



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENGENHARIA DE PROCESSOS**

**ESTUDO DA CRISTALIZAÇÃO E FRACIONAMENTO TÉRMICO A SECO
DA GORDURA DE CUPUAÇU (*Theobroma grandiflorum* Schumann)**

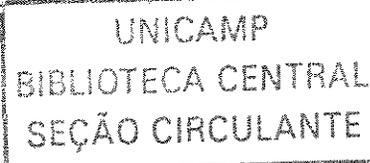
Eng^a. Nirse Ruscheinsky

Orientador: Theo Guenter Kieckbusch

Co-orientador: Valdecir Luccas

**Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Engenharia Química como
parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Mestre em
Engenharia Química.**

**Campinas – São Paulo
2005**



UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	R893e UNICAMP
V	EX
TOMBO BC/	63928
PROC.	16-0-00086-05
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	11,00
DATA	17/05/05
Nº CPD	

libr. id 350381

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA ÁREA DE ENGENHARIA - BAE - UNICAMP

R893e Ruscheinsky, Nirse
Estudo da cristalização e fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schumann) / Nirse Ruscheinsky.--Campinas, SP: [s.n.], 2005.

Orientadores: Theo Guenter Kieckbusch, Valdecir Luccas

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

1. Cupuaçu. 2. Raios X - Difração. 3. Síncrotron. 4. Microscopia. I. Kieckbusch, Theo Guenter. II. Luccas, Valdecir. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Título em Inglês: Study of crystallization and dray fractionation of cupuassu fat
(*Theobroma grandiflorum* Schumann)

Palavras-chave em Inglês: Cupuassu, X-ray diffraction, Synchrotron e Microcopy

Área de concentração: Engenharia de Processos

Titulação: Mestre em Engenharia Química

Banca examinadora: Denise Calil Pereira Jardim e Renato Grimaldi

Data da defesa: 28/02/2005

Dissertação de Mestrado defendida por **Nirse Ruscheinsky** e aprovada em 28 de fevereiro de 2005 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch – Orientador



Dr^a. Denise Calil Pereira Jardim – Titular



Dr. Renato Grimaldi – Titular

200509896

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia
Química



Theo Guenter Kieckbusch

Agradeço

À Deus pela vida e oportunidade de estudar e crescer profissionalmente, permitindo-me vislumbrar um futuro próspero.

Ao Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch pela orientação, compreensão e paciência com que me conduziu neste trabalho.

Ao Pesquisador Dr. Valdecir Luccas, do Cereal Chocotec – ITAL, pela co-orientação exemplar, confiança e verdadeira amizade durante esta vivência.

Ao Prof. Dr. Luiz Antônio Gioielli, da FCF/USP, e à Prof^ª. Dr^ª. Íris Torriani, do IFWG/UNICAMP, pelo apoio e sincero interesse nos trabalhos de estudo do polimorfismo. E ao técnico Dr. Renato Grimaldi da FEA/UNICAMP, pelo auxílio nas análises das propriedades físicas e químicas da gordura de cupuaçu.

À Pesquisadora Dr^ª. Denise Jardim, do Cereal Chocotec – ITAL, e ao Dr. Renato Grimaldi, da FEA/UNICAMP, pela disponibilidade de participação na banca de defesa.

Aos órgãos financiadores de pesquisa: CNPq, FAPESP e CAPES, pela concessão das bolsas.

Ao Cereal Chocotec do ITAL por ceder suas instalações para a realização dos experimentos de fracionamento térmico a seco.

À minha amiga e irmã do coração Eliane Colla, e seu esposo Daniel, que muito me ensinou e colaborou com meu crescimento pessoal e profissional. Pela bela amizade, eternamente *obrigada*.

À todos os amigos do Cereal/Chocotec – ITAL, pela força, auxílio e amizade: Luciana, Fernanda, Cristiane, Marise, Ana Lúcia, Denise, Priscila, Alessandra, Flávio, Magali, Cândi, Helena, Paty, Marco Antônio, Sílvia, Alexandre, André, Marina.

Aos colegas da FEQ: Érica, Mariana, Pierre, Rosalinda, Marcelle, Cibele, Machadinho e outros tantos que foram parceiros nesta trajetória.

Aos amigos da FEA: Camila, Bia, Rodi, Lucielen e também a todos os demais amigos do sul espalhados por lá.

Ao casal Luciana e Alexandre pela acolhida e amizade em Jundiaí.

À Família Breternitz: Geson, Cida, Wangles, Rafael e Domênica, pela acolhida em seu lar, amor, carinho, amizade e convivência prazerosa que me ajudaram muito para a conclusão deste trabalho.

À todos que colaboraram para a realização desta dissertação de mestrado.

À minha família, em especial meus pais Pio e Yone, pelo amor, apoio, exemplo de vida à seguir e por acreditarem que eu conseguiria.

Ao meu amado namorado Wangles, pelo amor incondicional, dedicação, incentivo, compreensão nos muitos momentos difíceis e por me fazer muito feliz.

Dedico

SUMÁRIO

NOMENCLATURA DE ÁCIDOS GRAXOS E TRIACILGLICERÍDEOS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO e OBJETIVOS	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Manteiga de cacau	3
2.2 Polimorfismo	4
2.3 Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada	10
2.4 Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)	11
2.5 Métodos para modificação de óleos e gorduras	14
2.5.1 Fracionamento térmico a seco	14
2.6 Gorduras alternativas à manteiga de cacau (CBA's)	17
2.7 Principais matérias-primas utilizadas na produção de CBA's	19
2.7.1 Cupuaçu	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	24
3.1 Matéria-prima	24
3.2 Métodos analíticos	24
3.2.1 Caracterização física	24
3.2.2 Caracterização química	25
3.2.3 Neutralização química da gordura de cupuaçu bruta	26
3.3 Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada	26
3.4 Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	27
3.5 Fracionamento térmico a seco	28
3.5.1 Equipamentos	28
3.5.2 Processo	31
3.5.3 Metodologia	31

3.5.4	Planejamento experimental	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1	Neutralização química.....	37
4.2	Análises físicas e químicas da gordura de cupuaçu neutralizada	38
4.3	Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada	41
4.4	Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	53
4.5	Fracionamento térmico a seco	56
4.5.1	Resultados do fracionamento da gordura de cupuaçu.....	59
4.5.1.1	Rendimento em estearina (% est)	61
4.5.1.2	Tempo de fracionamento (tf)	64
4.5.1.3	Diferença entre os índices de iodo das frações estearina e oleína (Δi_i) ...	67
4.5.1.4	Diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔP_f)	69
4.5.1.5	Teor de sólidos da estearina de cupuaçu a 25°C ($Se_{25^\circ C}$)	72
4.5.1.6	Diferença entre os teores de sólidos da estearina de cupuaçu a 25°C e 35°C ($\Delta Se_{25^\circ C-35^\circ C}$)	76
4.5.2	Otimização dos resultados.....	78
4.5.2.1	Interação entre 'tf' e '%est'	78
4.5.2.2	Interação entre ' Δi_i ' e ' ΔP_f '	79
5	CONCLUSÕES	81
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	82
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

NOMENCLATURA DE ÁCIDOS GRAXOS E TRIACILGLICERÍDEOS

→ Ácidos Graxos

C10:0	Ácido Cáprico
C16:0	Ácido Palmítico
C16:1 ω 7	Ácido Palmitoléico
C18:0	Ácido Esteárico
C18:1 ω 9	Ácido Oléico
C18:2 ω 6	Ácido Linoléico
C18:3 ω 3 α	Ácido Linolênico
C20:0	Ácido Araquídico
C20:1	Ácido Eicosenóico
C22:0	Ácido Behênico
ω	Ômega
α	Alfa
T	Trans

→ Triacilglicerídeos

PlIP	1,3-Di-palmito-2-linoleato Triacilglicerol
OOO	Trioleína
POO	1-Palmito-2,3-di-óleo Triacilglicerol
POP	1,3-Di-palmito-2-óleo Triacilglicerol
SOO	1-Estearo-2,3-di-óleo Triacilglicerol
POS	1-Palmito-2-óleo-3-estearo Triacilglicerol
OOA	1,2-Di-óleo-3-araquido Triacilglicerol
SOS	1,3-Di-estearo-2-óleo Triacilglicerol
PSS	1-Palmito-2,3-di-estearo Triacilglicerol
SOA	1-Estearo-2-óleo-3-araquido Triacilglicerol
SUS	1,3-Di-saturado-2-insaturado Triacilglicerol
SSS	Triacilglicerol Tri-saturado
SUU	1-Saturado-2,3-di-insaturado Triacilglicerol
UUU	Triacilglicerol Tri-insaturado

RESUMO

Este trabalho objetivou elucidar formas de cristalização da gordura de cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Shumann), assim como submeter essa gordura a um fracionamento térmico a seco para obter frações de estearina e oleína. No estudo do polimorfismo foram empregadas as técnicas de Microscopia de Luz Polarizada (MLP), Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD). A gordura de cupuaçu bruta foi neutralizada e analisada com relação à composição e propriedades físicas e químicas. Através da técnica de MLP constatou-se uma tendência de cristalização da gordura de cupuaçu na Forma β . O estudo com DSC e SR-XRD evidenciou a existência de três formas cristalinas, γ , α , β' . O fracionamento térmico a seco foi conduzido utilizando-se um planejamento fatorial completo 2^2 , com três pontos centrais, sendo a temperatura de cristalização (T_c) e a velocidade de agitação (V_a) as variáveis independentes. Como respostas foram avaliados: o rendimento em estearina (%est), o tempo de fracionamento (tf), a diferença entre os índices de iodo das frações estearina e oleína (ΔI_i), a diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔP_f), o teor de sólidos da estearina a 25°C (Se25°C) e a diferença entre os teores de sólidos da estearina a 25°C e 35°C ($\Delta se_{25^\circ C-35^\circ C}$). Do ponto de vista de custo operacional (%est e tf), a condição de temperatura na faixa de 29,2° a 29,5°C e velocidades na faixa de 25 a 30rpm é a melhor. Em termos de qualidade da estearina, representado pela extensão da separação (ΔI_i e ΔP_f), a melhor condição está na faixa de temperatura de 28° a 28,4°C e a velocidade entre 20 e 21,2rpm.

Palavras-chave: *Theobroma grandiflorum*, cupuaçu, fracionamento térmico a seco, polimorfismo, difração de raios X com radiação síncrotron, microscopia de luz polarizada.

ABSTRACT

Natural cupuasu (*Theobroma grandiflorum* Shumann) fat was neutralized and its composition and physical/chemical properties were evaluated.

The polymorphic crystallization behavior of the neutralized fat was investigated using Polarized Light Microscopy (PLM), Differential Thermal Analysis (DSC) and X-ray Diffraction using Synchrotron Radiation (SR-XRD). The PLM technique indicates a tendency of the cupuasu fat to crystallize in the β -form. The study with the DSC and SR-XRD confirmed the existence of three crystalline forms.

The neutralized cupuasu fat was submitted to dry thermal fractionation procedures, following a 2^2 complete factorial design with three central points and crystallization temperature and rotational velocity to be the independent variables, in order to obtain stearin and olein fractions. The response factors were the yield in stearin (%est), the fractionation time (tf), the difference between the Iodine Index of the stearin fraction and the olein fraction (ΔI_i), the difference in melting point of the stearin and the olein fractions (ΔP_f), the solid content of the stearin at 25°C (Se25°C) and the difference between the stearin solid content at 25°C and 35°C ($\Delta Se_{25^\circ C-35^\circ C}$). The recommended optimal conditions from the operational cost point of view is a crystallization temperature range from 29,2° to 29,5°C and a stirrer rotation speed between 25 and 30rpm. In terms of stearin quality, represented by the capacity of separation (ΔI_i and ΔP_f) the best conditions are situated at a temperature range of 28 to 28,4°C and a rotation speed between 20 and 21,2rpm.

Key-words: *Theobroma grandiflorum* Shumann, cupuassu, dry fractionation, polymorphism, x-ray diffraction using synchrotron radiation, polarized light microscopy.

1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Shumann) é uma espécie importante do gênero *Theobroma* cultivado na maioria dos Estados da Região Norte e mesmo em outras regiões do país (Suframa, 2003). O valor relativamente alto da polpa da fruta no mercado internacional (US\$ 2 a 4 por Kg) faz o cultivo de árvores de cupuaçu cada vez mais atraente (Limites Éticos, 2005). No Brasil, a produção de cupuaçu tem apresentado considerável crescimento nos últimos anos, com um aumento de mais de 110% de 1998 para 2000. Segundo dados do Governo do Pará, o estado produziu mais de 33,5 mil toneladas de frutos de cupuaçu em 2003 (IBGE/GCEA/LSPA, 2003).

Além da polpa, parte do fruto mais utilizada industrialmente, as semelhanças nas características químicas e sensoriais das amêndoas de cupuaçu, fermentadas, secas e torradas, como as amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.), atraem cada vez mais os fabricantes de chocolates no Brasil, principalmente após as recentes mudanças ocorridas no país com a entrada em vigor da Resolução RDC nº 227, de 28 de agosto de 2003, que permite o uso de gorduras vegetais alternativas à manteiga de cacau na fabricação de chocolates, atendendo aos limites mínimos de 25% e 20% de sólidos totais de cacau para o chocolate e chocolate branco, respectivamente (ANVISA, 2003).

Uma das técnicas de modificação de óleos e gorduras mais utilizadas, tanto do ponto de vista econômico como do "ecológico", é o Fracionamento Térmico a Seco, por não necessitar o uso de aditivos, catalisadores, solventes ou detergentes, utilizados em outras técnicas de modificação (Kellens & Hendrix, 1996).

No entanto, a gordura bruta, que representa mais de 60% do total das amêndoas (Lopes (2000), citato por Cohen, 2003), não é considerada adequada para a produção de chocolate devido a sua elevada maciez.

Assim, para se fazer os ajustes no perfil de fusão da gordura de cupuaçu, e escolher as melhores condições de fracionamento de modo que se obtenha uma gordura adequada para a produção de chocolate num país tropical como o Brasil com temperaturas médias relativamente altas, são necessários estudos com relação às suas propriedades de cristalização (polimorfismo). Estudos utilizando simultaneamente Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) tem mostrado bons resultados na elucidação do polimorfismo de triglicerídeos puros ou misturados e também com gorduras brutas, tais como a manteiga de cacau e a gordura do leite, podendo, portanto, ser aplicável à gordura de cupuaçu.

Microscopia de Luz Polarizada (MLP) também pode ser utilizada para este fim, mas baseia-se em outro princípio. Enquanto a SR-XRD e o DSC baseiam-se na física e na termodinâmica, respectivamente, a MLP utiliza a luz polarizada para obter micrografias dos cristais de gordura formados sobre uma lâmina de microscópio. Esta técnica pode ser utilizada para identificar forma, aspecto, quantidade por área e tamanho (diâmetro médio e área de cada cristal), de forma a esclarecer a tendência de cristalização da gordura em estudo. O acompanhamento visual da cristalização por MLP pode também ser utilizado apenas com o intuito de avaliar qualitativamente as formas cristalinas formadas (D'Agostini, 2001).

Desta forma, os objetivos deste trabalho foram: acompanhar a evolução da cristalização da gordura através da análise microscópica dos cristais; obter um detalhamento mais preciso do polimorfismo da gordura de cupuaçu utilizando a Difração de Raios X com Radiação Síncrotron e; avaliar o fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu neutralizada, com obtenção das frações oleína e estearina.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Manteiga de cacau

A manteiga de cacau extraída mecanicamente a partir das amêndoas de cacau (*Theobroma cacao* L.) fermentadas, secas e torradas, é um dos ingredientes de maior utilização nas indústrias de chocolate e produtos de confeitaria. Possui boa estabilidade oxidativa devido à presença de agentes antioxidantes naturais (tocoferóis) e boa viscosidade de trabalho, quando utilizada na fabricação de chocolate (Beckett, 1994).

No chocolate, a manteiga de cacau representa a fase contínua responsável pela dispersão das partículas sólidas de cacau, açúcar e leite, podendo constituir até 33% da formulação ou mais, sendo responsável por diversas características de qualidade. Sua natureza polimórfica define as condições de processo e está diretamente ligada à estabilidade do produto durante o armazenamento (Gunnerdal, 1994).

A manteiga de cacau é composta, basicamente, por triglicerídeos (aproximadamente 98%), sendo o restante constituído por ácidos graxos livres, di e monoglicerídeos, além de componentes menores solubilizados, tais como esteróis e tocoferóis. Três principais ácidos graxos são encontrados na composição da manteiga de cacau: ácido palmítico (C16:0), ácido esteárico (C18:0) e ácido oléico (C18:1). Praticamente todo o ácido oléico encontra-se esterificado na posição central da molécula de glicerol, enquanto os ácidos saturados são geralmente encontrados nas posições 1 e 3. Esta particularidade faz com que a manteiga de cacau apresente três principais triglicerídeos simétricos, POP (1,3-Dipalmito-2-óleo triacilglicerol), POS (1-Palmito-2-óleo-3-estearo triacilglicerol) e SOS (1,3-Diestearo-2-óleo triacilglicerol), os quais podem representar mais de 75% da composição em triglicerídeos da gordura, ou cerca de 90% do total dos triglicerídeos monoinsaturados. Em razão dessa simetria, a manteiga de cacau cristaliza-se em uma alta ordem estrutural, responsável pelas suas

propriedades únicas de fusão e cristalização bem definidas, similares às de uma substância pura (Nesaretnan, 1992; Rossel, 1992; Gunnerdal, 1994; Lipp & Anklam, 1998).

As características físicas e químicas da manteiga de cacau são influenciadas por diversos fatores, tais como país de origem, condições climáticas e estações do ano (Mello & Chitarra, 1999). Técnicas importantes utilizadas para a caracterização física e térmica da manteiga de cacau incluem a Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para a determinação do teor de gordura sólida (SFC), a Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) e a Análise Térmica Diferencial (DTA) para quantificar variações entálpicas com a temperatura.

2.2 Polimorfismo

Gorduras são misturas de diferentes tipos de triacilgliceróis (TAGs). Portanto, o diferenciado comportamento de fusão, cristalização e transformação, morfologia cristalina ou agregação do sistema gorduroso são parcialmente devido às propriedades físicas dos TAGs que o compõem ou devido ao comportamento das fases na mistura. Para as misturas de TAGs dois fatores influenciam ao mesmo tempo: o polimorfismo e as interações entre as cadeias (Sato, 2001).

Em analogia com outros lipídios e compostos de cadeia longa, os TAGs apresentam polimorfismo e, dependendo das condições externas (temperatura, pressão, solvente, agitação), vários estados cristalinos ocorrem e se transformam de formas metaestáveis em estáveis, por meio de diversos mecanismos. Cristalização e transformação de TAGs polimórficos constituem um importante grupo de pesquisa das propriedades físicas de gorduras (Sato *et al.*, 1999).

O polimorfismo das gorduras naturais resulta das diferentes possibilidades de empacotamento lateral das cadeias e do empilhamento tridimensional das moléculas dos TAGs. Esses dois níveis de organização são facilmente identificados pelos seus espaçamentos longos e curtos observados por Difração de Raios X (XRD) em baixo e alto ângulo, respectivamente. As diferentes formas polimórficas, denominadas na literatura como γ , α , β' e β , são identificadas na literatura pelas suas reflexões características de XRD a alto ângulo (Malssen *et al.*, 1996 (a e b); Sato *et al.*, 1999).

As técnicas mais utilizadas para a identificação das formas polimórficas, em geral, são Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC), Difração de Raios X (XRD), em especial com radiação Síncrotron (SR-XRD), Microscopia Óptica ou Eletrônica, Espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear (NMR) e Espectroscopia de Infra-Vermelho (FT-IR) (Loisel *et al.*, 1998; Sato *et al.*, 1999; D'Agostini 2001).

Existe uma grande discrepância nos dados apresentados com relação ao número de formas cristalinas presentes na manteiga de cacau e seus respectivos pontos ou faixas de fusão. Alguns autores indicam a presença de seis formas cristalinas distintas, outros assumem a existência de apenas três, sendo as demais consideradas fases metaestáveis, ou estados de transição na qual coexistem duas formas cristalinas. Um estudo detalhado utilizando XRD realizado por Wille & Lutton (1966) identificou seis formas polimórficas na manteiga de cacau, I a VI, em ordem crescente de ponto de fusão.

Estudos utilizando simultaneamente DSC e Difração de Raios X em função da temperatura (XRDT) confirmam a existência de seis formas cristalinas na manteiga de cacau, denominadas de I a VI. A existência das seis formas cristalinas está essencialmente relacionada à cristalização dos triglicerídeos monoinsaturados, predominantes na manteiga de cacau (Loisel *et al.*, 1998).

As diferentes nomenclaturas sistemáticas atribuídas às formas cristalinas também confundem o leitor (γ ou sub α , α , β' , β , β_1 e β_2 ou I, II, III, IV, V e VI). As formas instáveis são denominadas de alfa (α), as de estabilidade intermediária de beta-prima (β') e as formas de alta estabilidade de beta (β). Quando duas ou mais formas polimórficas recebem o mesmo nome elas são distinguidas por subíndices, por exemplo β_1 e β_2 , na qual são numeradas em ordem decrescente de temperatura de fusão (Chapman, 1971). Dependendo da composição da cadeia acil, outras fases metaestáveis, chamadas de γ e múltiplos β' e β , são observadas em TAGs mistos (Sato *et al.*, 1999).

A Forma Cristalina I ou γ , também conhecida como sub α , é a menos estável e de ponto de fusão mais baixo. É a primeira forma cristalina que se forma quando a gordura é submetida a um rápido resfriamento até baixas temperaturas. Após um aquecimento lento, ela rapidamente transforma-se para a Forma V, passando antes

pelos Formas II, III, IV. A transição da Forma V para a VI ocorre no estado sólido e é muito lenta comparada com as demais, podendo ser acelerada por flutuações de temperatura (Maissen *et al.*, 1996a; Chapman, 1971).

A estabilidade termodinâmica e o ponto de fusão das formas polimórficas aumentam com as transições da Forma I para a VI. Na manteiga de cacau a Forma Cristalina β ou VI é a mais estável, com o ponto de fusão mais alto (Young, 1985). Na Tabela 2.1 são apresentados os pontos de fusão de algumas formas polimórficas encontradas na manteiga de cacau, segundo vários autores.

Tabela 2.1 – Formas polimórficas da manteiga de cacau com suas respectivas nomenclaturas sistemáticas e seus pontos de fusão (°C)

Duck (1964), citado por Dimick & Manning (1987)	Wille & Lutton (1966)	Chapman (1971)	Huyghebaert & Hendrickx (1971)	Merkens & Vaeck (1980), citados por <i>Loisel et al.</i> (1998)	Davis e Dimick (1986), citados por Dimick & Manning (1987)
γ 18,0	I 17,3		I 14,9–16,1	γ 16,0 - 18,0	I 13,1
α 23,5	II 23,3		II 17,0–23,2	α 20,7 - 24,2	II 17,7
β'' 28,0	III 25,5	III 20,7	III 22,8–27,1		III 22,4
β' 33,0	IV 27,5	IV 25,6	IV 25,1-27,4	β' 26,0 - 28,0	IV 26,4
β 34,4	V 33,9	V 30,8	V 31,3 - 33,2	β 33,7 - 34,9	V 30,7
	VI 36,3	VI 32,3	VI 34,9		VI 33,8

Fontes: Huyghebaert & Hendrickx (1971); Dimick & Manning (1987); *Loisel et al.* (1998)

A Tabela 2.2 apresenta dados de intervalos de espaçamento 'd' [Å] entre as estruturas cristalinas da manteiga de cacau, conforme apresentado por alguns autores.

