a formação de polimorfos menos estáveis na primeira etapa, e em seguida, na segunda etapa, a formação de polimorfos mais estáveis;
  - ✓ A gordura interesterificada, o óleo de palma e a *soft* PMF foram estabilizados polimórficamente quanto ao polimorfo de interesse industrial no intervalo de tempo avaliado por este estudo.

- ✓ **Estearato de sacarose**

  - ✓ Apresentou eficiência especialmente quanto a elevação do teor de sólidos e consistência da gordura interesterificada base soja, do óleo de palma e da *soft* PMF;
  - ✓ Modificou a microestrutura das gorduras, ocasiondo desordem na rede cristalina, o que garantiu maior maciez para a gordura interesterificada e *soft* PMF. Para o óleo de palma foi verificado efeito contrário, onde a rede cristalina apresentou-se mais ordenada, com maior dureza;
  - ✓ De um modo geral, o estearato de sacarose acelerou a cristalização das gorduras, mas apresentou mecanismos de cristalização distintos para cada gordura;
  - ✓ Para o óleo de palma e *soft* PMF foi verificado um atraso na transição polimórfica β'→β na presença de estearato de sacarose, mas não foram observadas mudanças para o polimorfismo da gordura interesterificada.

- ✓ **Behenato de sacarose**

  - ✓ Influenciou o teor de sólidos das gorduras com maior fase líquida, ou seja, a gordura interesterificada e o óleo de palma. Por outro lado, seu efeito quanto a consistência foi maior para a *soft* PMF, que apresentou a menor proporção de fase líquida;
  - ✓ O efeito sobre a velocidade de cristalização e mecanismos de nucleação foi maior a 20°C, mas não houve diferença a 25°C, indicando a necessidade do uso de temperaturas mais baixas para aplicação satisfatória.
  - ✓ A presença de behenato de sacarose proporcionou grande mudança na rede cristalina das gorduras, especialmente na *soft* PMF;
  - ✓ Polimorficamente, o behenato de sacarose apresentou tendência à cristalizar em β' na gordura interesterificada e na *soft* PMF, mas promoveu a formação de cristais β no óleo de palma.