Tabela 2.2 – Formas polimórficas da manteiga de cacau com suas respectivas nomenclaturas e intervalos de espaçamento expressados em Å

Larsson (1996), citado por Chapman (1971)		Chapman (1971)		Malssen <i>et al.</i> (1996a)	
Forma	Espaçamento	Forma	Espaçamento	Forma	Espaçamento
		I	4,1	γ	4,2
α	4,20	II	4,2	α	4,2
β'	3,80, 4,20 e 4,27	III	3,8 e 4,2	β'	4,3
		IV	4,1 e 4,3		
		V	4,6		

A cristalização polimórfica é determinada, principalmente, pela taxa de nucleação, governada por fatores termodinâmicos e cinéticos. A primeira referência à nucleação polimórfica é chamada de “Regra de Ostwald”. Esta “lei” prediz que a mudança de fase ocorrerá passo-a-passo, sucessivamente em direção a maior estabilidade das fases (Mutaftschiev (1993), citado por Sato, 2001).

Devido à natureza polimórfica da manteiga de cacau, o chocolate deve ser pré-cristalizado ou temperado antes das etapas de moldagem ou de recobrimento. A temperagem deve ser realizada de modo a induzir a formação de cristais finos, do Tipo V, conferindo ao produto propriedades de fusão adequadas e retardando a migração de gordura para a superfície do chocolate, fenômeno conhecido como *fat bloom* (Talbot, 1994).

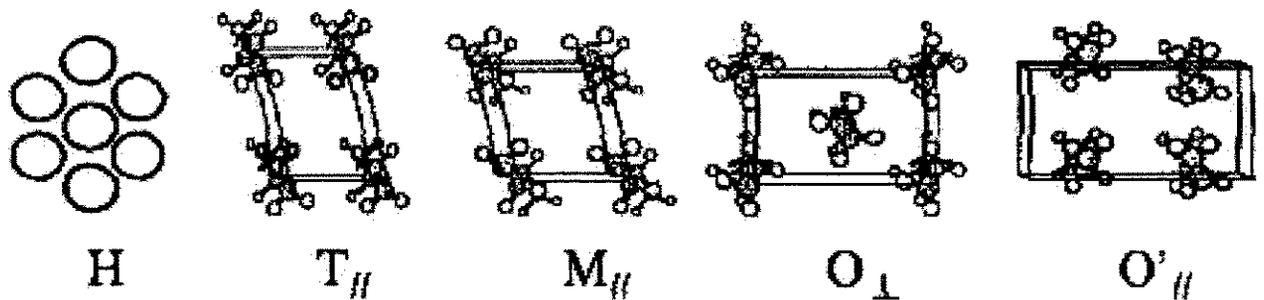
Em uma substância sólida, os estados polimórficos possuem diferentes propriedades físicas, mas após a fusão resultam em líquidos idênticos, desde que estes estados sejam apenas devido à diferenças no empacotamento das cadeias hidrocarbonadas presentes nas moléculas dos triglicerídeos na cristalização. Um dos indicadores de diferentes formas polimórficas dos triacilgliceróis (TAGs) e acilglicerídeos, em geral, é o variado comportamento de fusão (Narine & Marangoni, 1999).

As formas polimórficas diferenciam-se em função da sua estrutura subcelular e estrutura em camadas. A estrutura subcelular refere-se ao modo como a cadeia

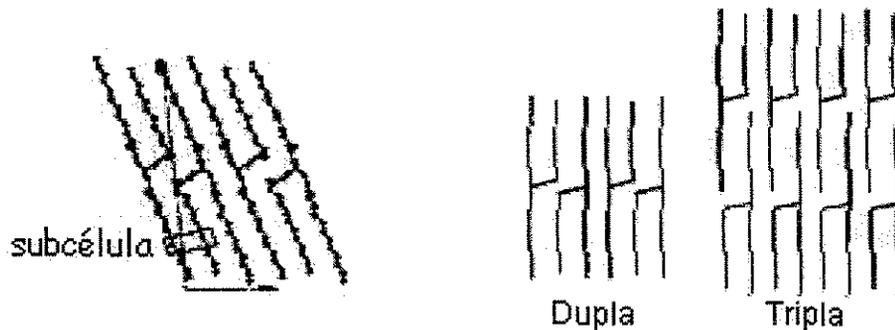
hidrocarbonada está empacotada, enquanto a estrutura em camadas surge por causa da seqüência repetitiva da rede acil, que forma uma unidade lamelar ao longo do eixo da cadeia hidrocarbonada (Narine & Marangoni, 1999).

A cristalização dos TAGs, assim como a taxa de cristalização, o tamanho dos cristais e sua rede e a morfologia cristalina, são diretamente afetadas pelo polimorfismo que é influenciado pela estrutura molecular em si e por vários fatores externos, tais como: temperatura, pressão, solvente, impurezas, velocidade de agitação, entre outros. A natureza e composição dos três ácidos graxos agrupados como uma molécula de TAG, definidos como sendo R_1 , R_2 e R_3 , determina suas propriedades químicas e físicas (Sato, 2001).

As três principais formas polimórficas, chamadas de α , β' e β , estão baseadas nas estruturas subcelulares, que definem o modo de empacotamento transversal da cadeia alifática zig-zag e são mostradas na Figura 2.1-a. A Figura 2.1-b refere-se à estrutura de um único cristal da Forma β , enquanto que a Figura 2.1(c) refere-se ao comprimento da estrutura da cadeia (Sato *et al.*, 1999; Sato, 2001).



(a)



(b)

(c)

Figura 2.1 – Estruturas de triacilgliceróis: (a) estruturas subcelulares; (b) Unidade subcelular da Forma β ; (c) cadeia dupla e tripla. *Fontes: Sato et al. (1999) e Sato (2001)*

Na Figura 2.1-a cinco subcélulas predominantes são mostradas e as três formas polimórficas podem ser descritas como:

- ⇒ α , subcélula Hexagonal (H) com espaçamento de 0,42nm;
- ⇒ β' , subcélula ortorrômbica perpendicular (O_{\perp}) com espaçamento de 0,42 – 0,43nm e 0,37 – 0,40nm;
- ⇒ β , subcélula triclinica paralela ($T_{//}$) com espaçamento de 0,46nm.

O empacotamento hexagonal não revela orientação específica das cadeias. Em vez disso, elas estão submetidas a grande movimento torsional com uma conformação alifática, fazendo da subcélula H a menos estável quando comparada com as outras. Na subcélula O_{\perp} as cadeias alifáticas zig-zag estão em perpendicular com os planos das cadeias vizinhas. Na subcélula $T_{//}$ todos os planos zig-zag do polimetileno estão em paralelo. As duas outras subcélulas apresentadas, $O'_{//}$ e $M_{//}$ apresentam as cadeias alifáticas zig-zag arranjadas de forma paralela. A Figura 2.1-b exemplifica a unidade da Forma β (Sato et al., 1999).

Uma cadeia estrutural dupla (Figura 2.1-c) é formada quando as propriedades químicas dos três ácidos graxos que compõe os TAGs são as mesmas ou muito similares, como ocorre no caso dos triglicerídios formados com três ácidos graxos iguais. Em contraste, quando as propriedades de um ou dois dos ácidos graxos for diferente dos outros, uma cadeia estrutural tripla é formada por causa da organização da cadeia. O comprimento da cadeia estrutural tem um papel crítico no comportamento da fase de mistura de diferentes tipos de TAGs em fases sólidas (Sato et al., 1999; Sato, 2001).

A relação de estabilidade termodinâmica das três formas polimórficas dos TAGs está descrita na Figura 2.2, onde os valores de Energia Livre de Gibbs (G) das três formas e do líquido estão traçadas com relação a Temperatura (T). Visto que muitos TAGs demonstram um polimorfismo com natureza monotrópica, cada forma polimórfica possuiu um único ponto de fusão, como é expressado pelo ponto de encontro dos valores de G (de cada forma) com linha do líquido (Sato et al., 1999).

As estruturas moleculares das três principais formas polimórficas são brevemente descritas como: conformação de cadeias alifáticas desordenadas (Forma α), empacotamento intermediário (Forma β') e empacotamento mais denso (Forma β). Como uma maior organização corresponde a uma Energia Livre de Gibbs mais baixa, tem-se que os valores de Energia Livre de Gibbs (G) são os maiores na Forma α , intermediários na Forma β' e menores na Forma β , como está esquematizado pela relação G – T apresentada na Figura 2.2 (Sato, 2001).

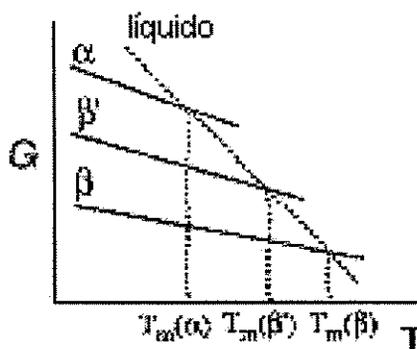


Figura 2.2 – Relação entre Energia de Gibbs (G) e Temperatura.

Fonte: Sato et al. (1999)

Como resultado dos efeitos combinados da estrutura molecular e da taxa de cristalização, a morfologia cristalina é amorfa para α , tem a forma de minúsculas partículas para β' e forma de agulhas para β (Sato, 2001).

Maior complexidade é revelada quando a composição em ácidos graxos dos TAGs é heterogênea, isto é, ácidos graxos mistos como nos TAGs contendo ácidos graxos saturados e insaturados ou aqueles contendo ácidos graxos saturados com diferentes comprimentos de cadeia. Em alguns TAGs mistos a Forma β não está presente e a Forma β' se apresenta como a mais estável, ou ainda estão presentes duas Formas β (Sato *et al.*, 1999; Sato, 2001).

2.3 Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada

A técnica de análise microscópica (microscopia com luz polarizada), acoplada ao processamento da imagem, provou ser um método sensível e adequado para o estudo dos eventos iniciais da cristalização de gorduras, podendo-se determinar a

dimensão fractal, o diâmetro máximo e o número de microcristais em produtos resultantes de misturas de gorduras, entre outras (D'Agostini, 2001). Esta técnica também pode ser utilizada para o acompanhamento visual (qualitativo), quando o interesse maior são as imagens da evolução da cristalização.

Vários aspectos de textura, alteração de textura e funcionalidade em produtos alimentícios têm sido resolvidos com a ajuda da microscopia, muitas vezes em combinação com técnicas reológicas e cristalográficas.

Estudos importantes sobre a microestrutura de gorduras, com o uso de microscopia de luz polarizada, foram realizados por Marangoni (2002); Marangoni & McGauley (2003); Rodrigues *et al.* (2003) e Gioielli *et al.* (2003).

Segundo Berger *et al.* (1979), citado por Simões & Gioielli (1999), as seguintes estruturas de cristais podem ser encontradas em gorduras:

1. Esferulitos Tipo A: cristais com núcleo compacto cercado de agulhas longas e finas, distribuídas radialmente;
2. Esferulitos Tipo B: pequenos núcleos cercados de cristais orientados aleatoriamente;
3. Tipo cachos: grupos de cristais pequenos, aproximadamente esféricos, arranjos aleatoriamente;
4. Tipo aglomerados: agregados de cristais Esferulitos e Cachos.

2.4 Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Quando a calorimetria é usada para a investigação das propriedades térmicas das gorduras, alguns picos são, muitas vezes, observados no aquecimento ou no resfriamento das amostras. Estes picos refletem a ocorrência de várias transições térmicas. Estes registros complexos, que não são fáceis de interpretar, dependem da taxa de aquecimento ou resfriamento e da história térmica da gordura (Keller *et al.*, 1996).

Várias formas cristalinas polimórficas são observadas para cada TAG puro e misturas de TAGs. Neste caso, a identificação das espécies registradas em cada pico

de DSC na fusão ou cristalização, se torna difícil, ou até mesmo impossível, sem o auxílio de técnicas que adicionem informação sobre as estruturas. Neste sentido, a difração de raios X (XRD), que provavelmente é a técnica mais conveniente para a investigação estrutural do polimorfismo de TAGs, fornece dois tipos de informação para ajudar na interpretação dos eventos térmicos: linhas de difração em baixo e alto ângulo (Keller *et al.*, 1996).

A difração de raios X é uma técnica analítica versátil e não-destrutiva que responde à cristalinidade da substância permitindo identificação de materiais quanto às suas características cristalinas, conhecidas como “fases”, e a quantificação de elementos de constituição desde que em faixa adequada de concentração.

Modernos sistemas de controle computacionais do difractômetro usam rotinas automáticas para medir, registrar e interpretar o difractograma único produzido pelos constituintes individuais, até nas misturas mais complexas.

Wille & Lutton (1966) utilizaram difração de raios X para estudar formas polimórficas em manteiga de cacau e identificaram seis, denominadas de I a VI em ordem crescente de ponto de fusão. Pesquisadores anteriores haviam feito pouco uso dos métodos de raios X.

Timms (1980) relatou estudo sobre polimorfismo de manteiga de cacau comparando as técnicas de XRD e DSC, concluindo que a análise feita com os raios X apresenta resultados mais definidos e confiáveis.

Malssen *et al.* (1996a) publicaram resultados de pesquisa sobre a utilização da difração de raios X no estudo da manteiga de cacau e apresentam as seguintes razões pelas quais consideram que esta técnica é uma ferramenta apropriada:

- a) O perfil de intensidade da difração, por si só, pode ser usado para identificar fases polimórficas de uma maneira segura; todas as formas polimórficas têm um espectro típico da intensidade de difração no intervalo de espaçamento de 3,0 – 6,0Å;
- b) Espectros da intensidade de difração seqüenciais obtidos, por exemplo, em função da temperatura ou do tempo, podem revelar detalhes da cristalização, fusão e processo de transição de fases;

c) A intensidade total difractada é relacionada com a quantidade de material cristalino na amostra.

Difração de raios X usando fonte de radiação síncrotron (SR-XRD) tem sido usada em estudos dos processos dinâmicos das transformações polimórficas de muitos triacilgliceróis (TAGs). Este enfoque tem conduzido a uma melhor compreensão do processo cinético que ocorre durante a cristalização polimórfica e transformações dos TAGs a nível molecular (Ueno *et al.*, 1999).

Em baixo ângulo as linhas de difração correspondem, para lipídios, aos chamados “espaçamentos longos” e são identificados como os empacotamentos longitudinais das moléculas. Em alto ângulo, as linhas de difração, chamadas de “espaçamentos curtos”, refletem a organização lateral das cadeias (Keller *et al.*, 1996).

Para resolver o problema de interpretação correta dos padrões de difração de raios X e dos registros de análise térmica, é necessário comparar informações estruturais obtidas com diferentes temperaturas. Esta comparação atribui a falta ou presença de linhas de difração à picos correspondentes às transições de fusão para definir a espécie cristalina (Keller *et al.*, 1996).

Nos difractogramas, os dados de intensidade *versus* ângulo de espalhamento para baixos ângulos estão representados em função do módulo do vetor de espalhamento ‘q’ [\AA^{-1}], conforme apresentado pela Equação [2.1], onde 2θ é o ângulo de espalhamento e λ é o comprimento de onda da radiação utilizada.

$$q = \left(4 \cdot \frac{\pi}{\lambda}\right) \text{sen}\theta \quad [2.1]$$

O intervalo de espaçamento ‘d’ [\AA] entre as estruturas cristalinas é a forma mais usual de dados que são encontrados na literatura e é determinado pela relação descrita na Equação [2.2].

$$d = \frac{\lambda}{2 \cdot \text{sen}\theta} \quad [2.2]$$

Conforme já foi mostrado em estudos com DSC, a gordura de cupuaçu tem polimorfismo similar ao da manteiga de cacau (Luccas, 2001), supondo-se que ela

apresente as mesmas semelhanças se analisada através da técnica de difração de raios X utilizando radiação síncrotron.

er

2.5 Métodos para modificação de óleos e gorduras

Óleos e gorduras obtidos diretamente de fontes animais ou vegetais apresentam limitadas aplicações na indústria alimentícia, principalmente em função das suas propriedades físicas e químicas intrínsecas. Os métodos de modificação permitem o desenvolvimento de gorduras técnicas ou *shortenings*, com diferentes perfis de fusão, perfeitamente adequados para usos específicos. Também possibilitam o desenvolvimento de gorduras alternativas à manteiga de cacau a partir de matérias-primas mais econômicas e com maior abundância, além de viabilizar a obtenção de gorduras para frituras com maior estabilidade oxidativa e melhorar a estabilidade ao frio de óleos para saladas.

A modificação pode consistir de uma simples mistura de duas ou mais matérias-primas distintas, de modo a se obter as características desejadas. Dependendo do perfil de funcionalidade desejado para a gordura e das características intrínsecas das matérias-primas, as indústrias utilizam diferentes métodos, os quais podem ser químicos (hidrogenação e interesterificação química), bioquímicos (interesterificação enzimática) ou físicos (fracionamento térmico), isoladamente ou em conjunto. Recentemente, a técnica de fracionamento de gorduras utilizando-se fluidos supercríticos tem sido aplicada para gordura de cupuaçu (Azevedo, 2001). A ênfase, aqui, será dada ao fracionamento térmico, um processo mais desenvolvido sob o ponto de vista industrial por ser de operacionalidade mais simples.

2.5.1 Fracionamento térmico a seco

O fracionamento térmico pode ser considerado o mais promissor dos métodos de produzir gorduras modificadas, uma vez que se trata de um processo físico, realizado a baixas temperaturas, não havendo a formação de ácidos graxos *trans*, de impacto negativo no metabolismo humano. Segundo Hamm (1995), o fracionamento é utilizado com o objetivo de alcançar um ou mais desses três objetivos:

- Remoção de pequenas quantidades de compostos de alto ponto de fusão, como os triacilgliceróis de ácidos graxos saturados, de modo que um óleo se torne límpido, prevenindo a solidificação de alguns componentes à baixas temperaturas. Essa aplicação é conhecida como *winterização*;
- Enriquecimento de um óleo com um triacilglicerol mais insaturado, objetivando melhorar suas propriedades de aplicação, quando usado como óleo líquido ou em composições com outros óleos ou gorduras;
- Recuperação de uma fração com uma composição mais semelhante e propriedades de fusão rápida. Apropriada para uso em chocolates e produtos de confeitaria, assim como em gorduras de cobertura.

O fracionamento começou a ter importância industrial com o óleo de palma e vem sendo utilizado há mais de três décadas. Consiste em um processo de separação termomecânico em duas etapas: cristalização parcial em fase líquida e filtração (Kellens & Hendrix, 1996). Na primeira etapa, a gordura derretida é resfriada e mantida na temperatura de cristalização desejada até ocorrer a cristalização parcial dos triglicerídeos de maior ponto de fusão. Ao final da etapa de cristalização as duas fases são separadas por filtração. As diferenças resultantes nas frações dependem das características da matéria-prima e dos parâmetros de ajuste do processo, enquanto que a eficiência da separação da fase líquida (oleína) da fase cristalina (estearina) influencia a qualidade da fração sólida (Chiu, 2001).

Berger (1976) e Breitschuh & Windhab (1998) citaram que a etapa de cristalização geralmente pode ser dividida em três fases características: supersaturação, nucleação e crescimento/maturação dos cristais. Na nucleação, são formados núcleos cristalinos microscópicos, praticamente invisíveis a olho nu, resultantes da agregação de moléculas de triglicerídeos em temperaturas próximas aos seus pontos de fusão. Os agregados transformam-se em cristais que crescem progressivamente durante o período de maturação na temperatura de cristalização até atingirem tamanhos suficientemente grandes para permitir uma fácil e rápida separação durante a filtração.

O fracionamento pode ser múltiplo, isto é, em duas ou mais etapas, e nesse último caso, a oleína resultante da primeira etapa é novamente fracionada, resultando

em duas novas frações oleína e estearina. Existem três diferentes tipos de fracionamento térmico: fracionamento sem adição de solvente (ou fracionamento a seco), fracionamento com detergente e fracionamento com solvente orgânico. Dentre os três, o fracionamento a seco é o que tem apresentado utilização crescente nos últimos anos, devido às suas vantagens técnicas e econômicas (Hamm, 1995).

Trata-se de um processo puramente físico e, portanto, dispensa o uso de aditivos ou catalisadores químicos e de etapas posteriores de purificação das frações para eliminação de resíduos sendo, assim, menos poluente ou mais “ecológico”. Além disso, é um processo completamente reversível, sem perdas de matéria-prima, e apresenta menor consumo de energia e menor custo de produção quando comparado aos demais (Kellens & Hendrix, 1996).

Do ponto de vista da tecnologia empregada e dos equipamentos utilizados, o fracionamento a seco é considerado um processo simples. A cristalização sem solvente, contudo, é uma reação dinâmica e complexa uma vez que envolve sistemas em equilíbrio sólido-líquido. No fracionamento a seco, o próprio óleo constitui a fase líquida. A supersaturação da fase líquida leva à cristalização, a qual depende de diversos fatores como características do óleo ou gorduras (composição, viscosidade, calor específico, calor latente), taxa de resfriamento, intersolubilidade, formação de cristais mistos e formas polimórficas dos cristais (Deffense, 1987).

Ao contrário da hidrogenação e da interesterificação, o processo de fracionamento é pouco exigente em relação à qualidade da matéria-prima. No entanto, óleos e gorduras de elevada pureza, preferencialmente refinados ou semi-refinados, contribuem para uma boa cristalização. A presença de impurezas sólidas, água, sabões, proteínas, fosfolipídios e outras mucilagens podem igualmente interferir no processo (Hamm, 1995; Kellens & Hendrix, 1996).

Os parâmetros de controle mais importantes são a temperatura de cristalização, a taxa de resfriamento da gordura e a velocidade de agitação. A temperatura de cristalização depende das propriedades térmicas e composição em triglicerídeos da gordura a ser fracionada. Para o caso específico de gorduras alternativas à manteiga de cacau, deve ser adequada para promover a separação de triglicerídeos monoinsaturados do tipo SOS, POP e POS (Dimick & Manning, 1987).

A taxa de resfriamento está relacionada com o polimorfismo da gordura, a superfície de troca térmica do reator, a taxa de agitação e o gradiente de temperatura empregado, e tem influência direta na forma e no tamanho dos cristais formados, na composição das frações e no rendimento do processo (Deffense, 1987).

A velocidade de agitação, durante a cristalização, também tem influência na formação e no crescimento dos cristais. À medida que os cristais começam a crescer, aumenta a viscosidade do meio, diminuindo a transferência de calor com as paredes do cristizador e a difusão dos solutos à superfície dos cristais. A velocidade de agitação deve ser suficiente para promover uma cristalização homogênea dentro do reator (Kellens & Hendrix, 1996).

A viscosidade do meio é um parâmetro de controle muito adequado, visto que influi sobre a homogeneidade da massa e, por conseqüência, sobre a troca de calor durante a cristalização. Dessa forma, para proceder a um acompanhamento quantitativo da cristalização durante o fracionamento, amostras de gordura do cristizador podem ser retiradas em intervalos de tempos regulares e submetidas à análises para definir o conteúdo de gordura sólida (SFC) e determinar a viscosidade aparente da gordura cristalizada (Pandolfi, 1993).

O tipo de sistema utilizado para separar as fases estearina e oleína depende das características do cristal formado, sendo mais freqüentemente o uso de filtração. Também podem ser utilizadas as técnicas de centrifugação e decantação (Kellens & Hendrix, 1996).

2.6 Gorduras alternativas à manteiga de cacau (CBA's)

Gorduras alternativas à manteiga de cacau (denominadas por simplificação de CBA's, *Cocoa Butter Alternatives*), é o nome genérico dado a todas as gorduras que podem substituir, parcial ou totalmente, a manteiga de cacau no chocolate e produtos análogos. São classificadas em função da semelhança nas propriedades físicas e químicas com a manteiga de cacau e/ou com relação às características predominantes da fonte, podendo ser denominadas de gorduras equivalentes à manteiga de cacau (CBE's – *Cocoa Butter Equivalent*s), gorduras não-láuricas (CBR's – *Cocoa Butter Replacers*) ou gorduras substitutas láuricas (CBS's – *Cocoa Butter Substitutes*). Podem

ainda, ser classificadas em dois grandes grupos: gorduras que necessitam de temperagem e gorduras que não necessitam de temperagem (Luccas, 2001).

As gorduras que necessitam de temperagem são gorduras de origem não-láurica que apresentam composição em triglicerídeos e curva de sólidos similares às da manteiga de cacau. A forma cristalina mais estável também é a β e, por isso, o processo de têmpera é necessário. Gorduras pertencentes a esse grupo são denominadas de gorduras equivalentes (CBE's) e podem ser misturadas à manteiga de cacau em qualquer proporção, sem alterar as suas propriedades físicas e químicas (Luccas, 2001).

Para que haja uma boa compatibilidade entre uma CBE e a manteiga de cacau, as gorduras devem possuir as seguintes características: propriedades térmicas equivalentes, tamanho, forma, empacotamento molecular e polimorfismos similares (Paulicka, 1973).

As CBE's são obtidas por fracionamento térmico seguido de mistura com outras gorduras, podendo inclusive resultar em gorduras com propriedades físicas e químicas superiores às da manteiga de cacau e, neste caso, denominadas de supercoberturas. Quando utilizadas na produção de chocolates, em qualquer nível de substituição, todas as gorduras pertencentes a esse grupo conferem excelente qualidade ao produto, comparável aos chocolates fabricados com manteiga de cacau (Rossell, 1992).

As gorduras que não necessitam de temperagem diferem em termos de composição em triglicerídeos da manteiga de cacau, mas podem conferir propriedades físicas similares ao chocolate. São economicamente mais viáveis do que a manteiga de cacau e as gorduras equivalentes. A principal vantagem tecnológica atribuída a essas gorduras é a eliminação da etapa de temperagem no processo, uma vez que se cristalizam diretamente na forma polimórfica beta-prima (β') quando resfriadas. Dependendo da proporção de mistura com a manteiga de cacau pode ocorrer a formação de efeitos eutéticos, aumentando a susceptibilidade ao aparecimento do *fat bloom* (Luccas, 2001). De acordo com a matéria-prima utilizada, as gorduras que não necessitam de temperagem podem ser classificadas em dois tipos: gorduras substitutas não-láuricas (CBR's) e gorduras substitutas láuricas (CBS's).

2.7 Principais matérias-primas utilizadas na produção de CBA's

Gorduras alternativas à manteiga de cacau (CBA's) têm sido desenvolvidas a partir de diferentes fontes de óleos e gorduras. As mais estudadas são a palma, o palmiste, o algodão, a soja, a canola, o coco, o babaçu, óleos de baleia e de peixes, sebo bovino, gordura suína, óleo de caroço de manga, entre outras (Luccas, 2001). Somente a gordura de cupuaçu será considerada a seguir.

Em alguns países como Inglaterra, Irlanda, Dinamarca, Japão, Suécia, Portugal, Finlândia e Áustria, além de toda União Européia, permite-se a substituição parcial da manteiga de cacau por outras gorduras vegetais na proporção de até 5%, com base no peso total da formulação (Resende (2000), citado por Luccas, 2001; Parlamento Europeu, 2005).

As recentes mudanças ocorridas no Brasil com a entrada em vigor da Resolução RDC nº 227, de 28 de agosto de 2003, permitem o uso de gorduras vegetais alternativas à manteiga de cacau na fabricação de chocolates, no entanto, o fabricante deve atender aos limites mínimos de 25% e 20% de sólidos totais de cacau¹ para o chocolate e chocolate branco, respectivamente, estabelecidas na legislação (ANVISA, 2003).

2.7.1 Cupuaçu

Depois do cacau, o cupuaçu (*Theobroma grandiflorum* Schumann) é considerado a mais importante espécie do gênero *Theobroma*. Encontra-se disseminado por toda a Bacia Amazônica com maior concentração de produção e consumo na região Norte, tendo os estados do Pará, Amazonas, Rondônia e Acre como principais produtores (SEBRAE/AM, 1999).

Estatísticas do Governo do Pará apontam que a produção de cupuaçu está em forte ascensão no estado, passando de 10 milhões em 1998 para 21,4 milhões de frutos colhidos em 2000, representando um aumento de mais de 55% ao ano. Em 2003 a produção atingiu 33.570 toneladas do fruto (IBGE/GCEA/LSPA, 2003).

¹ Sólidos totais de cacau referem-se à: massa de cacau, cacau em pó e/ou manteiga de cacau

O cupuaçu vem conquistando o mercado de outras regiões do Brasil e despertando o interesse de países da Europa e Ásia, sobretudo Inglaterra, Japão e Suécia, além dos Estados Unidos. Como consequência do aumento na demanda espera-se uma produção cada vez mais organizada, com maior regularidade na oferta do produto para o setor industrial (Rodrigues, 1996).

Nos primeiros quatro meses de 2002 o Estado do Amazonas exportou 50 toneladas de sementes de cupuaçu para o Japão, país que está investindo muito em pesquisa e produtos à base de cupuaçu (Limites Éticos, 2005).

Na industrialização do cupuaçu, a polpa é a parte mais consumida contribuindo com aproximadamente 40% da utilização do fruto. Os outros 60% restantes são constituídos pela casca do fruto (40%) e pelas sementes (20%). Com a polpa são preparados diversos produtos, tais como sucos, néctares (Barbosa *et al.*, 1978), sorvetes (Costa *et al.*, 1960), bombons (Venturieri, 1993), tortas, geléias, compotas, biscoitos, iogurtes e outros doces (Rodrigues, 1996). As sementes, ricas em gordura, quando fermentadas e torradas adequadamente podem ser utilizadas no desenvolvimento de produtos de chocolate similares aos produzidos com cacau, tanto na forma de tabletes como em pó (SEBRAE/AM, 1999). Na Tabela 2.3 é apresentada a composição centesimal das sementes e amêndoas do cupuaçu.

Tabela 2.3 – Composição centesimal das sementes e amêndoas do cupuaçu

Compostos	Semente* (%)	Amêndoa **(%)
Umidade	5,87	5,35
Proteína	9,82	9,80
Lipídios	60,25	63,13
Fibras	4,12	3,31
Cinzas	2,35	2,32
Outros compostos***	17,59	16,09
Energia (Kcal/100g)	651,89	671,73

* Sementes secas; ** Amêndoas (sementes fermentadas, secas e torradas); *** Calculado por diferença e representa compostos como carboidratos, ácidos, taninos, alcalóides, etc.

Fonte: Lopes (2000), citado por Cohen (2003).

Na Tabela 2.4 são apresentadas as propriedades físicas e químicas da gordura de cupuaçu, segundo diversos autores e também os padrões estabelecidos pela Resolução RDC nº 482 de 23 de setembro de 1999, da ANVISA, para gorduras em geral (ANVISA, 1999).

Tabela 2.4 – Propriedades físicas e químicas da gordura de cupuaçu

Análises	Vasconcelos ¹ (1975)	Silva ¹ (1988)	Luccas (2001)	ANVISA ⁴ (1999)
Umidade(%)	--	--	0,17 ²	--
Acidez (% AGL oléico)	2,11 ³	1,66 ³	0,03 ²	0,10
Índice de iodo (cg L/g)	45,9 ³	34 – 35 ³	44,0 ²	--
Índice de peróxidos (meqO ₂ /Kg)	--	--	0,80 ²	Máx. 10
Índice de saponificação (mgKOH/g)	174,6 ³	191,0 ³	191,0 ³	--
Índice de refração (40°C)	1,4583 ³	1,4583 ³	1,4580 ³	--
Matéria insaponificável (g/100g)	0,6 ³	1,2 ³	0,42 ³	--
Ponto de fusão (°C)	32 – 34 ³	29 – 30 ³	33,6 ²	--
Sabões em óleo	--	--	Isento	--

¹Citados por Venturieri (1993); ²Dados referentes à gordura de cupuaçu neutralizada; ³Dados referentes à gordura de cupuaçu bruta; ⁴Dados sobre gorduras, em geral.

A Tabela 2.5 apresenta dados de composição triglicerídica publicados por Luccas (2001) para a gordura de cupuaçu neutralizada (GCN) e a manteiga de cacau (MC), sendo a MC1 uma manteiga nacional e a MC2 importada. Estes dados por sua vez, evidenciam algumas diferenças, mas também deixam claro algumas semelhanças. Observa-se que 58,09% dos triglicerídeos presentes na gordura de cupuaçu neutralizada são do tipo *SUS* (saturado; insaturado; saturado), contra 84,52% e 92,51%

das manteigas de cacau brasileira e importada, respectivamente. Embora menor, esse valor é considerado alto comparado a outras gorduras vegetais como soja, algodão e palma, também utilizadas na produção de gorduras alternativas à manteiga de cacau, e indica que a gordura de cupuaçu possui características de cristalização e polimorfismo próximos aos da manteiga de cacau.

Tabela 2.5 – Composição em triglicerídeos da gordura de cupuaçu neutralizada (GCN) e da manteiga de cacau nacional (MC1) e importada (MC2) - (% de área do cromatograma)

Triglicerídeo	GCN	MC1	MC2
PIIP	1,12	1,90	1,80
OOO	3,87	---	---
POO	6,97	7,24	3,51
POP	1,85*	18,88	20,37
SOO	18,84	8,24	3,98
POS	13,01	37,38	41,43
OOA	8,61	---	---
SOS	29,13	24,89	26,96
PSS	0,92	---	---
SOA	12,98	1,47	1,95
OAA	2,70	---	---
<i>SUS</i>	<i>58,09</i>	<i>84,52</i>	<i>92,51</i>
SSS	0,92	---	---
<i>SUU</i>	<i>25,81</i>	<i>15,48</i>	<i>7,49</i>
<i>UUU</i>	<i>3,87</i>	---	---

(*) POP + PIIS; (--) não identificado.

Fonte: Luccas (2001)

Segundo Coutinho (1969), a gordura de cupuaçu extraída de amêndoas fermentadas, secas e torradas, apresenta aroma semelhante ao do chocolate. Vasconcelos *et al.* (1975), citado por Luccas (2001), realizaram um estudo químico comparativo entre as gorduras de cupuaçu e cacau. Eles comprovaram que, embora as gorduras tivessem sido extraídas de sementes originárias de uma mesma região, arredores de Manaus, foram observadas diferenças em relação à composição em ácidos graxos e propriedades físicas e químicas. A gordura de cupuaçu apresentou um teor de ácidos graxos insaturados maior que o da manteiga de cacau, o que refletiu no seu maior índice de iodo.

Com o objetivo de utilizar a gordura de cupuaçu como sucedâneo na fabricação de chocolates, Silva (1988) comparou a manteiga de cacau e a gordura de cupuaçu quanto às suas características físicas e químicas. O autor concluiu que a gordura de cupuaçu, na sua forma bruta, não apresenta características físicas e químicas adequadas para ser utilizada como sucedâneo de manteiga de cacau. Realizou, então, misturas em diversas proporções, entre a fração estearina (fase cristalina) de cupuaçu, obtida por fracionamento com solvente, a fração sólida de dendê, denominada comercialmente de *Calveta*, e a manteiga de cacau, e concluiu que a adição de até 10% de gordura de cupuaçu, ou de sua estearina, na manteiga de cacau não altera de forma significativa o comportamento de fusão da manteiga de cacau. Concluiu ainda, que a mistura de estearina de cupuaçu com a estearina de dendê, na proporção de 1:1, e a mistura dessas duas com a manteiga de cacau em até 10% também pode ser utilizada como sucedâneo da manteiga de cacau.

Luccas (2001), que estudou o fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu em escala laboratorial, concluiu que a melhor estearina foi obtida na condição de fracionamento realizado a 30°C e 20rpm, destacando que a temperatura de cristalização teve influência maior sobre os resultados do que a velocidade de agitação. No capítulo em que estudou o polimorfismo, observou a tendência da gordura de cupuaçu em cristalizar-se nas Formas IV e V, semelhante à manteiga de cacau.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

A gordura de cupuaçu utilizada neste projeto era uma gordura bruta, extraída de amêndoas fermentadas, secas e torradas. Ela foi cedida pela Empresa Frison Chocolates, de Rio das Pedras – SP, sendo oriunda do estado do Pará. A gordura foi mantida em baldes de plástico atóxico, os quais foram armazenados em câmara a 25°C, até o momento do uso.

3.2 Métodos analíticos

3.2.1 Caracterização física

Índice de refração – AOCS – Método Oficial Cc 7-25 (Firestone, 1998); Equipamento: Refratômetro Carl Zeiss.

Teor de gordura sólida (*Solid Fat Content* – SFC) – AOCS – Método Oficial Cd 16b-93 (Firestone, 1998); Equipamento: Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear, Minispec Bruker pc120. Tratamento térmico prévio das gorduras para a análise de SFC:

- Fusão da gordura a 100°C;
- 100°C durante 15 minutos;
- 60°C durante 5 minutos;
- 90 ± 5 minutos a 0°C;
- 40 ± 30 minutos a 26°C;
- 90 ± 5 minutos a 0°C;
- Estabilização da gordura durante 60 ± 5min em cada temperatura antes da medida.

Ponto de fusão – AOCS – Método Oficial Cc 1-25 (Firestone, 1998).

Antes da determinação do ponto de fusão pelo método capilar, as gorduras foram previamente submetidas a um tratamento térmico segundo as especificações da O.I.C.C. (1962).

3.2.2 Caracterização química

Acidez - AOCS – Método Oficial Ca 5a-40 (Firestone, 1998);

Índice de iodo - AOCS – Método Oficial 1d-87 (Firestone, 1998);

Índice de peróxidos - AOCS – Método Oficial Cd 8-53 (Firestone, 1998);

Índice de saponificação - AOCS – Método Oficial Cd 3-25 (Firestone, 1998);

Matéria insaponificável - AOCS – Método Oficial Ca 6a-40 (Firestone, 1998);

Estabilidade oxidativa - AOCS – Método Oficial Cd 12b-92 (Firestone, 1998);

Equipamento: OSI (*Oxidative Stability Instrument*); Temperatura: 130°C; Fluxo de ar: 9L/h; Quantidade de amostra: 5,0g.

Sabões em óleo - AOCS – Método Oficial Cc 17-95 (Firestone, 1998);

Teor de umidade - AOAC – Método Oficial 984.20 (Helrich, 1990); Equipamento: Karl Fischer – TitroLine Alpha/Schott-Geräte GmbH TM125.

Composição em ácidos graxos - AOCS – Método Oficial 1-62 (Firestone, 1998);

Equipamento: Cromatógrafo Gasoso Capilar, Agilent 6850, Series GC System. Condições de operação do cromatógrafo: coluna capilar DB-23 AGILENT (50% cianopropil–methylpoysiloxane), dimensões: comprimento 60m, Φ int 0,25mm; temperatura do forno: 195°C (20 minutos); 195°C a 215°C (5°C/min), 215°C (16 minutos); temperatura do detector: 280°C; temperatura do injetor: 250°C; gás de arraste: Hélio; Split: 1:50

Composição triglicéridica – AOCS – Método Oficial Ce 5b-89 (Firestone, 1998).

Equipamento: Cromatógrafo Líquido Perkin Elmer 250; Detector: índice de refração “Sicon Analytic”; Coluna: Lichrosorb RP-18 (5 μ m) de 25cm MERCK; Fase móvel: acetona:acetonitrila (62:38), 1ml/min; Amostra injetada: solução a 5% em acetona; Volume injetado: 20 μ L.

A identificação dos componentes foi realizada com o auxílio do Software Peaksimple, versão 1.4, por meio da comparação com o tempo de retenção de padrões de triglicerídeos e também através do programa de computação TRIGLIC.

3.2.3 Neutralização química da gordura de cupuaçu bruta

Uma gordura bem neutralizada beneficia a cristalização e o polimorfismo da gordura. Para a neutralização da gordura de cupuaçu bruta seguiu-se a metodologia sugerida por Tango *et al.* (1981) para óleo de palma, adaptada para escala laboratorial, segundo Luccas (2001). Utilizou-se uma solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 20° Bè, com excesso de 20% para auxiliar na remoção de gomas e outras impurezas, garantindo-se, assim, uma neutralização eficiente. A solução de NaOH foi introduzida lentamente na gordura derretida (35°C) sob agitação a 75rpm (agitador tipo âncora adaptado para três pás), mantendo-se esta velocidade por 35 minutos.

Em seguida, a rotação foi reduzida para 34rpm e a gordura foi aquecida lentamente até a temperatura de 65°C. Após atingir esta temperatura a gordura foi mantida em repouso por 15 minutos, sendo posteriormente separada da borra através de filtração a vácuo. A lavagem da gordura neutralizada foi realizada com água destilada a 90°C contendo 0,5% de ácido cítrico. Este procedimento foi repetido três vezes para cada amostra, com 10% de água em cada etapa. A gordura lavada foi então mantida a 100°C e sob vácuo por 30 minutos para secagem e, em seguida, filtrada sob vácuo em equipamento aquecido a 45°C (filtro encamisado), utilizando-se uma camada de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4) sobre o filtro para remoção de traços remanescentes de umidade.

3.3 Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada

As análises foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP em São Paulo-SP, segundo metodologia apresentada por D'Agostini (2001), adaptada para gordura de cupuaçu.

Preparação das lâminas – as amostras foram aquecidas à temperatura de 60-70°C em forno de microondas para completa fusão dos cristais e em seguida

homogeneizadas. As lâminas foram colocadas sobre a placa de aquecimento (Thermal Microscope Stage, marca Physitemp Instruments Inc., série TS-4), regulada a 50°C, acoplada a um banho (Thermo Bath, marca Shimadzu Corporation modelo TB-85, Japan) durante 5 minutos para estabilização da temperatura. Uma gota de gordura fundida foi colocada sobre a lâmina pré-aquecida, com o auxílio de um capilar, sendo em seguida coberta com uma lamínula, com uma inclinação de aproximadamente 45°C sobre a lâmina, e distribuída devido ao próprio peso da lamínula. Várias lâminas foram preparadas e mantidas em estufa a 20°C. A evolução da cristalização foi acompanhada semanalmente por meio da visualização dos cristais. A cada semana três novas lâminas foram retiradas da estufa e analisadas ao microscópio, não retornando mais à estufa. Este procedimento foi repetido por nove semanas.

Visualização dos cristais – com o uso de um microscópio de luz polarizada (Olympus System Microscope, marca Olympus America Inc., modelo BX 50) foram obtidas imagens com aumento de 40X, 100X e 200X. Durante a visualização, as lâminas foram mantidas à mesma temperatura da estufa (20°C) colocando-as sobre o suporte da placa de aquecimento.

Captação e gravação das imagens – por meio de uma câmera de vídeo colorida (Hyper HAD, marca Sony Corporation, modelo DXC-107A) conectada ao microscópio, foi possível a visualização da mesma imagem do microscópio na tela do computador. As imagens adquiridas foram digitalizadas em um computador através do programa Image Pro-Plus para Windows, versão 1.3.2 (Media Cybernetics), com o auxílio de uma placa de captura de imagem instalada no computador.

3.4 Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

O estudo do polimorfismo da gordura de cupuaçu foi realizado utilizando-se simultaneamente duas técnicas distintas: Difração de Raios X com radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). As experiências foram realizadas no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron em tempo dedicado a projetos internos da linha de luz destinada a Espalhamento de Raios X a Baixo Ângulo – SAXS.

O equipamento utilizado realizava simultaneamente as duas análises com uma mesma amostra.

As amostras de gordura de cupuaçu neutralizada foram prensadas e seladas em panelinhas de alumínio de DSC com janelas de mica. Antes de cada experiência as amostras foram aquecidas até 60°C por 5min visando apagar a história térmica. Logo após, elas foram resfriadas até a temperatura de solidificação (T_s), com uma taxa de 20°C/min. Para estudar as transformações estruturais e conhecer as temperaturas de fusão das fases, as amostras foram mantidas na temperatura T_s durante certo tempo (t), e depois aquecidas até 40°C com uma taxa de 4°C/min. Os dados calorimétricos foram obtidos através de medidas *in situ* de DSC, combinadas com as medidas de SR-XRD, acompanhando as transformações polimórficas da gordura. O calorímetro foi calibrado com Índio.

As medidas de SR-XRD foram realizadas utilizando radiação com comprimento de onda de 1,7433Å e duas distâncias amostra-detector: 755,35mm e 1344,50mm. O registro dos espectros foi feito com um detector linear sensível à posição (LPSD). Para cada fase encontrada nas gorduras durante os experimentos, um padrão de difração de raios X a alto (waxs) e a baixo ângulo (saxs) era obtido. Os dados foram tratados usando programas gráficos convencionais.

3.5 Fracionamento térmico a seco

3.5.1 Equipamentos

Para a realização dos ensaios experimentais foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Reator de vidro encamisado, com fundo cônico, marca Geraetebau, com agitação pneumática, capacidade de 2L; altura de 23cm e diâmetro de 14,5cm;
- Banho termostático com programador/controlador digital de temperatura, marca Lauda, modelo RC 6CP (6L), faixa de temperatura de -35°C a +200°C, resolução de 0,01°C, leitura digital tipo LDC;

- Sistema de filtração a vácuo com área filtrante de 25,13cm², corpo superior encamisado, corpo inferior com visor e disco perfurado para suporte do papel de filtro. Material aço inoxidável AISI 304;
- Bomba de vácuo tipo centrífuga, vazão de ar de 37L/min, vácuo 27inHg;
- Compressor de ar marca Schulz, modelo MAS7.6, 1 estágio, com pressão e volume compatíveis para uso acoplado ao reator de vidro;
- Suporte tubular sobre rodas para a instalação do sistema;
- Agitador tipo âncora em aço inoxidável, diâmetro de 20cm, com três pás revestidas com placa de *teflon*;
- Viscosímetro Brookfield RV DV-II+, Versão 5.0, com banho termostático acoplado;
- Banho termostático Brookfield, modelo TC500, capacidade de 5L, com variação de temperatura de $\pm 1^{\circ}\text{C}$;
- Estufa com temperatura controlada, marca Fanem;
- Microondas;
- Indicador digital de temperatura, marca Kane-May, modelo KM 330, faixa de temperatura de 0°C a 760°C e resolução de 0,1°C;

A Figura 3.1 mostra uma fotografia do sistema integrado, utilizado no fracionamento. As Figuras 3.2-a e 3.2-b destacam o agitador tipo âncora e o filtro encamisado, respectivamente.

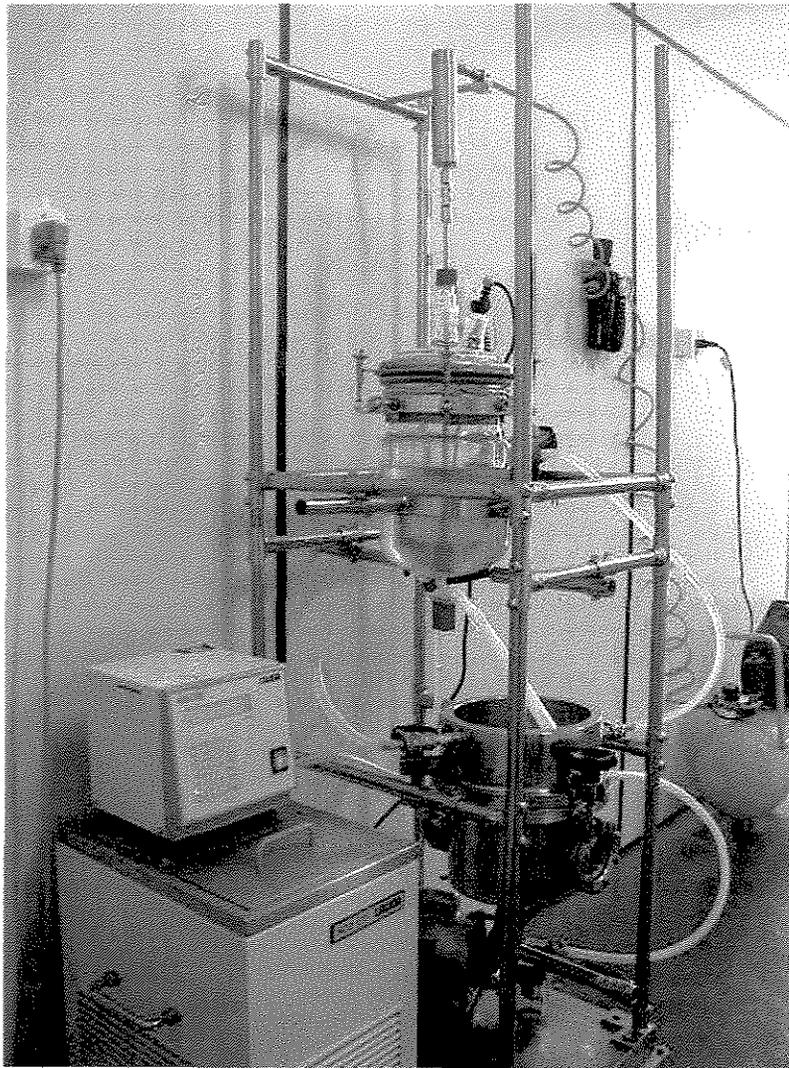
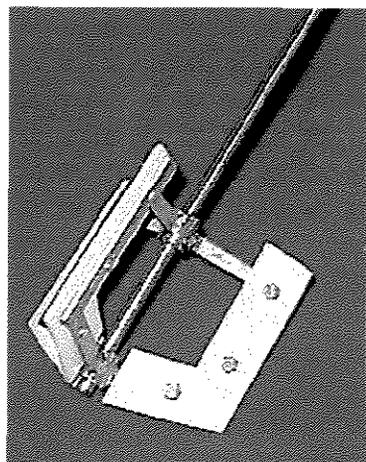
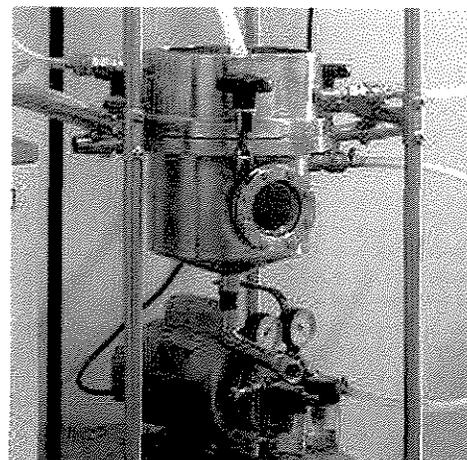


Figura 3.1 – Sistema integrado utilizado no fracionamento



(a)



(b)

Figura 3.2 – Detalhes do sistema integrado: (a) Agitador tipo âncora; (b) Filtro encamisado

3.5.2 Processo

A Figura 3.3 apresenta o fluxograma do processo de fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu.

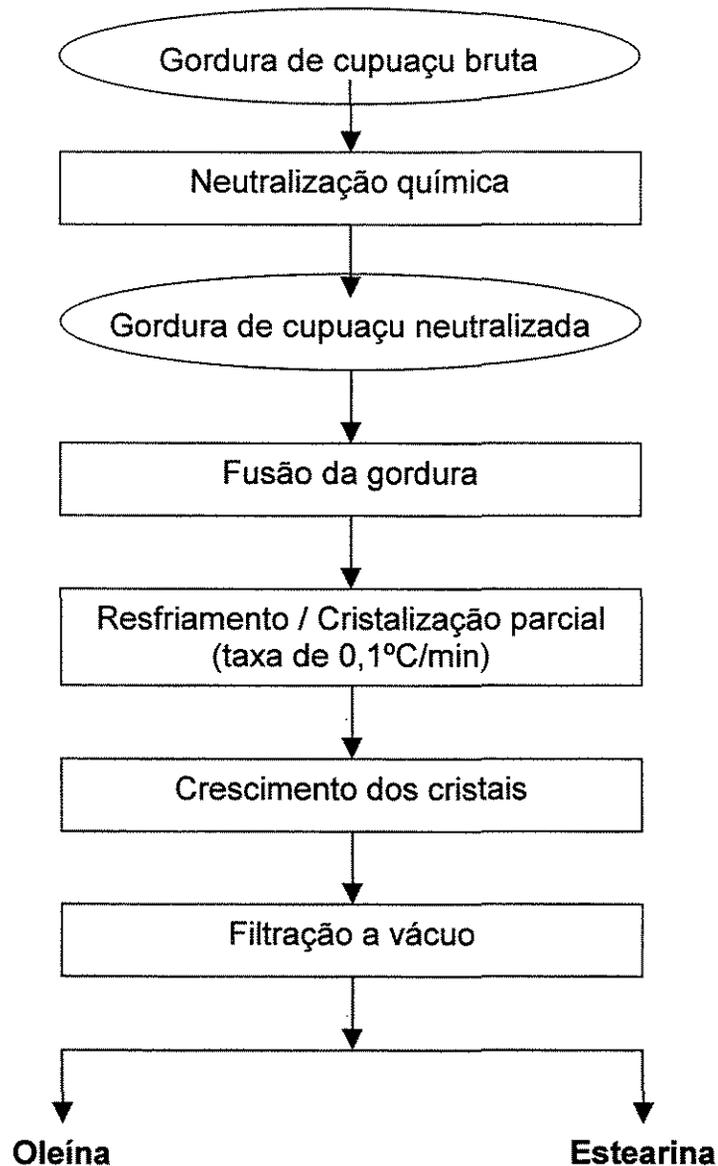


Figura 3.3 – Fluxograma do processo de fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu neutralizada

3.5.3 Metodologia

Em trabalho anterior, Luccas (2001) estudou o fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu, com ensaios conduzidos em escala laboratorial. Baseando-se

nessa pesquisa foi realizado um aumento de escala de quatro vezes, utilizando-se o novo sistema de fracionamento integrado, composto pelo reator de vidro encamisado, com agitação pneumática, e o filtro a vácuo, também encamisado. A temperatura de todo o sistema foi controlada através do uso do banho termostatzado, dotado de um programador/controlador de temperatura, onde as rampas de aquecimento/resfriamento foram programadas. Os ensaios foram realizados com lotes de 2,0Kg de gordura.

Para a fusão da gordura utilizou-se um forno microondas. A temperatura máxima alcançada na fusão foi de 70°C. A gordura foi alimentada no reator que já se encontrava em operação, sob agitação e na temperatura do teste. Inicialmente, a gordura foi mantida na temperatura de 50°C por 30 minutos (Fase A da Figura 3.4), para garantir a fusão completa dos cristais e estabilização da temperatura. Em seguida, procedeu-se um resfriamento lento a uma taxa de 0,1°C/min (Fase B) até atingir a temperatura de cristalização desejada (T_c). Depois disso a gordura foi mantida em temperatura constante até o término do ensaio (Fase C). Para exemplificar, na Figura 3.4 são apresentadas as fases A, B, C utilizadas para a condição do ponto central do planejamento experimental ($T_c = 29^\circ\text{C}$ e $V_a = 25\text{rpm}$).

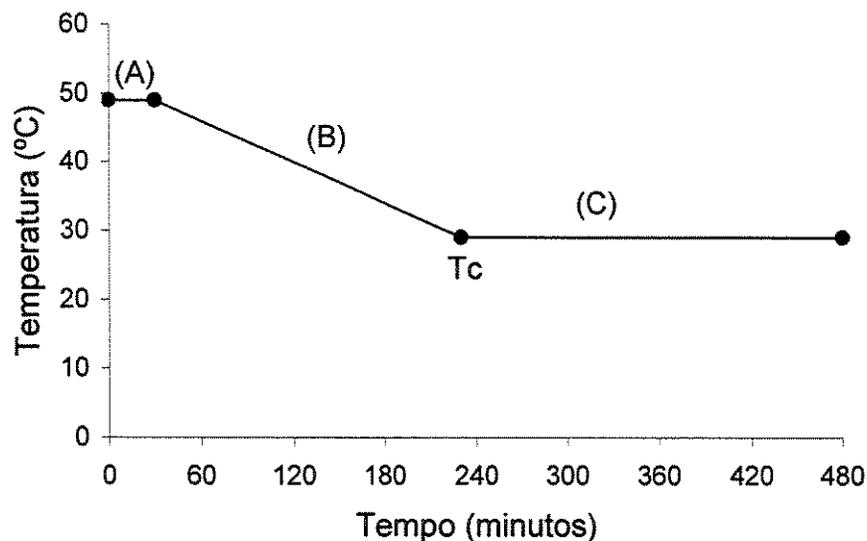


Figura 3.4 – Taxa de resfriamento da gordura de cupuaçu durante o fracionamento a 29°C e 25rpm

O valor da viscosidade aparente da gordura durante a cristalização foi escolhido como critério para estabelecer o ponto de parada do fracionamento, conforme sugerido por Pandolfi (1993). Para proceder a um acompanhamento quantitativo da cristalização durante o resfriamento, tomou-se amostras da gordura no reator em intervalos de tempo regulares e procedeu-se a determinação da viscosidade aparente.

Utilizou-se um Viscosímetro Brookfield, modelo RV DV-II+, Versão 5.0, com banho termostático acoplado, para manter o adaptador de pequenas amostras na temperatura desejada para a análise. O *spindle* utilizado foi o de número 15 e sua rotação para estas análises foi fixada em 25rpm.

Procedeu-se a um acompanhamento da evolução da viscosidade aparente da gordura durante todo o fracionamento, até o ponto em que a gordura atingiu um máximo na cristalização (consistência que impossibilitava a filtração). Para o levantamento destes dados realizou-se um fracionamento preliminar no ponto central do planejamento proposto (29°C e 25rpm). A Figura 3.5 mostra a curva de viscosidade aparente obtida nessas condições.

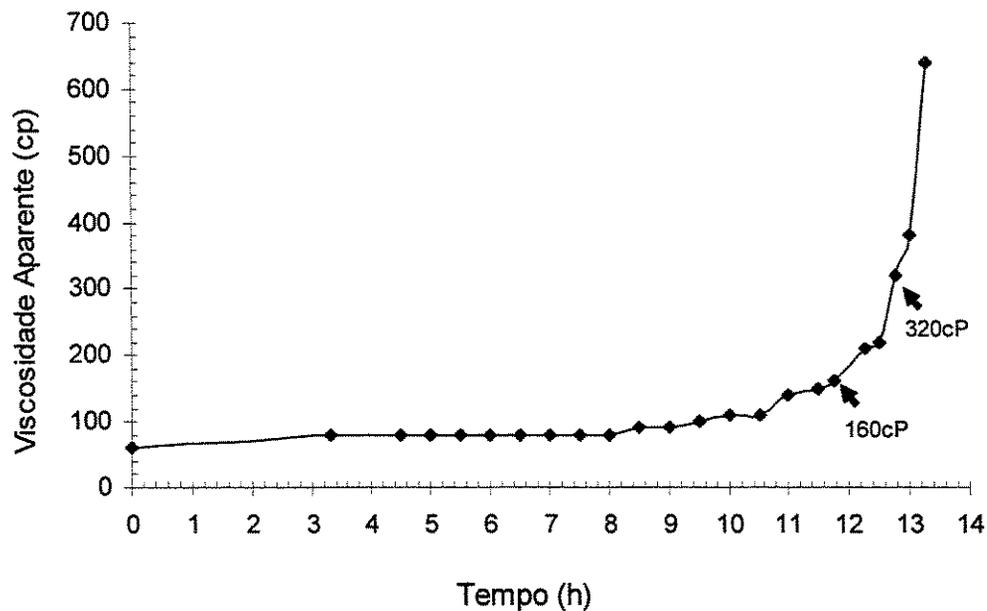


Figura 3.5 – Curva de acompanhamento da viscosidade aparente da gordura de cupuaçu durante fracionamento a 29°C e 25rpm

Uma análise da curva estabeleceu primeiramente que a região em torno de 320cP corresponde a uma situação de variação acentuada da viscosidade e poderia ser

utilizada como referência para o ponto de parada do fracionamento, conforme sugerido em estudo realizado por Pandolfi (1993). No entanto, constatou-se que neste ponto a gordura já se encontrava muito consistente, gerando estearina com alto teor de oleína ocluída devido à dificuldade de filtração. Foi preciso, então, estipular um novo valor de viscosidade para o ponto de parada do fracionamento. Após sucessivos ensaios e observações visuais dos cristais formados, estabeleceu-se o valor de 160cP, como sendo o ponto de parada do fracionamento.

Vale ressaltar que esses valores de viscosidade apresentados servem apenas quando a filtração é realizada em filtro a vácuo (escala laboratorial). Assim, gorduras com viscosidades superiores poderiam ser filtradas em outros sistemas (filtro de membranas ou filtro-prensa, por exemplo) e o rendimento/qualidade da estearina poderia ser maior/melhor, conforme a eficiência da filtração.

A filtração (separação da oleína da estearina) foi realizada sob vácuo de 27polHg em filtro encamisado e mantido na temperatura de cristalização empregada no reator. A estearina foi retida sobre papel de filtro sustentado por disco perfurado. A oleína foi recolhida no reservatório inferior e coletada em recipientes para posterior armazenagem. Depois de encerrada a filtração, a estearina foi removida do papel filtro e também armazenada até a sua caracterização.

3.5.4 Planejamento experimental

O planejamento experimental utilizado para o estudo do fracionamento da gordura de cupuaçu foi proposto baseado em observações dos testes preliminares, gerando um planejamento fatorial completo 2^2 com três pontos centrais (Barros Neto *et al.*, 1995).

As variáveis independentes estudadas foram a temperatura de cristalização (T_c) e a velocidade de agitação (V_a). As respostas (variáveis dependentes) foram o tempo de fracionamento (t_f), o rendimento em estearina (% est), a diferença entre os índices de iodo das frações estearina e oleína (ΔI_i), a diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔP_f), o teor de gordura sólida da estearina na temperatura de 25°C ($Se_{25^\circ C}$) e a diferença entre o teor de gordura sólida da estearina

entre 25°C e 35°C ($\Delta Se_{25-35^\circ C}$). Na Tabela 3.1 é apresentado o delineamento experimental utilizado.

Os pontos axiais $-\alpha$ e $+\alpha$ foram determinados pela Equação [3.1], Onde, $k =$ número de variáveis independentes = 2.

$$\alpha = (2^k)^{1/4} \quad [3.1]$$

O cálculo dos valores reais das variáveis correspondentes ao $-\alpha$ e $+\alpha$ foi feito por extrapolação. A Tabela 3.1 apresenta os níveis e valores reais das variáveis estudadas.

Tabela 3.1 – Planejamento experimental

Ensaio	Variável 1 (Tc)	Variável 2 (Va)	Temperatura de cristalização, Tc (°C)	Velocidade de agitação, Va (rpm)
1	-1	-1	28	20
2	+1	-1	30	20
3	-1	+1	28	30
4	+1	+1	30	30
5	$-\alpha$ (-1,414)	0	27,6	25
6	$+\alpha$ (+1,414)	0	30,4	25
7	0	$-\alpha$ (-1,414)	29	18*
8	0	$+\alpha$ (+1,414)	29	32*
9	0	0	29	25
10	0	0	29	25
11	0	0	29	25

* Em virtude do sistema de agitação utilizado, estes valores tiveram que ser arredondados para números inteiros. Os valores de Va originalmente calculados para os Ensaio 7 e 8 eram de 17,93 e 32,1, respectivamente.

Os resultados foram analisados estatisticamente usando o *Software Statistica 5.0*, obtendo-se os efeitos principais e de interação de cada variável e os coeficientes de regressão do modelo.

Para a otimização dos resultados do planejamento experimental foi utilizado o método de sobreposição de gráficos. Derringer e Suich (1980) relatam o uso desse método em conjunto com a metodologia da superfície de resposta, na otimização de sistemas com multirrespostas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Neutralização química

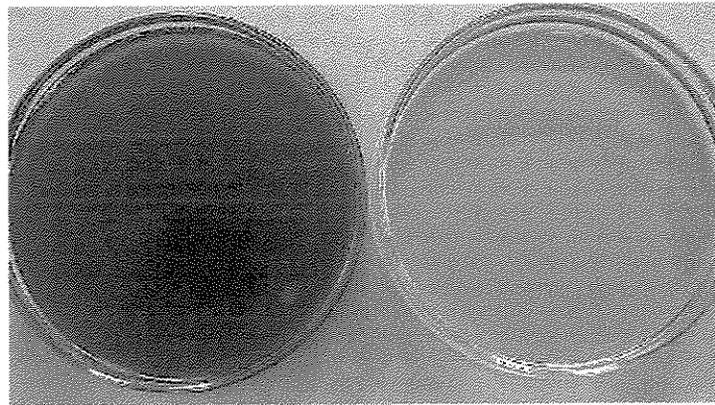
Para cada um dos três lotes de gordura de cupuaçu bruta recebidos, foi feita a análise de teor de ácidos graxos livres (%AGL). As análises foram realizadas em triplicata, usando como base de cálculo o ácido oléico. Os resultados obtidos nesta determinação são apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 – Teor de ácidos graxos livres (%AGL) da gordura de cupuaçu bruta

Lotes	1	2	3
% AGL (ácido oléico)	1,60 ± 0,01	1,49 ± 0,01	1,76 ± 0,04

Como a porcentagem média de ácidos graxos livres na gordura de cupuaçu bruta foi de 1,63%, procedeu-se uma neutralização química com NaOH 20°Bè conforme já descrito no Item 3.2.3. Foram utilizados 2,2Kg de gordura bruta em cada tratamento, que tinha uma duração média de 6h. O rendimento desta etapa foi de aproximadamente 65%. Após o término da neutralização, os lotes foram misturados para homogeneização das amostras a serem fracionadas.

A Figura 4.1 apresenta uma fotografia da gordura de cupuaçu antes e após a neutralização.



(a)

(b)

Figura 4.1 – Gordura de cupuaçu: (a) bruta; (b) neutralizada

4.2 Análises físicas e químicas da gordura de cupuaçu neutralizada

As Tabelas 4.2, 4.3 e 4.4 apresentam os resultados das análises físicas e químicas, de identidade e qualidade, composição em ácidos graxos e composição triglicéridica da gordura de cupuaçu neutralizada, respectivamente.

Tabela 4.2 – Análises físicas e químicas da gordura de cupuaçu neutralizada

Análises	Resultados
%AGL (Ácido oléico)	0,03 ± 0,01
Umidade (%)	0,03 ± 0,01
Índice de iodo (cgL/g)	45,47 ± 0,44
Índice de saponificação (mgKOH/g)	191,76 ± 2,29
Índice de refração (40°C)	1,4620
Índice de peróxidos (meqO ₂ /Kg)	6,95 ± 0,05
Estabilidade oxidativa a 130°C (horas)	11,00 ± 0,05
Matéria insaponificável (g/100g)	traços
Ponto de fusão (°C)	33,73 ± 0,21
Sabões em óleo	isento

Os resultados da Tabela 4.2 mostram que a gordura de cupuaçu utilizada nos testes apresentou alto índice de peróxidos ($6,95 \pm 0,05 \text{ meqO}_2/\text{Kg}$), o que indica que a matéria-prima já tinha sofrido reação de oxidação, esse resultado, no entanto, ainda encontra-se abaixo do valor máximo estipulado pela Resolução RDC nº 482, de 23 de setembro de 1999, da ANVISA, que é de no máximo $10 \text{ meqO}_2/\text{Kg}$ para gorduras em geral (ANVISA, 1999). Após a neutralização o teor de ácidos graxos livres da gordura foi de 0,03%, significando que a neutralização foi efetiva. Observa-se, ainda, que os demais resultados obtidos estão próximos aos apresentados por outros autores e descritos na Tabela 2.4.

Na Tabela 4.3 verifica-se que os principais ácidos graxos encontrados na gordura de cupuaçu são o oléico, esteárico, araquídico e palmítico, constituindo 93,47% da composição, sendo que os dois primeiros são os predominantes.

Tabela 4.3 – Composição em ácidos graxos da gordura de cupuaçu neutralizada

Ácidos Graxos		%
C16:0	Ácido palmítico	6,97
C16:1	Ácido palmitoléico	0,12
C18:0	Ácido esteárico	33,08
C18:1	Ácido oléico	42,32
C18:2	Ácido linoléico	3,55
C18:3	Ácido linolênico	0,13
C20:0	Ácido araquídico	11,10
C20:1	Ácido eicosenóico	0,41
C22:0	Ácido behênico	2,32
<i>Saturados</i>		<i>53,47</i>
<i>Monoinsaturados</i>		<i>42,85</i>
<i>Poliinsaturados</i>		<i>3,68</i>

Os valores são muito próximos aos resultados obtidos por Silva (1988) e Luccas (2001), que encontraram teores dos ácidos palmítico, esteárico,

oléico e araquídico de 7,2%, 30,8%, 43,9% e 11,0%; e 7,3%, 34,7%, 44,0% e 10,6%, respectivamente.

Verifica-se também que os ácidos palmitoléico, linolênico, eicosenóico e behênico encontram-se em quantidades muito pequenas, perfazendo um total de 2,98% da composição total. Na gordura de cupuaçu os ácidos graxos saturados (53,47%) são predominantes sobre os insaturados (46,53%). O alto valor de ácidos graxos monoinsaturados (42,85%) deve ser o motivo pelo qual a gordura de cupuaçu é mais macia, quando comparada à manteiga de cacau, cujo valor médio de ácidos graxos monoinsaturados é de 35,4% (Luccas, 2001). Na Tabela 4.4 estão apresentados os resultados da composição triglicéridica da gordura de cupuaçu, baseados na % da área do cromatograma.

Tabela 4.4 – Composição triglicéridica da gordura de cupuaçu neutralizada

Triglicerídeos	%
PIIP	1,56
OOO	3,63
POO	7,40
POP	2,29
SOO	18,09
POS	13,19
OOA	8,63
SOS	27,48
PSS	1,33
SOA	12,43
OUTROS	3,95
<i>SUS</i>	56,95
<i>SSS</i>	1,33
<i>SUU</i>	34,12
<i>UUU</i>	3,63
<i>SOS</i>	55,39

S = saturado e U = insaturado

Constata-se que 56,95% dos triglicerídeos presentes na gordura de cupuaçu neutralizada são do tipo *SUS* (saturado; insaturado; saturado). Este alto teor de triglicerídeos simétricos pode indicar que a gordura de cupuaçu possui características de cristalização bem definidas e similares às da manteiga de cacau, conforme já observado por Luccas (2001).

Observa-se também que a gordura de cupuaçu apresenta alto teor dos triglicerídeos *SOO* e *SOS* e teores intermediários de *POS*, *SOA*, *POO* e *OOA*. Por outro lado, apresenta baixo teor de *POP*, um dos mais importantes triglicerídeos presentes na manteiga de cacau. Os resultados estão muito próximos aos obtidos por Luccas (2001), que encontrou teores de *SOO*, *OOA*, *OOO*, *SOA*, *POS* e *POP* de 18,84%, 8,61%, 3,87%, 12,98%, 13,01%, 1,85%, respectivamente.

Para que uma gordura possa ser considerada como Gordura Equivalente à Manteiga de Cacau (*CBE – Cocoa Butter Equivalent*), de acordo com a UE (União Européia), ela deve satisfazer alguns critérios analíticos estabelecidos, tais como possuir mais de 65% de triglicerídeos do tipo *SOS* (*S* = saturado; *O* = ácido oléico) e apresentar mais que 45% de ácidos graxos insaturados.

Analisando as Tabelas 4.3 e 4.4, constata-se que a gordura de cupuaçu apresenta 46,53% de ácidos graxos insaturados e 55,39% de triglicerídeos do tipo *SOS* (*POP+POS+SOS+SOA*). Dessa forma, mesmo apresentando algumas semelhanças com a manteiga de cacau, a gordura de cupuaçu neutralizada não pode ser classificada como uma *CBE*.

4.3 Análise microscópica dos cristais sob luz polarizada

Conforme já foi apresentado na Revisão Bibliográfica, as principais estruturas de cristais que podem ser encontradas em gorduras segundo Berger *et al.* (1979), citado por Simões & Gioielli (1999), são:

1. Esferulitos Tipo A: cristais com núcleo compacto, cercados de agulhas longas e finas, distribuídas radialmente;

2. Esferulitos Tipo B: pequenos núcleos cercados de cristais orientados aleatoriamente;
3. Tipo Cachos: grupos de cristais pequenos, aproximadamente esféricos, arranjados aleatoriamente;
4. Tipo Aglomerados: agregados de cristais Esferulitos e Cachos.

Na Figura 4.2 são apresentadas imagens obtidas por microscopia de luz polarizada de cristais da gordura de cupuaçu neutralizada, acondicionada por uma semana a 20°C.

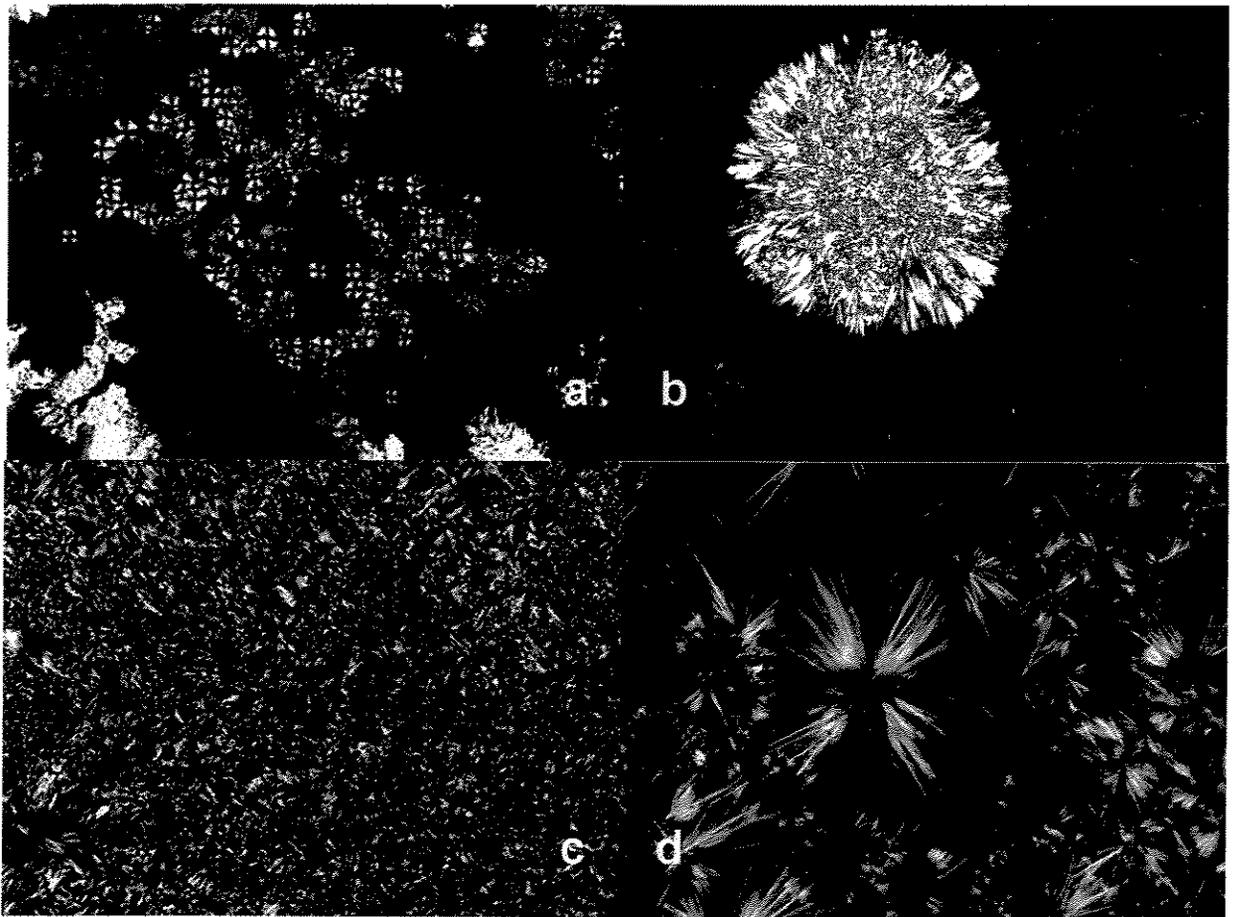


Figura 4.2 – Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por uma semana. 'a' e 'b' (aumento 100X), 'c' e 'd' (aumento 200X)

A cristalização da gordura nas lâminas formou uma superfície cristalina contínua, pouco compacta e indefinida, com alguns aglomerados compactados. A maioria das micrografias foi obtida na borda da massa cristalina, onde existiam cristais grandes e bem definidos. Segundo a descrição apresentada por Simões e Gioielli

(1999), os cristais captados pela Imagem 'a' são esferulito Tipo B. As Imagens 'b' e 'd' correspondem a cristais esferulito Tipo A, que foram predominantes em todas as observações feitas nesta amostra, e a Imagem 'c' é de um aglomerado (agregados de cristais esferulitos e cachos).

A Figura 4.3 apresenta micrografias obtidas após duas semanas de acondicionamento a 20°C. Segundo a descrição apresentada por Simões e Gioielli (1999) as Imagens 'f' e 'g' mostram cristais denominados esferulitos Tipo A e o cristal da Imagem 'h' é um esferulito Tipo B, às vezes, com o centro semelhante a um aglomerado de minúsculos cristais e bordas em forma de "agulhas", encontrado em maior quantidade entre os cristais visualizados. Cristais conforme os da Imagem 'e' também foram visualizados freqüentemente. A literatura consultada não faz referência a cristais desse tipo, mas seu arranjo é parecido com o de aglomerados.

Percebe-se que alguns cristais apresentam uma cristalinidade maior nas quatro direções, semelhante a um esferulito Tipo A (Imagem 'i'). Segundo a descrição apresentada por Simões e Gioielli (1999), este cristal pode representar uma cristalização da forma polimórfica beta (β).

Em algumas imagens captadas ao microscópio, as formas cristalinas tinham a aparência de dois cristais sobrepostos com bordas em forma de "pétalas de flor" (Imagem 'j'). Cristais deste tipo podem ser considerados como cristalizados na forma beta-prima (β').

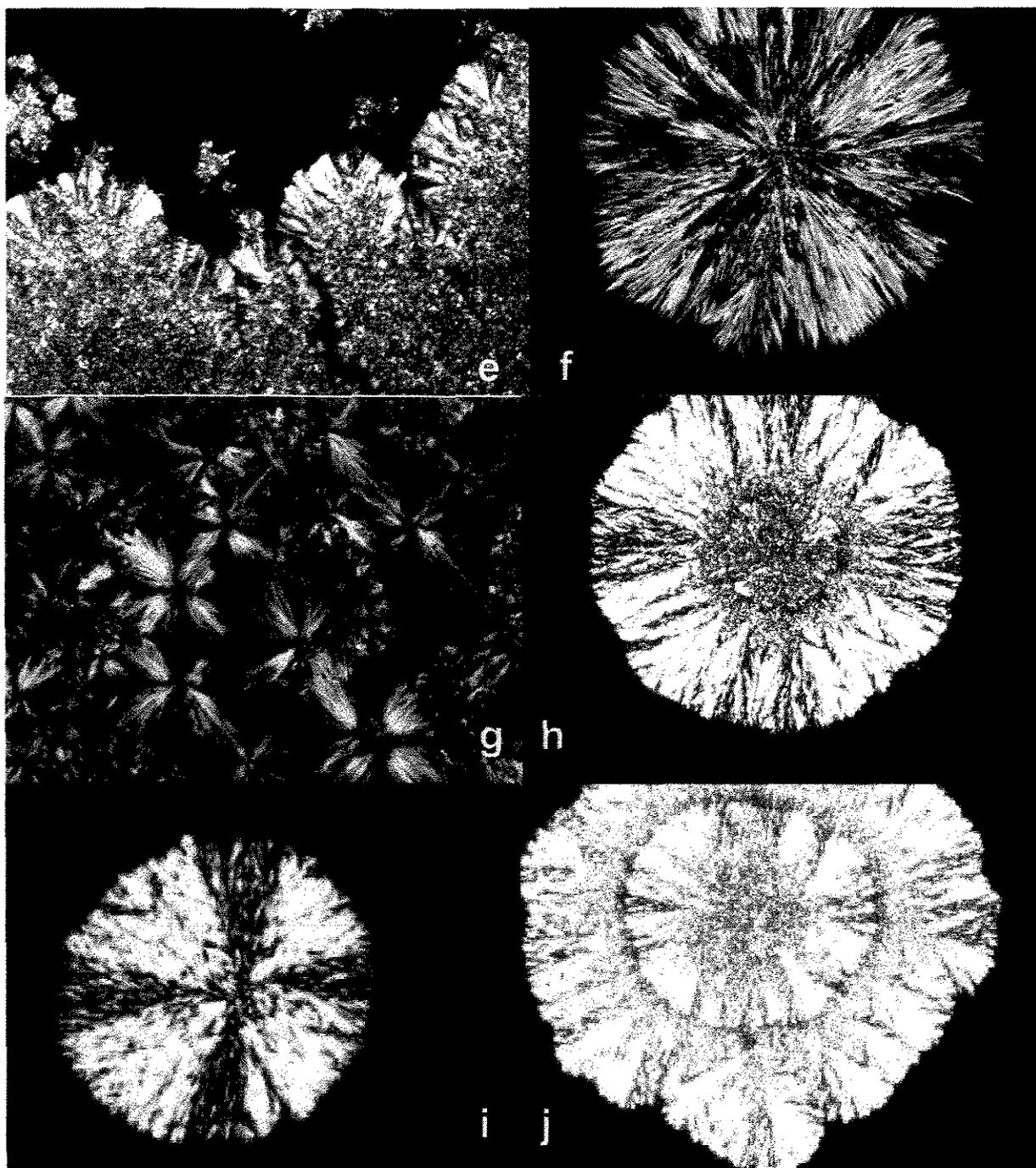


Figura 4.3 – Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por duas semanas. ‘e’, ‘h’, ‘i’ e ‘j’ (aumento 40X); ‘f’ (aumento 100X); ‘g’ (aumento 200X)

Na Figura 4.4 são apresentadas imagens dos cristais da gordura de cupuaçu após três semanas a 20°C. Em comparação com as observações da primeira semana (Figura 4.2), houve um considerável aumento no tamanho dos

cristais, com a formação de muitos cristais com centros definidos, semelhante à segunda semana, porém maiores.

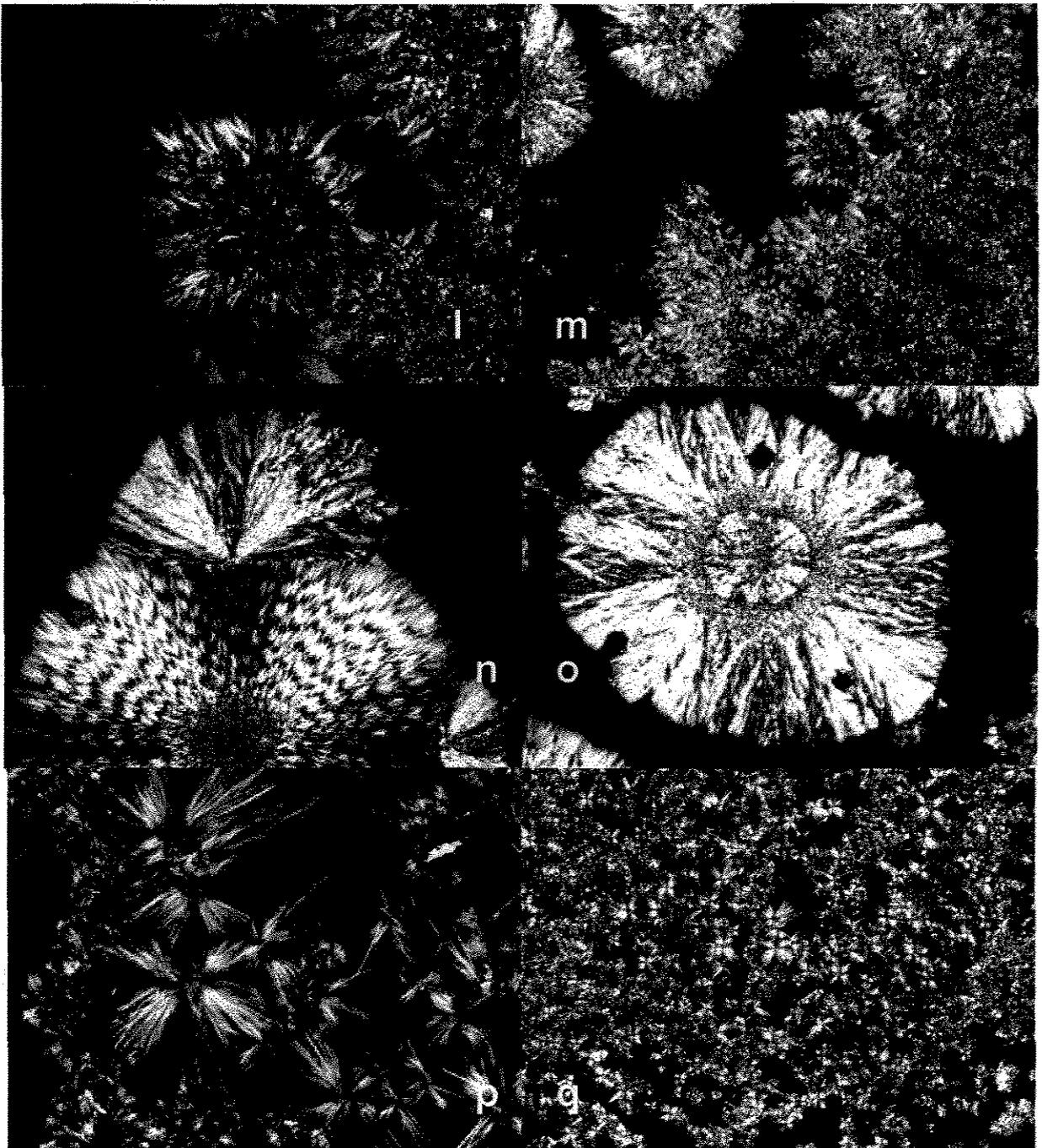


Figura 4.4 – Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por três semanas. 'l' (aumento 100X); 'm', 'n', 'o' e 'q' (aumento 40X); 'p' (aumento 200X)

Observou-se, também, grandes aglomerados cristalinos sem forma definida (Imagem 'q'). Foram ainda visualizados alguns cristais com coloração levemente alaranjada (Imagens 'l' e 'o').

As Imagens 'l', 'n' e 'o' mostram cristais de esferulito Tipo B e na Imagem 'm' aparece um aglomerado de cristais na forma de esferulitos e cachos. Cristais semelhantes aos da Imagem 'm' foram os mais encontrados nas lâminas preparadas e acondicionadas por três semanas a 20°C. A Imagem 'p' mostra cristais de esferulito Tipo A. Esta forma estava presente em todas as lâminas.

Da terceira para a quarta semana não se detectou grandes alterações estruturais.

Na quinta semana constatou-se alterações quanto à forma e o tamanho, conforme pode ser visto nas micrografias da Figura 4.5.

Além do aumento dos cristais houve um crescimento das bordas com formato de "pétalas de flor", conforme mostram as Imagens 'r', 's' e 't', sendo predominantes nas lâminas observadas na quinta semana. As demais formas encontradas anteriormente, esferulitos Tipo A e Tipo B, persistiram na quinta semana, tal como pode ser observado nas Imagens 'u' e 'x' (Tipo A) e 'v' (Tipo B).

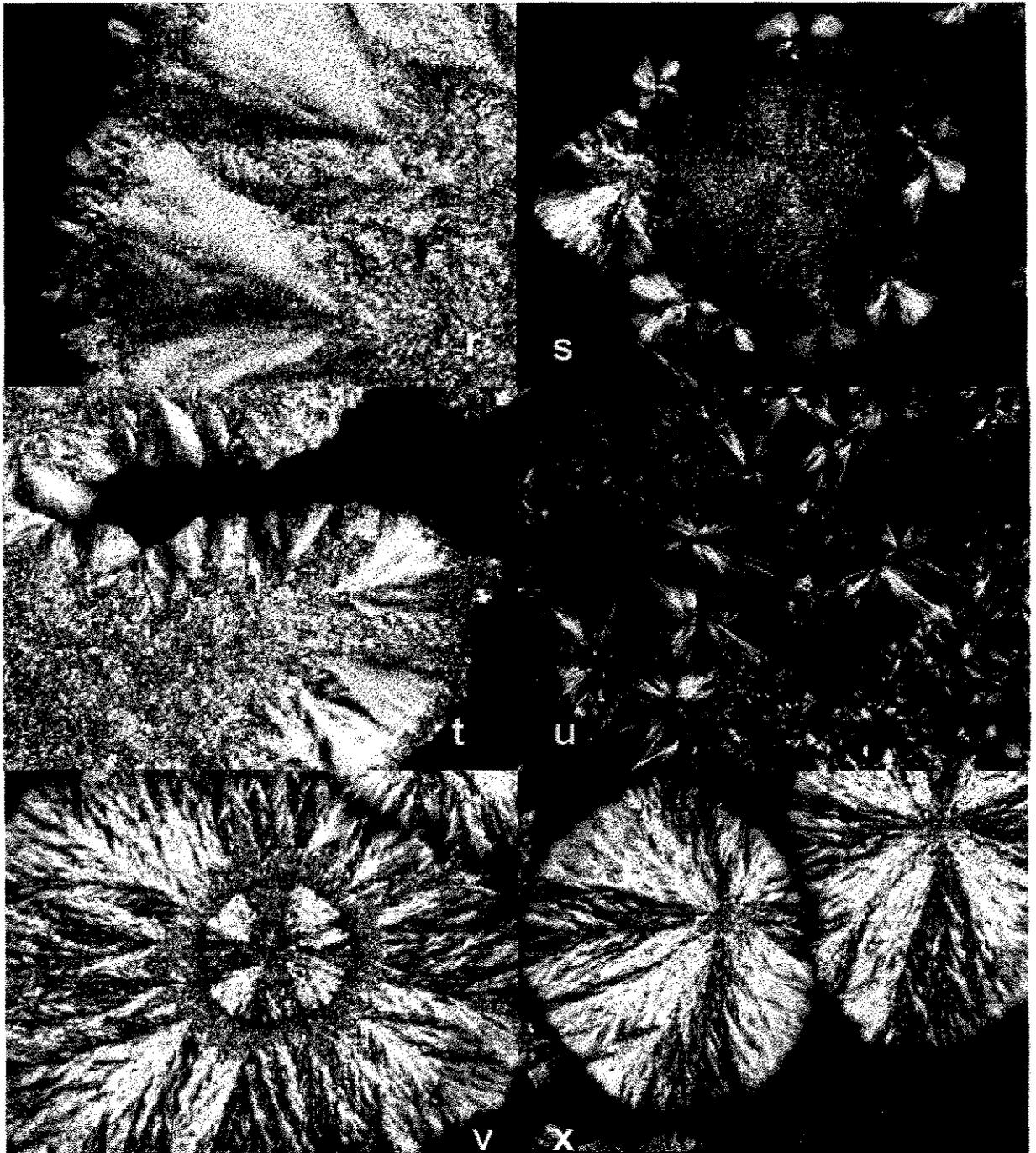


Figura 4.5: Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por cinco semanas. 'r' e 'u' (aumento 200X); 's' e 't' (aumento 100X); 'v' e 'x' (aumento 40X)

Na sexta semana não foi constatada nenhuma característica nova com relação à quinta semana, exceto o crescimento dos cristais.

Na sétima semana foram observadas algumas curiosidades, conforme pode ser visto nas Imagens 'aa' e 'bb' da Figura 4.6. Os cristais nestas imagens têm um aspecto fragmentado, talvez consequência de ruptura de uma grande rede cristalina.

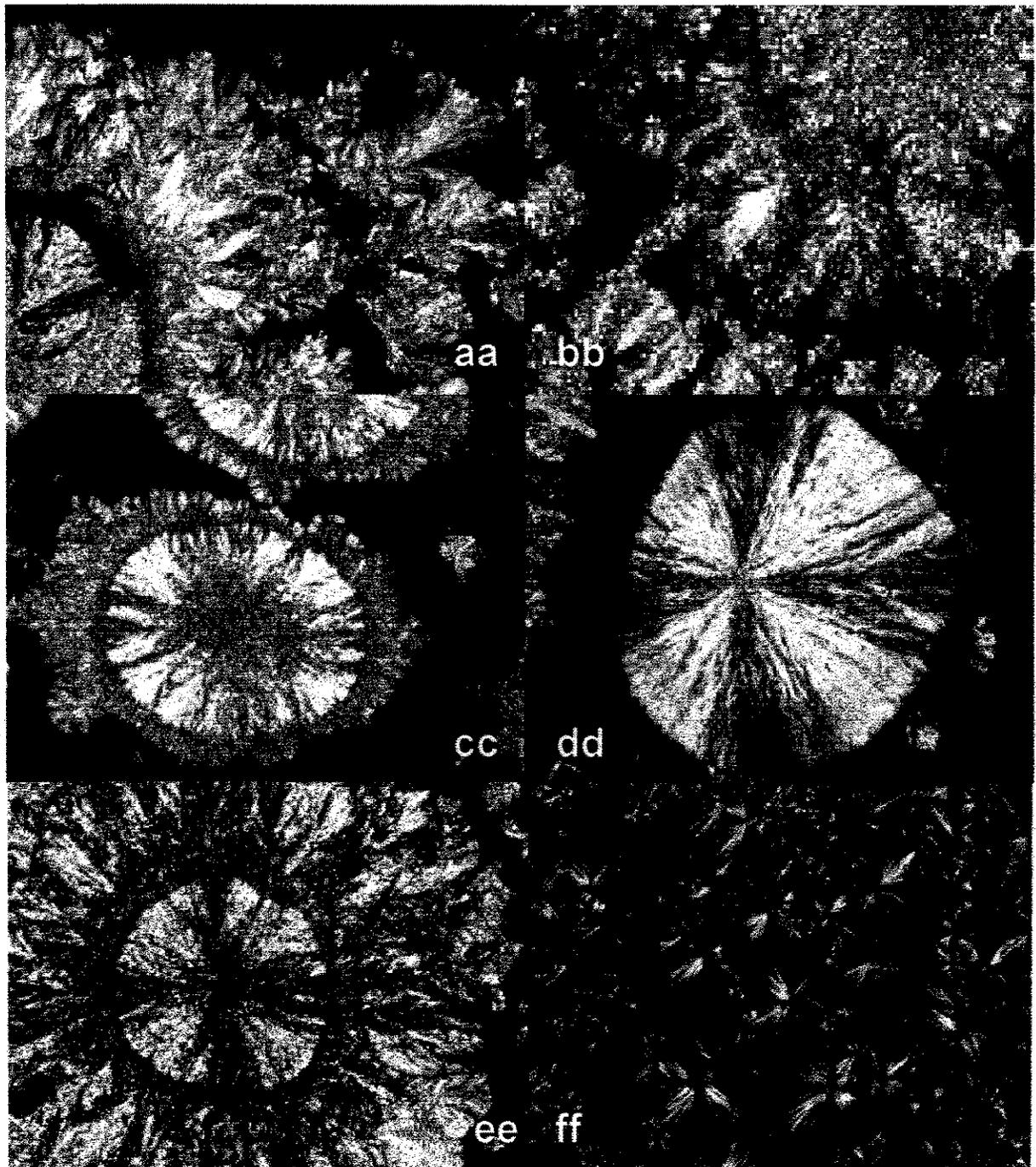


Figura 4.6: Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por sete semanas. 'aa', 'bb', 'cc', 'dd' e 'ee' (aumento 40X); 'ff' (aumento 100X)

A Imagem 'aa' sugere que o cristal que deu origem a estes fragmentos é semelhante ao da Imagem 'cc', que foi observado na gordura de cupuaçu conforme visualizado nas figuras obtidas em semanas anteriores. As Imagens 'dd' 'ff' (Tipo A) e 'ee' (Tipo B) também são formas cristalinas típicas da gordura de cupuaçu, tendo sido encontradas desde o início das observações microscópicas, variando apenas em tamanho.

Na oitava semana de acompanhamento não se constatou diferenças significativas em relação às semanas anteriores, conforme pode ser observado na Figura 4.7. As Imagens 'gg' e 'hh', parecem ser aglomerados de cristais na forma de cachos e com bordas no formato de "pétalas de flor", como vem sendo chamados neste trabalho. As demais imagens referem-se a cristais na forma de esferulito Tipo A, uns com centro maior formado por aglomerados ('ii' e 'jj') e outros com centro pontual ('ll' e 'mm').

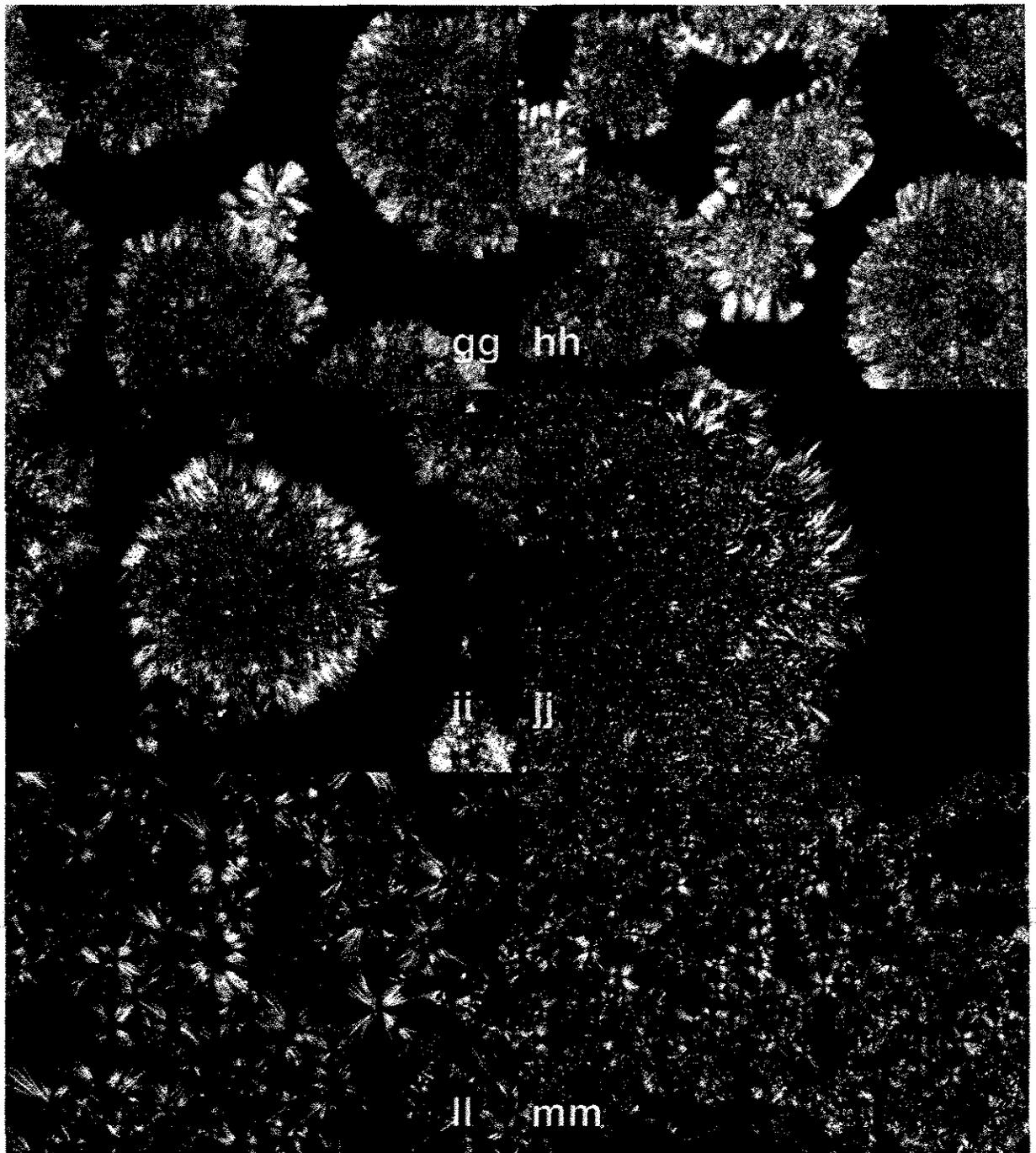


Figura 4.7 – Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por oito semanas. Imagens 'gg', 'hh', 'ii' e 'mm' (aumento 40X); 'jj' e 'll' (aumento 100X)

A Figura 4.8 apresenta imagens obtidas após nove semanas de acondicionamento em estufa a 20°C.

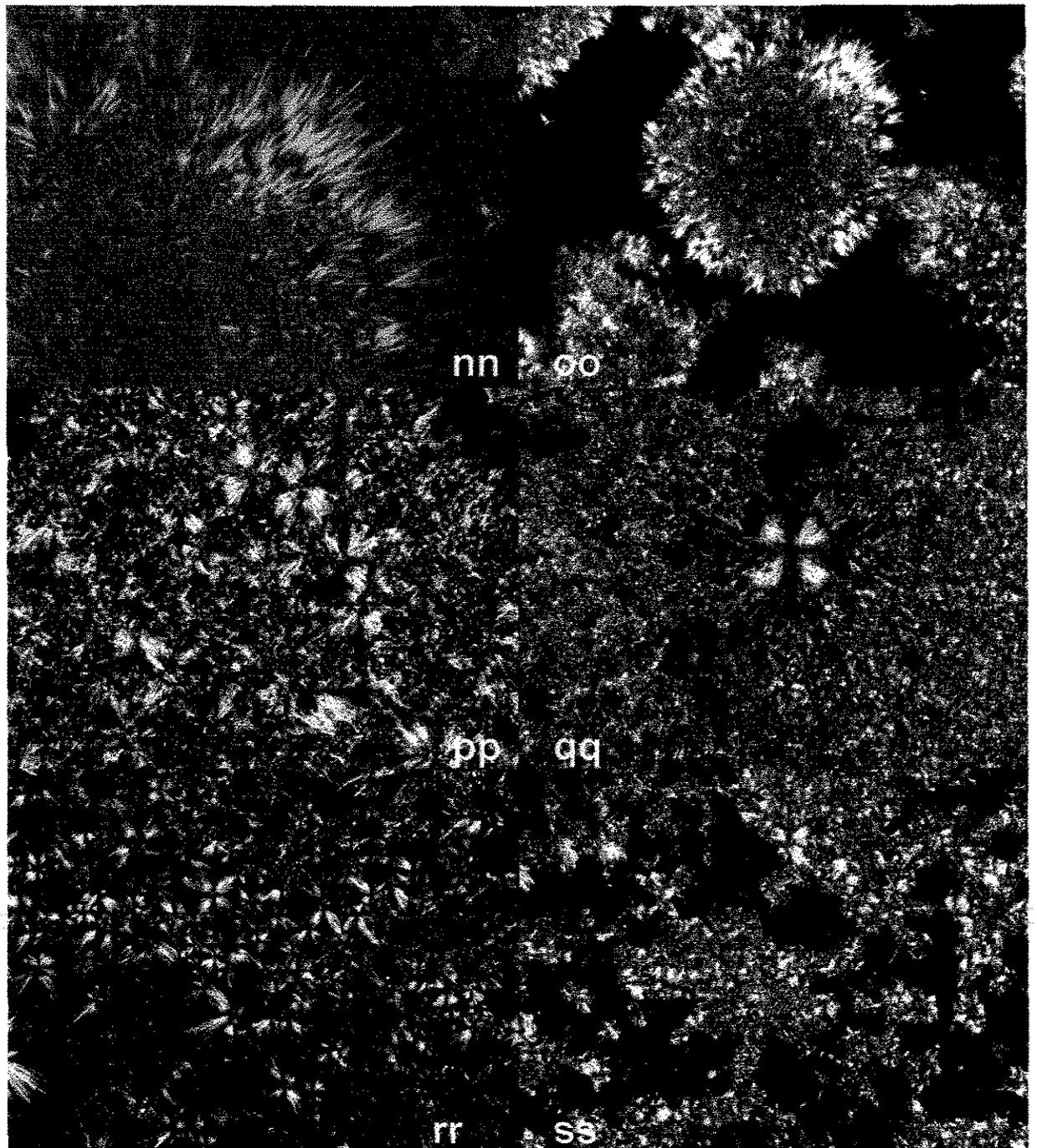


Figura 4.8 – Micrografias por luz polarizada da gordura de cupuaçu acondicionada a 20°C por nove semanas. 'oo' e 'qq' (aumento 40X); 'nn', 'rr' e 'ss' (aumento 100X); 'pp' (aumento 200X)

De acordo as descrições apresentadas por Simões e Gioielli (1999) as Imagens 'nn', 'oo', 'pp' 'rr' e 'ss' representam cristais de esferulito Tipo A, sendo que os dois primeiros apresentam centros formados por aglomerados de

crystalis (esferulitos e cachos), diferentes das Imagens 'pp', 'rr' e 'ss' que também são esferulitos tipo A, mas sem aglomerados no centro. Os cristais da Imagem 'qq' podem ser enquadrados como esferulitos Tipo B.

Após a nona semana encerrou-se o acompanhamento da cristalização, uma vez que as características da micro-estrutura dos cristais permanecia praticamente inalterada.

Este acompanhamento teve apenas o objetivo de mostrar de forma qualitativa a estrutura cristalina formada pela gordura de cupuaçu. Portanto, o objetivo deste trabalho não era determinar dimensão fractal, número de cristais por cm^2 e diâmetro médio dos cristais, entre outros, que exigiriam um estudo mais minucioso.

De modo geral, constatou-se que os cristais esferulitos Tipo A estiveram presentes com maior frequência nas micrografias obtidas ao longo das nove semanas de acompanhamento. Segundo a descrição apresentada por Simões e Gioielli (1999), este tipo cristal pode representar uma cristalização da forma polimórfica beta (β), indicando a tendência de cristalização da gordura de cupuaçu nessa forma.

De acordo com diversos autores (Nesaretnan, 1992; Rossel, 1992; Gunnerdal, 1994; Lipp & Anklam, 1998) gorduras com grande quantidade de triglicerídios simétricos tendem a cristalizar-se em uma alta ordem estrutural, com propriedades de fusão e cristalização bem definidas, como é o caso da Forma β .

Conforme já mostrado na Tabela 4.4, a gordura de cupuaçu apresentou 61,91% de triglicerídeos simétricos (*SUS*; *SSS*; *UUU*), o que reforça, ainda mais, que a Forma β é a forma mais estável obtida durante a cristalização da gordura de cupuaçu em condições controladas (baixas taxas de cristalização). Foram também observados com frequência a presença de cristais esferulito Tipo B e cristais sobrepostos, com bordas em forma de "pétalas de flor".

A obtenção de diferentes formas para uma mesma condição de cristalização ocorre também com a manteiga de cacau, que se cristaliza nas Formas beta (β) e beta-prima (β') durante a etapa de temperagem ou pré-cristalização de chocolate. Assim com

observado para a gordura de cupuaçu, a forma predominante na cristalização da manteiga de cacau também é a Forma β (Luccas, 2001).

4.4 Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

O difratograma da Figura 4.9 mostra a transformação polimórfica da Forma gama (γ) observada durante tratamento térmico específico com $T_s = -20^\circ\text{C}$ e $t = 10\text{min}$. Os espectros foram obtidos com a mesma amostra, através de medidas simultâneas com intervalos de 1min entre uma e outra, dando assim a informação do processo por difração a baixo ângulo (Figura 4.9-a) e difração a alto ângulo (Figura 4.9-b)

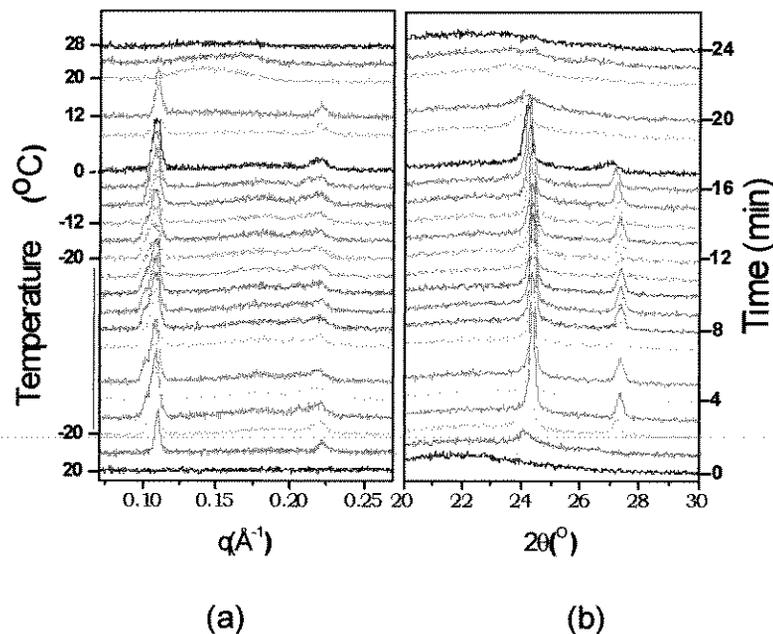


Figura 4.9 – Difratograma obtido das transformações polimórficas da Forma γ (ou Forma I) da gordura de cupuaçu

No difratograma pode-se observar a temperatura de cristalização e de fusão da gordura de cupuaçu. No momento em que os cristais se formam aparece um pico de difração, que se mantém enquanto houver a presença de cristais na gordura, e quando os cristais se fundem este pico desaparece. Estas linhas de difração podem ser identificadas na Figura 4.9-a pela linha vermelha, entre -20°C e 20°C (cristalização), e pela linha azul clara, ao redor de 16°C (fusão), pois o pico formado pela difração

causada pelos cristais desaparece. A “magnitude” dos picos representa a “intensidade” (unidades arbitrárias) com que a radiação é difractada.

A Figura 4.10 mostra as transições observadas durante o tratamento térmico com $T_s = 18^\circ\text{C}$ e $t = 200\text{min}$. As Figuras 4.10 (a e b) e 4.10 (c e d) correspondem, respectivamente, aos difractogramas obtidos por SR-XRD para as Formas α e β' , sendo α (a-SAXS, b-WAXS) e β' (c-SAXS, d-WAXS).

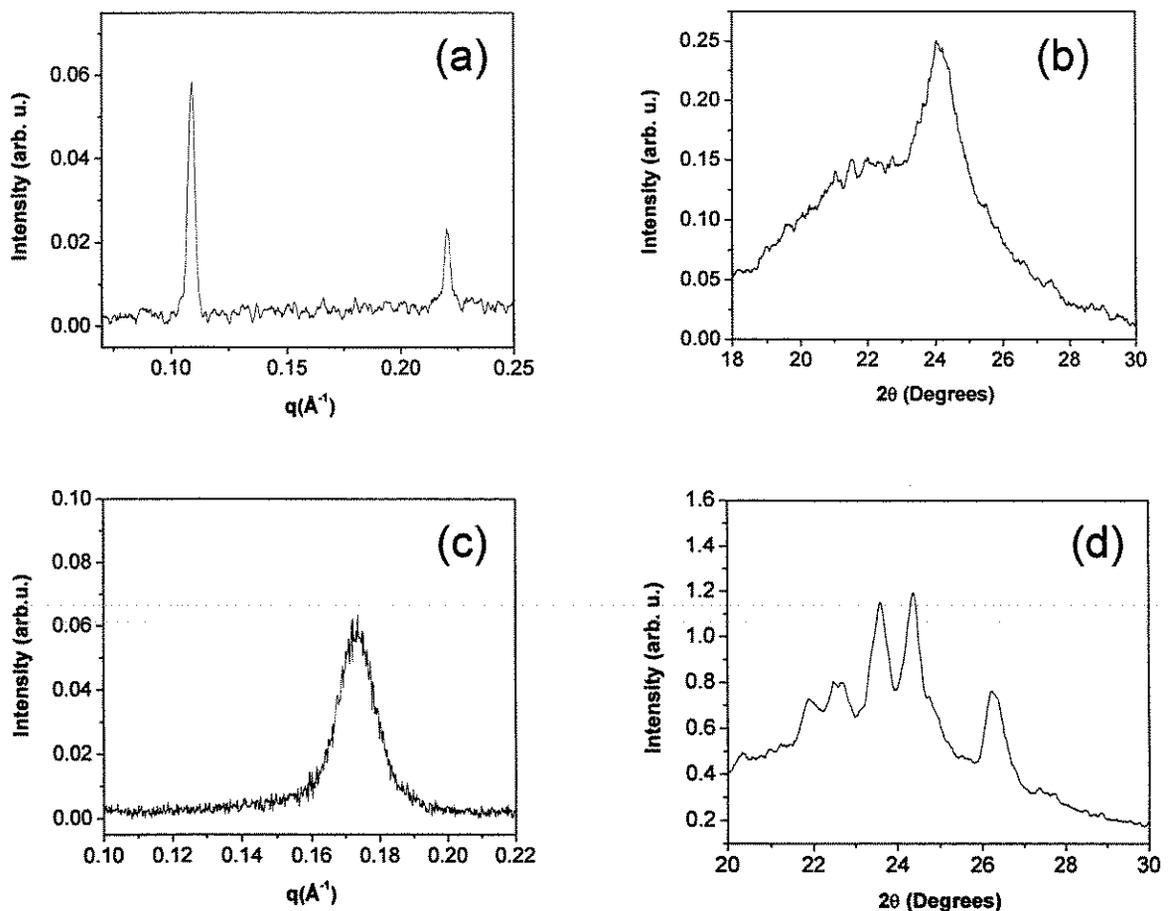


Figura 4.10 – Difractogramas das fases α (a-saxs, b-waxs) e β' (c-saxs, d-waxs) da gordura de cupuaçu

Nos difractogramas, os dados de intensidade *versus* ângulo de espalhamento para baixos ângulos (saxs) estão representados em função do módulo do vetor de espalhamento ‘ q ’ (Equação [2.1]) e os dados de intensidade *versus* ângulo de espalhamento para altos ângulos (waxs) estão representados em função de 2θ . Os

valores de 'q' e 2θ lidos nos difractogramas foram convertidos em valores de intervalo de espaçamento 'd' (Equação [2.2]), conforme apresentado na Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Intervalos de espaçamento das Formas γ , α e β' obtidas por SR-XRD para gordura de cupuaçu

Forma	'q' (\AA^{-1})	2θ ($^\circ$)	'd' saxs (\AA)	'd' waxes (\AA)
γ	0,11	24,5	57,09	4,08
α	0,11	24,4	56,74	4,10
β'	0,17	23,5* 24,3**	35,90	4,25* 4,12**

* valores de 2θ e 'd' referentes ao primeiro pico de maior magnitude apresentado no difractograma da Figura 4.10-d;

** valores de 2θ e 'd' referentes ao segundo pico de maior magnitude apresentado no difractograma da Figura 4.10-d.

Comparando-se as Tabelas 4.5 e 2.2, observa-se que a característica de existir mais de um pico para a Forma polimórfica β' já foi observada anteriormente por outros autores (Larsson (1996), citado por Chapman (1971); Chapman (1971)). Assim como observado na Tabela 2.2, os valores de espaçamento 'd' são crescentes partindo-se das formas de menor estabilidade para as de maior estabilidade termodinâmica.

A Figura 4.11 mostra o termograma obtido para a transição β' da gordura de cupuaçu.

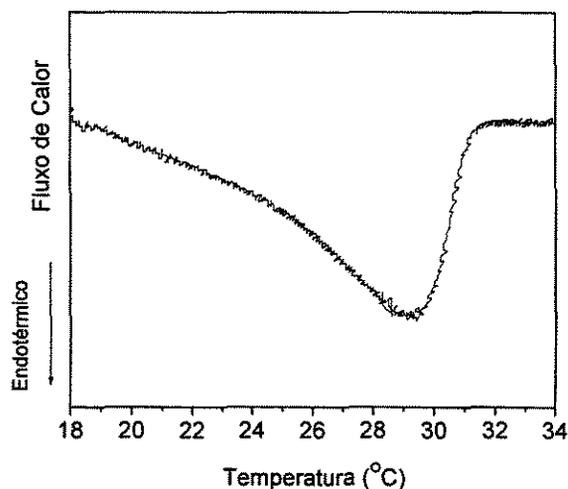


Figura 4.11 – Termograma de fusão da Forma β' durante aquecimento da amostra cristalizada de gordura de cupuaçu (taxa de $4^\circ\text{C}/\text{min}$)

Os resultados obtidos para a primeira transição da gordura de cupuaçu, Forma γ , com fusão ao redor de 17°C (Figura 4.9), estão próximos aos apresentados por outros autores para a manteiga de cacau, como pode ser visto na Tabela 2.1.

Conforme pode ser observado na Figura 4.11, o valor da temperatura de fusão (obtida no valor máximo do pico) durante o aquecimento da amostra cristalizada com taxa de 4°C/min, foi de aproximadamente 29°C, valor próximo ao obtido por Merkens & Vaeck (1980), que encontrou temperaturas entre 26°C e 28°C para a manteiga de cacau (Tabela 2.1).

A semelhança verificada nas características de fusão da gordura de cupuaçu e da manteiga de cacau também já havia sido relatada por Luccas (2001), que realizou o estudo utilizando apenas DSC. A similaridade na forma de cristalizar pode estar relacionada à composição triglicéridica semelhante das duas amostras, conforme apresentado anteriormente na Tabela 2.5.

Nas condições do tratamento utilizado para a gordura de cupuaçu (taxa de aquecimento de 4°C/min e tempo máximo de 200min), não foi possível a visualização da Forma β nos ensaios de SR-XRD e DSC. Além disso, as fases γ e α da gordura de cupuaçu, por serem fases bastante instáveis, também não tiveram suas fusões detectadas por DSC.

4.5 Fracionamento térmico a seco

Com base nas informações sobre a tendência de cristalização da gordura de cupuaçu, obtidas nas análises de Microscopia de Luz Polarizada e Difração de Raios X com Radiação Síncrotron, e resultados de trabalho anterior realizado por Luccas (2001), planejou-se o fracionamento térmico a seco, definindo a taxa de cristalização e os limites máximos e mínimos das variáveis: Temperatura de cristalização (T_c) e Velocidade de agitação (V_a) que permitissem a cristalização da gordura na Forma β (beta).

Na Figura 4.12 são apresentadas fotografias do reator em três momentos da etapa de cristalização. No início do processo de fracionamento a gordura está totalmente líquida e translúcida (Figura 4.12-a). Com o decorrer do tempo o número e o

tamanho dos cristais formados aumenta e a massa de gordura fica mais viscosa e esbranquiçada (Figura 4.12-b). O tamanho e quantidade dos cristais continuam aumentando até atingir o ponto final (Figura 4.12-c), determinado pela viscosidade aparente.

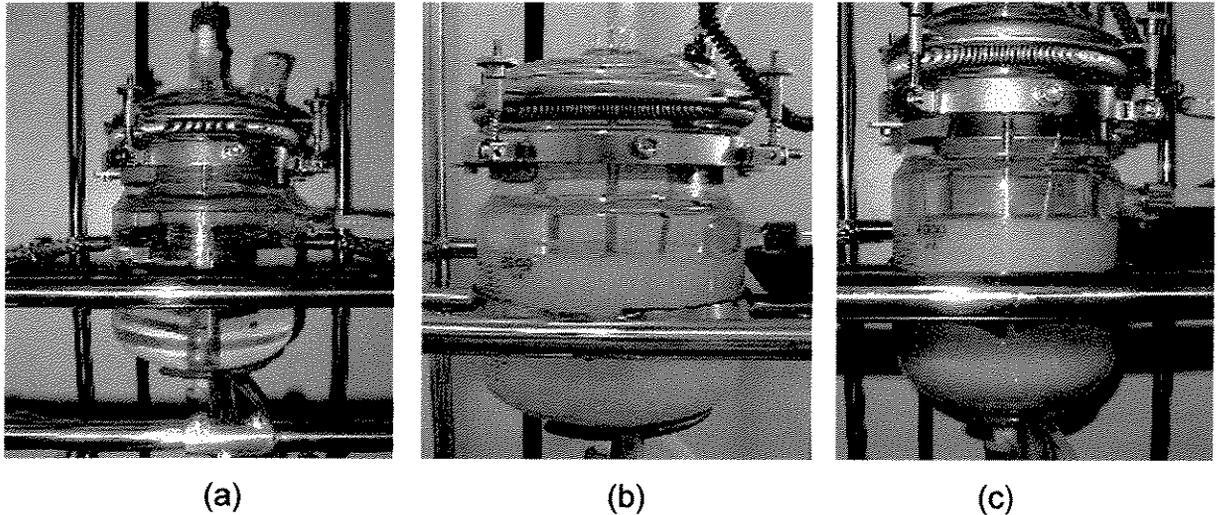


Figura 4.12 – Fotografias do reator durante o fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu: (a) Início; (b) Estágio intermediário; (c) Antes da filtração

A Figura 4.13 apresenta a variação da temperatura da gordura em dois ensaios preliminares realizados no ponto central do planejamento experimental (29°C e 25rpm).

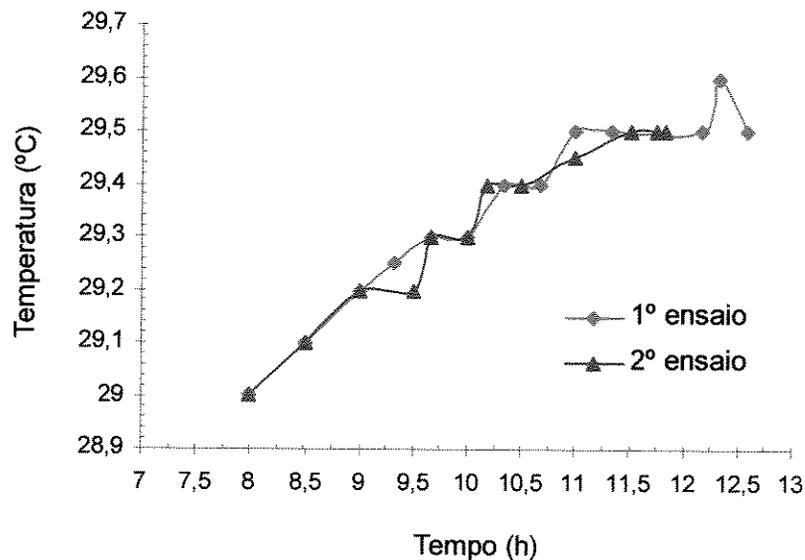


Figura 4.13 – Variação da temperatura da gordura durante a cristalização parcial em fase líquida

Observou-se que durante a cristalização (Figuras 4.12-a e 4.12-b) a temperatura da gordura sobe alguns décimos em relação à temperatura de equilíbrio por causa da liberação de calor de cristalização. Este aumento pode chegar até 0,6°C e a variação não é linear, ou seja, mesmo para fracionamentos nas mesmas condições há diferenças na variação da temperatura.

A Figura 4.14 mostra as frações estearina e oleína solidificadas obtidas nos ensaios.

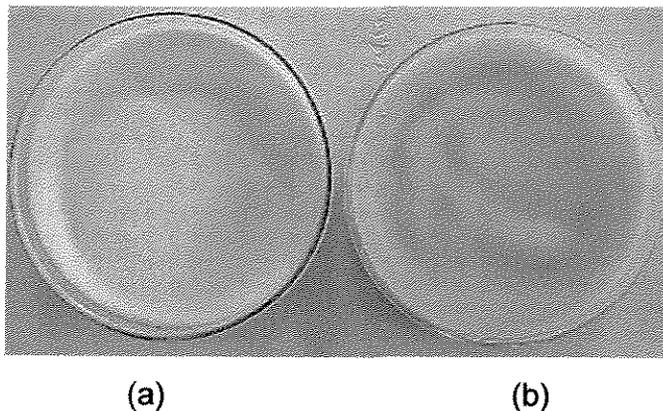


Figura 4.14 – Fotografias das frações da gordura de cupuaçu: (a) Estearina; (b) Oleína

A Figura 4.15 mostra fotografias da torta de estearina obtida na filtração.

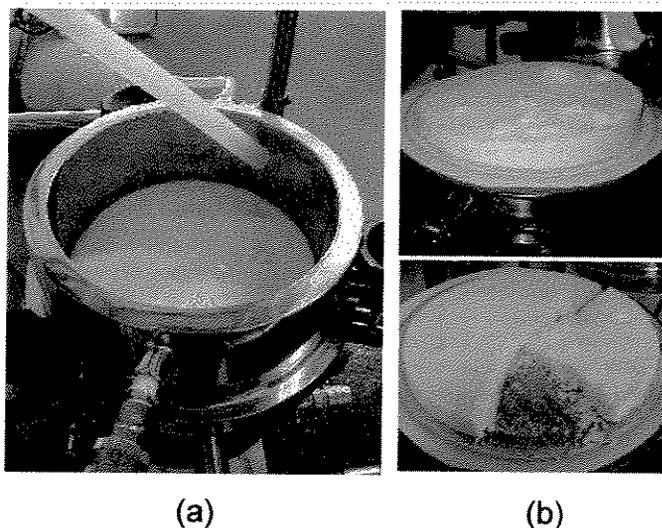


Figura 4.15 – Fotografias do sistema de filtração da gordura: (a) Estearina no filtro; (b) Torta de estearina obtida

Na Figura 4.15-a a torta de estearina ainda está contida no filtro a vácuo; na Figura 4.15-b a torta é mostrada inteira e com corte, para evidenciar a estrutura da torta seca. A torta de estearina seca, resultante de uma filtração efetiva, deve apresentar-se com uma estrutura quebradiça. Quando há oleína ocluída na torta de estearina, tem-se uma massa pastosa na qual a fase líquida (oleína) faz uma liga com a fase cristalina (estearina).

4.5.1 Resultados do fracionamento da gordura de cupuaçu

Após cada ensaio de fracionamento foram feitas determinações físicas e químicas para caracterizar as frações e avaliar a qualidade da estearina e a eficiência da separação. A Tabela 4.6 apresenta os resultados de rendimento em estearina (%est), tempo de fracionamento (tf), diferença entre os índices de iodo das frações estearina e oleína (ΔI_i), diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔP_f), teor de gordura sólida a 25°C da fração de estearina ($Se_{25^\circ C}$) e diferença entre o teor de sólidos a 25°C e 35°C da fração estearina ($\Delta Se_{25^\circ C-35^\circ C}$). Para fins de comparação, também são apresentados os teores de gordura sólida da gordura de cupuaçu.

O tempo de fracionamento e o rendimento em estearina são respostas diretas e estão associadas ao custo do processo. O rendimento é um resultado que mostra qual a condição que mais favorece a separação.

O Índice de Iodo e o ponto de fusão de cada fração e, principalmente, suas diferenças indicam o grau de separação obtido no fracionamento.

O ' $Se_{25^\circ C}$ ' reflete a dureza da gordura nesta temperatura e é uma característica muito importante em gorduras utilizadas na produção de chocolates e produtos análogos. A ' $\Delta Se_{25^\circ C-35^\circ C}$ ' representa o perfil de fusão da gordura, fator importante, responsável pela velocidade de fusão do chocolate na boca.

Tabela 4.6 – Resultados do fracionamento da gordura de cupuaçu

Ensaio	(Tc / Va)	% est	tf (h)	Δli (cgL/g)	ΔPf (°C)	Se25°C	$\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$
1	28°C/20rpm	22,18	9,167	6,34	3,03	58,63	48,84
2	30°C/20rpm	24,00	20,167	5,00	1,94	54,81	48,15
3	28°C/30rpm	20,06	10,500	4,31	2,17	58,27	48,64
4	30°C/30rpm	66,35	23,000	2,36	1,13	43,07	41,94
5	27,6°C/25rpm	19,80	11,500	4,11	1,58	54,58	48,36
6	30,4°C/25rpm	29,97	29,250	6,90	2,25	56,38	47,07
7	29°C/18rpm	22,66	20,000	5,80	2,82	57,85	47,89
8	29°C/32rpm	26,62	20,667	4,35	1,29	56,16	48,59
9	29°C/25rpm	25,92	14,583	5,20	1,82	52,88	48,13
10	29°C/25rpm	33,01	18,000	4,57	1,82	56,23	47,77
11	29°C/25rpm	25,00	13,833	4,45	2,42	55,88	48,13
Gordura de cupuaçu neutralizada						39,37	38,72

Tc - temperatura de cristalização da gordura; Va - velocidade de agitação no reator.

Observa-se que no Ensaio 4, condição dos níveis superiores das duas variáveis (30°C e 30rpm), o rendimento em estearina foi de 66,35%. Este valor é muito maior do que o esperado pela tendência do fracionamento. O que se constatou foi a presença de grande quantidade de oleína ocluída na torta de estearina obtida com a filtração. Esse fato também fica evidente pelos baixos valores de Δli (2,36cgL/g) e ΔPf (1,13°C), significando pouca separação das frações.

Constatou-se que nesta condição, os cristais formados eram muito pequenos e, durante a filtração, houve a formação de uma camada extremamente consistente de estearina sobre o papel filtro, não permitindo que grande parte da oleína passasse pelo filtro, resultando em uma torta pastosa e não em uma torta porosa e seca, como a obtida nas demais condições. Isso

também ficou evidente pelos baixos valores de 'Se25°C' e Δ Se25°C-35°C, classificando a estearina como macia e com pobres propriedades de fusão (fusão lenta). O experimento nestas condições (30°C e 30rpm) foi repetido por mais vezes com o intuito de eliminar quaisquer dúvidas sobre falha de operação. No entanto, os resultados foram semelhantes em todas as repetições.

A seguir são apresentados os tratamentos estatísticos dos dados da Tabela 4.6 para cada variável dependente. Ao final, apresenta-se a otimização desses resultados utilizando-se o método de sobreposição de gráficos.

4.5.1.1 Rendimento em estearina (% est)

Na prática industrial, o rendimento, assim como o tempo de fracionamento, está correlacionado à produtividade e ao custo do processo. A Tabela 4.7 mostra os resultados obtidos para os efeitos das variáveis estudadas sobre a resposta rendimento em estearina (%est). Também estão listados: o desvio padrão, o valor de p (probabilidade), chamado de nível de significância, e o coeficiente de regressão.

Para a Tabela 4.7 foram consideradas as variáveis que tiveram efeito significativo ao nível de 5% e, também, a variável Va(L), pois seu efeito (11,4591) foi considerado importante na resposta. Observa-se que Tc e Va, bem como a interação entre elas apresentou efeitos positivos na resposta '%est', ou seja, aumentando-se a temperatura ou a velocidade, o rendimento em estearina também aumenta. A interação entre as variáveis, Tc x Va(L), foi a que apresentou o maior efeito.

Tabela 4.7 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta de rendimento em estearina

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	28,6882	2,4790	8,11E-06	28,6882
Tc (L)	15,6249	5,8143	0,03121	7,8125
Va (L)	11,4591	5,8143	0,0894	5,7295
Tc x Va (L)	22,2350	8,2221	0,0304	11,1175

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior que 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação.

(L) – termo linear.

De acordo com os coeficientes de regressão apresentados na Tabela 4.7, o modelo com os parâmetros significativos é o representado pela Equação [4.1].

$$\% \text{ est} = 28,6882 + 7,8125 \cdot Tc + 5,7295 \cdot Va + 11,1175 \cdot Tc \cdot Va \quad [4.1]$$

Nesta análise obteve-se um $R^2 = 0,73$, considerado baixo. Observa-se que o desvio padrão entre as respostas experimentais e as preditas pelo modelo (Tabela 4.8) é maior nos níveis onde a separação é realizada com maior dificuldade (oleína ocluída), onde os parâmetros de Tc e Va são, +1/+1, + α /0 e 0/+ α . As condições citadas estão identificadas com asterisco (*).

Conforme já comentado anteriormente no Item 4.5.1, o rendimento é influenciado pela eficiência da filtração (separação das frações), e o tamanho dos cristais formados interfere diretamente nesta operação. A velocidade de agitação deve ser tal que não prejudique a formação e crescimento dos cristais, ou seja, se for muito lenta haverá a formação de poucos cristais grandes e se for muito rápida serão formados muitos cristais pequenos, os quais terão dificuldade de crescimento ou aglomeração, devido ao cisalhamento entre eles. Portanto, a velocidade deverá ser mantida de modo

que consiga permitir a formação, o crescimento e a homogeneização dos cristais na fase líquida.

Tabela 4.8 – Desvio padrão entre as respostas experimentais e calculadas pelo modelo para '% est'

Condições (Tc/Va)	Tc / Va	% est. Experimental	% est. Calculada	Desvio padrão
28°C/20rpm	-1/-1	22,18	26,26	2,89
30°C/20rpm	1/-1	24,00	19,65	3,07
28°C/30rpm	-1/1	20,06	15,49	3,23
30°C/30rpm *	1/1	66,35	53,35	9,19 *
27,6°C/25rpm	- α /0	19,80	17,67	1,50
30,4°C/25rpm *	α /0	29,97	39,70	6,88 *
29°C/18rpm	0/- α	22,66	20,61	1,45
29°C/32rpm *	0/ α	26,62	36,77	7,17 *
29°C/25rpm	0/0	25,92	28,69	1,96
29°C/25rpm	0/0	33,01	28,69	3,06
29°C/25rpm	0/0	25,00	28,69	2,61

Com o objetivo de verificar a validade estatística do modelo proposto, realizou-se a análise de variância (ANOVA). A Tabela 4.9 mostra os resultados obtidos.

Tabela 4.9 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta '%est', através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F calc	F tab
Regressão	1283,6070	3	427,8689	6,3290	4,35
Resíduos	473,2146	7	67,6021		
Falta de Ajuste	434,7898	5	86,9579	4,5260	19,30
Erro puro	38,4249	2	19,2124		
TOTAL	1718,3960	10	171,8396		

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática;

Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

O modelo para a resposta ‘Rendimento em Estearina’ pode ser considerado preditivo, pois apresentou regressão significativa ($F_{calc} > F_{tab}$) e falta de ajuste não significativa ($F_{calc} < F_{tab}$).

De acordo com o modelo ajustado, foram obtidas a superfície de resposta e as curvas de contorno para ‘%est’, conforme pode ser observado na Figura 4.16

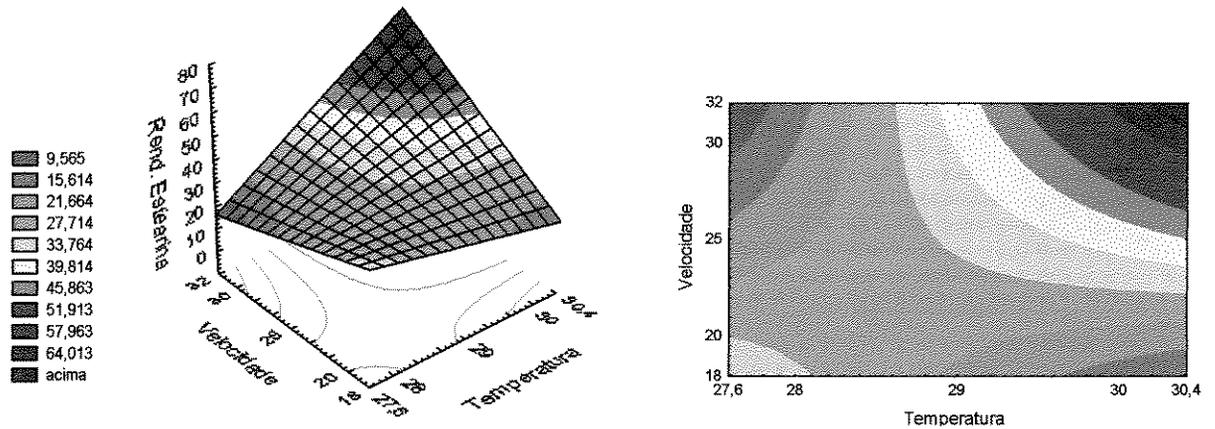


Figura 4.16 – Superfície de resposta e curvas de contorno para ‘%est’

O pico observado na superfície da Figura 4.16 é devido à grande quantidade de oleína ocluída na torta de estearina (condição de 30°C/30rpm), conforme observações já feitas anteriormente no Item 4.5.1. A retenção de oleína na torta de estearina já havia sido citada por Hamm (1995), que apontou duas justificativas para este problema: retenção de líquido entre as partículas sólidas e agregação de partículas cristalinas.

Através da Figura 4.16 verifica-se que os maiores valores de rendimento em estearina foram obtidos nas maiores condições de temperatura de cristalização e velocidade de agitação.

4.5.1.2 Tempo de fracionamento (tf)

Como já foi comentado anteriormente, o tempo de fracionamento, está correlacionado à produtividade e ao custo do processo, sendo, por isso,

considerado uma resposta importante no fracionamento. A Tabela 4.10 apresenta os efeitos das variáveis estudadas sobre a resposta 'tf'.

Tabela 4.10 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta 'tf'

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	15,4720	1,9088	0,0005	15,4720
Tc (L)	12,1506	2,3379	0,0035	6,0753
Tc (Q)	2,5801	2,7825	0,3963	1,2901
Va (L)	1,2773	2,3378	0,6083	0,6387
Va (Q)	2,5386	2,7825	0,4034	1,2693
Tc x Va (L)	0,7500	3,3061	0,8295	0,3750

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior que 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação;

(L) – termo linear; (Q) – termo quadrático.

Constata-se que apenas a variável Tc(L) apresentou efeito significativo com $p \leq 0,05$. No entanto, optou-se por considerar também as demais variáveis, apesar dos valores de p estarem elevados. Esta escolha deve-se ao fato de que, mesmo considerando todas as variáveis, o modelo demonstrou ser estatisticamente válido, com $R^2 = 0,85$, conforme apresentado na Equação [4.2].

$$\begin{aligned}
 \text{tf} = & 15,472 + 6,075 \cdot \text{Tc} + 1,290 \cdot \text{Tc}^2 + \\
 & + 0,639 \cdot \text{Va} + 1,269 \cdot \text{Va}^2 + 0,375 \cdot \text{Tc} \cdot \text{Va}
 \end{aligned}
 \tag{4.2}$$

Todas as variáveis tiveram efeito positivo na resposta de tempo de fracionamento, isto é, com o aumento delas o tempo de fracionamento também aumenta. Com o objetivo de verificar a validade estatística do modelo

proposto, realizou-se a análise de variância (ANOVA) e os resultados são apresentados na Tabela 4.11.

Tabela 4.11 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta 'tf', através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F calc	F tab
Regressão	313,3919	5	62,6784	5,7343	5,05
Resíduos	54,6526	5	10,9305		
Falta de Ajuste	44,7851	3	14,9284	3,0258	19,16
Erro puro	9,8674	2	4,9337		
TOTAL	368,044	10	36,8044		

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática; Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

O modelo para a resposta tempo de fracionamento foi considerado preditivo, pois apresentou regressão significativa e falta de ajuste não significativo.

De acordo com o modelo ajustado foram obtidas a superfície de resposta e as curvas de contorno para a resposta 'tf', Figura 4.17.

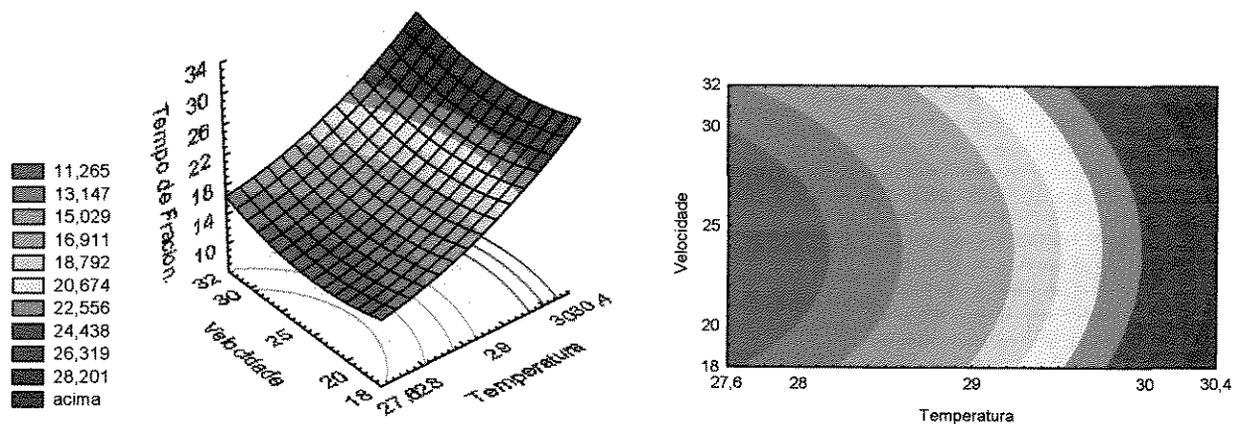


Figura 4.17 – Superfície de resposta e curvas de contorno para 'tf'

Observa-se que os menores valores para tempo de fracionamento foram obtidos nas temperaturas de 27,6° e 28°C e velocidade de agitação variando entre 18 e 30rpm.

4.5.1.3 Diferença entre os índices de iodo das frações estearina e oleína (ΔI_i)

A determinação do grau de insaturação é importante para a classificação de óleos e gorduras e para o controle de alguns processos. O método geralmente utilizado para essa determinação é o índice de iodo, que se baseia no fato do iodo se adicionar à dupla ligação da cadeia insaturada dos ácidos graxos. Conclusivamente, tem-se que os óleos mais insaturados, com maior índice de iodo, são líquidos, e os menos insaturados são sólidos, conhecidos como gorduras. O mesmo vale para a fração oleína (líquida) e a fração estearina (sólida).

A diferença entre os índices de iodo das frações oleína e estearina (ΔI_i) representa a extensão da separação dos triglicerídeos com maior ou menor presença de ácidos graxos insaturados. Assim sendo, quanto maior o valor de ΔI_i mais eficiente foi a separação. A Tabela 4.12 mostra os efeitos dos fatores 'temperatura de cristalização' e 'velocidade de agitação' sobre a resposta ΔI_i . Também são apresentados o desvio padrão, o valor de p (probabilidade) e o valor dos coeficientes de regressão.

Tabela 4.12 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta ' ΔI_i '

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	4,6043	0,1416	6,4E-05	4,6043
Tc (L)	-1,6450	0,3747	0,0219	-0,8225
Va (L)	-2,3350	0,3747	0,0083	-1,1675
Tc x Va (L)	-0,3050	0,3747	0,4753	-0,1525

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior que 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação.

(L) – termo linear.

Observa-se que, com exceção da média, os efeitos dos fatores sobre a resposta são negativos. Ou seja, com um aumento de Tc ou Va, a Δli diminui. Dentro da faixa estudada o efeito é maior para Va do que para Tc. A interação Tc x Va apresentou $p > 0,05$. Teoricamente, este parâmetro deveria ser desconsiderado da análise, mas verificou-se que fazendo isso o R^2 da equação diminuiria. Sendo assim, optou-se por continuar a análise considerando o fator de interação Tc x Va.

O modelo que apresentou os melhores resultados foi uma equação de 1ª ordem (linear), desconsiderando-se os pontos axiais, conforme apresentado na Equação [4.3], com $R^2 = 0,95$.

$$\Delta li = 4,6043 - 0,8225 \cdot Tc - 1,1675 \cdot Va - 0,1525 \cdot Tc \cdot Va \quad [4.3]$$

Com o objetivo de verificar a validade estatística do modelo linear, realizou-se a análise de variância (ANOVA), cujos resultados são mostrados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta ' Δli ', através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F_{Calc}	F_{Tab}
Regressão	8,2513	3	2,7504	19,5854	9,28
Resíduos	0,4213	3	0,1404		
Falta de Ajuste	0,0967	1	0,0967	0,5958	18,51
Erro puro	0,3246	2	0,1623		
TOTAL	8,6726	6	1,4454		

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática;

Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

De acordo com os resultados da Tabela 4.13, verifica-se que o modelo para a resposta Δli pode ser considerado preditivo, pois apresentou regressão significativa ($F_{calc} > F_{tab}$) e falta de ajuste não significativa ($F_{calc} < F_{tab}$).

Utilizando-se o modelo ajustado, foram obtidas a superfície de resposta e as curvas de contorno para 'Δli', mostradas na Figura 4.18. Observa-se que os maiores valores de 'Δli' ocorre na região de menor temperatura de cristalização e de menor velocidade de agitação. Observa-se também que Va tem maior influência sobre Δli do que Tc, conforme já havia sido verificado na Tabela 4.12.

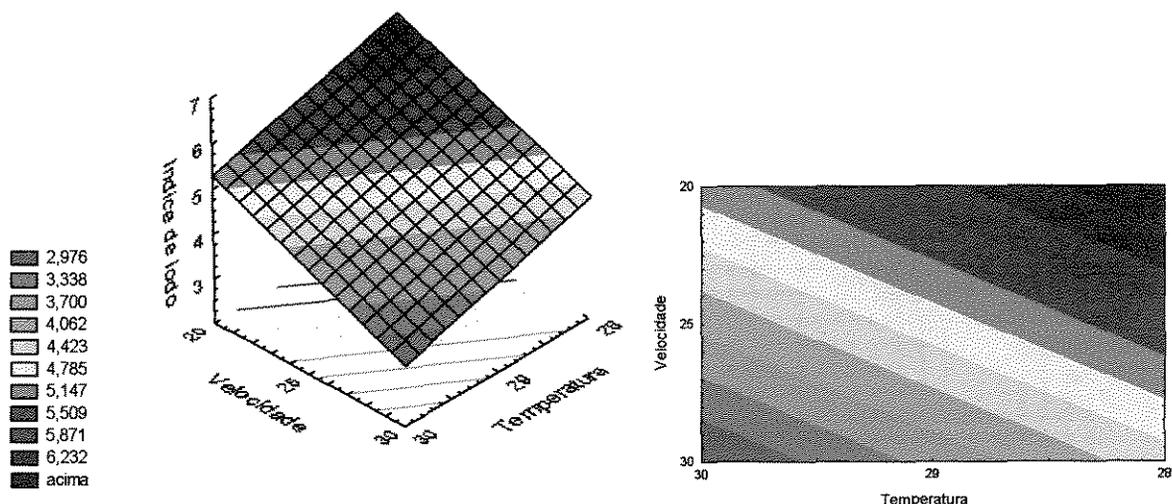


Figura 4.18 – Superfície de resposta e curvas de contorno para a resposta Δli

Luccas (2001), que estudou o fracionamento térmico a seco da gordura de cupuaçu nas temperaturas de 26°, 28° e 30°C e velocidades de agitação de 10 e 20rpm, encontrou que Tc tem efeito maior sobre 'Δli' do que Va, e que os maiores valores de 'Δli' encontravam-se na condição de 30°C e 20rpm. Esta condição também foi estudada neste projeto e, igualmente, se enquadra na região de maior 'Δli' (Figura 4.18). A inversão nas significâncias dos efeitos Tc e Va nos dois estudos possivelmente deve-se à inclusão da temperatura de 26°C na pesquisa de Luccas (2001), que pode ter viabilizado a cristalização de certos triglicerídeos, de menor ponto de fusão, não obtidos neste estudo, obtendo uma estearina com diferentes propriedades de filtração.

4.5.1.4 Diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔPf)

O ponto de fusão dos triacilgliceróis (TAGs) é função da composição em ácidos graxos, da distribuição destes nos TAGs e da forma de cristalização.

TAGs simétricos têm ponto de fusão maiores que os assimétricos (Turrati *et al.*, 2002). A gordura de cupuaçu possui menor quantidade de TAGs simétricos e quase o dobro de assimétricos quando comparada à manteiga de cacau (Luccas, 2001). A proporção entre os teores de ácidos graxos saturados e insaturados é de fundamental importância na viscosidade (consistência) do produto, um maior percentual de ácidos graxos saturados, em relação aos insaturados, contribui positivamente para a elevação da viscosidade da gordura e, conseqüentemente, do produto final.

Ao comparar as características da gordura de cupuaçu com a manteiga de cacau, alguns autores verificaram que, apesar de possuir ponto de fusão igual ou superior à da manteiga de cacau, a gordura de cupuaçu é bem mais macia que esta, fato que a torna inadequada para o fabrico de chocolates em barra sem antes sofrer adequação. A maciez da gordura de cupuaçu, além de estar relacionada com o tipo e disposição dos ácidos graxos que constituem os triglicerídios, parece estar relacionada também com a presença de outras substâncias, provavelmente álcoois e ésteres (Luccas, 2001; Berbet (1981), citado por Mello & Chitarra, 1999).

O ponto de fusão da gordura de cupuaçu neutralizada utilizada neste projeto foi de 33,7°C, semelhante ao determinado por Luccas (2001) que encontrou 33,6°C e também próximo ao publicado por diversos autores ao longo dos anos, tais como: Ribeiro (1992) – (32,3°C); Vasconcelos (1975), citado por Venturieri (1993) – (32 a 34°C); Coutinho (1969), citado por Luccas (2001) – (33,0°C); Gilabert-Escrivá *et al.* (2002) – (32,0°C).

Em relação à diferença entre os pontos de fusão das frações estearina e oleína (ΔP_f), a análise estatística apresentou diferença significativa, com $p \leq 0,05$, apenas para a variável $Va(L)$. Na Tabela 4.14 são apresentados os efeitos das variáveis, o grau de significância e o coeficiente de regressão da variável estatisticamente significativa e também da temperatura de cristalização, $T_c(L)$.

Tabela 4.14 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta 'ΔPf'

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	2,0245	0,1300	2,89E-07	2,0245
Tc (L)	-0,2957	0,3050	0,3607	-0,1478
Va (L)	-0,9585	0,3050	0,0137	-0,4792

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior que 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação;

(L) – termo linear.

A partir dos coeficientes de regressão apresentados na Tabela 4.14, obteve-se a Equação [4.4], apresentada a seguir.

$$\Delta Pf = 2,0245 - 0,1478 \cdot Tc - 0,47925 \cdot Va \quad [4.4]$$

Para validar estatisticamente o modelo proposto foi realizada a análise de variância (ANOVA). Os resultados são mostrados na Tabela 4.15.

Tabela 4.15 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta 'ΔPf', através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F calc	F tab
Regressão	2,0120	2	1,0060	5,4077	4,35
Resíduos	1,4883	8	0,1860		
Falta de Ajuste	1,2483	6	0,2080	1,7337	19,3
Erro puro	0,2400	2	0,1200		
TOTAL	3,5003	10	0,3500		

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática;

Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

Como F calculado da regressão e dos resíduos é maior que o seu F tabelado e como F calculado da falta de ajuste e do erro puro é menor que seu F tabelado, pode se dizer que o modelo proposto é preditivo, com valor de $R^2 = 0,57482$. A Figura 4.19 mostra a superfície de resposta e curvas de contorno para 'ΔPf'.

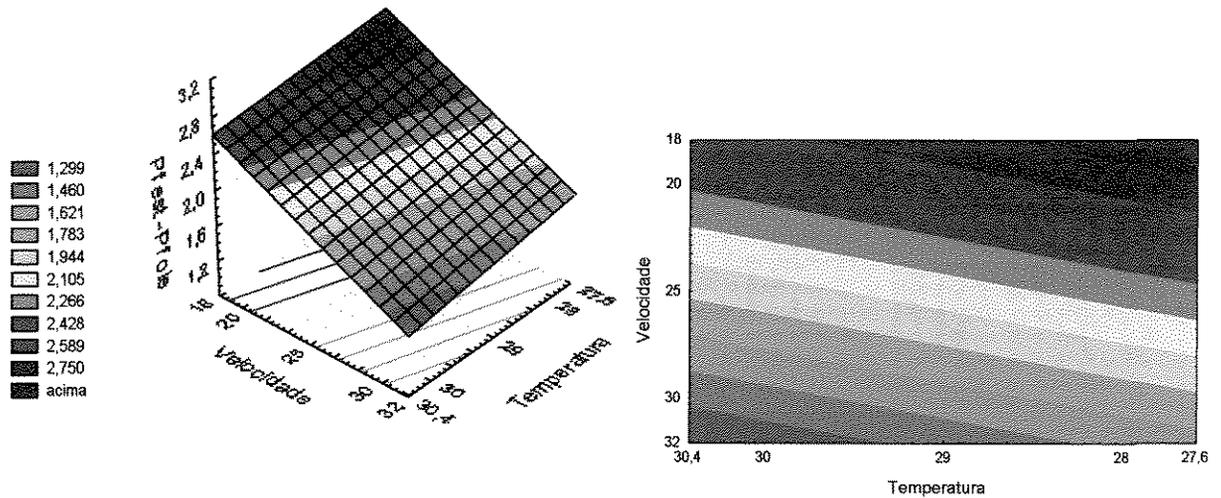


Figura 4.19 – Superfície de resposta e curvas de contorno para 'ΔPf'

Pela Figura 4.19 constata-se que a velocidade de agitação teve maior influência nos valores de 'ΔPf' do que a temperatura de cristalização e que os maiores valores de 'ΔPf' foram obtidos com a velocidade de 18 a 20rpm e a temperatura entre 29,5° e 27,6°C.

4.5.1.5 Teor de sólidos da estearina de cupuaçu a 25°C (Se25°C)

Conhecer o comportamento de fusão da gordura em função da temperatura nos dá uma idéia da sua funcionalidade e facilita muito sua correta aplicação.

As curvas de sólidos da gordura de cupuaçu neutralizada e das onze frações de estearina obtidas no fracionamento térmico a seco foram plotadas na Figura 4.20.

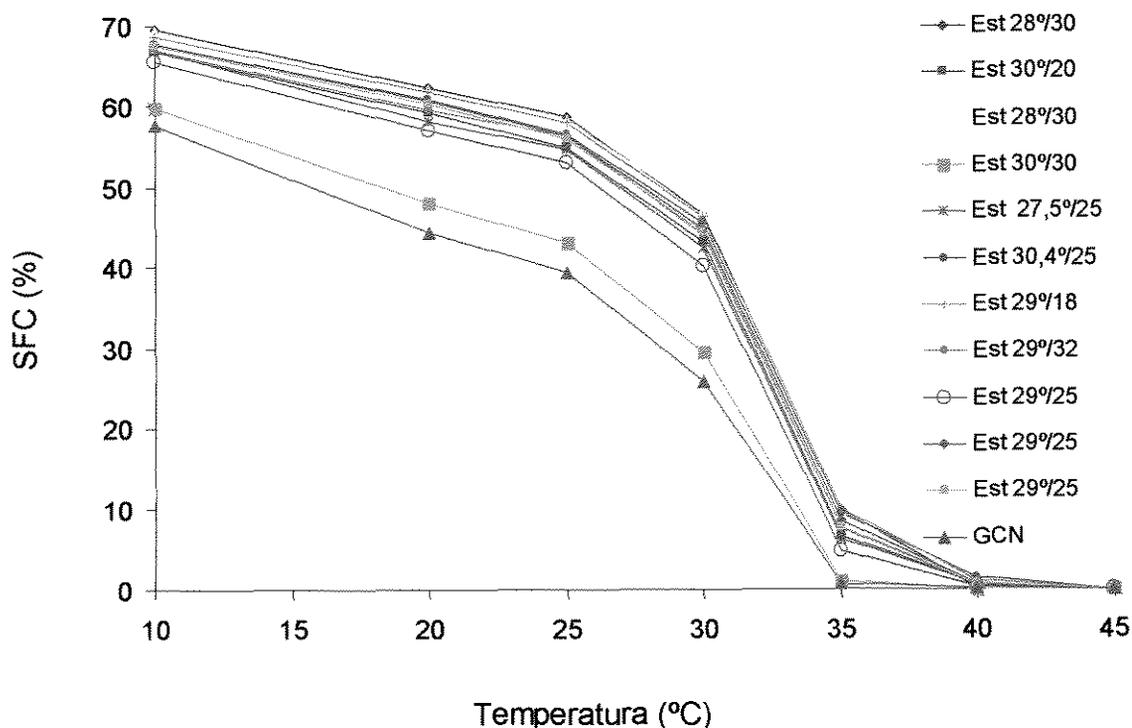


Figura 4.20 – Curvas de Sólidos (SFC) da gordura de cupuaçu neutralizada e suas frações de estearina

Observa-se claramente que, exceto para a estearina do Ensaio 4, referente ao fracionamento na condição 30°C/30rpm, cuja curva foi muito próxima à da gordura de cupuaçu, não houve muita diferença entre as curvas de sólidos das diferentes frações estearina. Este resultado já era esperado, pois nesta condição houve pouca separação durante a filtração e considerável quantidade de oleína ficou ocluída na torta de estearina, reduzindo seu teor de sólidos.

Uma das características importantes para que uma gordura possa ser utilizada na fabricação de chocolates é que ela seja dura e quebradiça na temperatura de 25°C. Verifica-se, através da Figura 4.20, que o fracionamento promoveu o endurecimento da gordura de cupuaçu, corrigindo a maciez inicialmente apresentada. Por outro lado, elevou o teor de sólidos em toda a extensão da curva, podendo resultar em um “residual ceroso” durante a degustação, caso estas estearinas sejam utilizadas, sem misturas, na fabricação de chocolates.

A Tabela 4.16 apresenta os efeitos e as interações entre as respostas obtidas.

Tabela 4.16 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta 'Se25°C'

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	54,2529	0,6791	4,32E-06	54,2529
Tc	-9,5100	1,7969	0,01312	-4,7550
Va	-6,0500	1,7969	0,0435	-3,0250
Tc x Va	-5,6900	1,7969	0,0506	-2,8450

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior de 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação;

O modelo que apresentou os melhores resultados foi uma equação de 1ª ordem (linear), desconsiderando-se os pontos axiais, conforme apresentado na Equação [4.5].

$$\text{Se}_{25^{\circ}\text{C}} = 54,2529 - 4,7550 \cdot \text{Tc} - 3,0250 \cdot \text{Va} - 2,845 \cdot \text{Tc} \cdot \text{Va} \quad [4.5]$$

Para a validação do modelo proposto, foi feita a análise de variância (ANOVA), cujos resultados são apresentados na Tabela 4.17.

Tabela 4.17 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta ‘Se25°C’, através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F calc	F tab
Regressão	159,4187	3	53,1396	16,4583	9,28
Resíduos	9,6862	3	3,2287		
Falta de Ajuste	2,9046	1	2,9046	0,8566	18,51
Erro puro	6,7817	2	3,3908		
TOTAL	169,1049	6	28,1842		

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática;

Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

O modelo proposto pode ser considerado preditivo, uma vez que a regressão é significativa ($F_{calc} > F_{tab}$) e a falta de ajuste apresentou-se como não significativa ($F_{calc} < F_{tab}$).

A superfície de resposta e as curvas de contorno para a resposta ‘Se25°C’ são apresentadas na Figura 4.21.

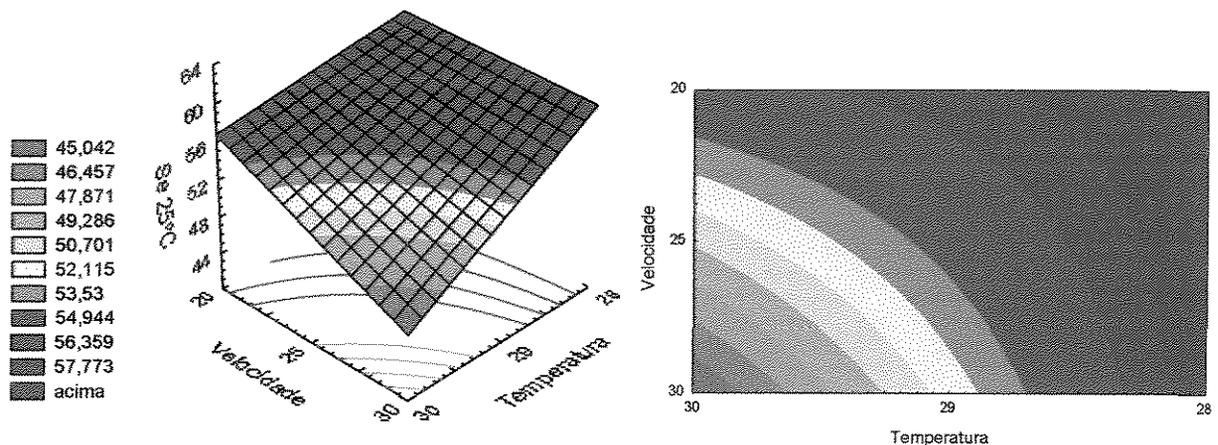


Figura 4.21 – Superfície de resposta e curvas de contorno para a resposta ‘Se25°C’

Pela Figura 4.21 observa-se que na condição das menores temperaturas de cristalização e menores velocidades de agitação, ou seja, na faixa de temperatura que varia de 28° a 28,3°C e qualquer valor de velocidade

obteve-se frações de estearina com maior teor de sólidos a 25°C (Se25°C). Por outro lado, o pico descendente, observado claramente na superfície de resposta, deve-se a interferência que a oleína ocluída na fração de estearina teve sobre o resultado de 'Se25°C'.

4.5.1.6 Diferença entre os teores de sólidos da estearina de cupuaçu a 25°C e 35°C (Δ Se25°C-35°C)

O ' Δ Se25°C-35°C' representa o perfil de fusão da gordura durante a degustação de um produto. Quanto maior essa diferença mais rápida será a fusão do produto na boca.

A Tabela 4.18 apresenta os efeitos e as interações entre as respostas obtidas.

Tabela 4.18 – Efeitos, desvio padrão, grau de significância e coeficiente de regressão dos fatores Tc e Va na resposta Δ Se25°C-35°C

Variáveis	Efeito	Desvio Padrão	p (95% de confiança)	Coeficiente de regressão
Média	48,0102	0,9365	5,34E-08	48,0102
Tc(L)	-2,3039	1,1471	0,1008	-1,1519
Tc (Q)	-0,8380	1,3654	0,5663	-0,4190
Va(L)	-1,3552	1,1471	0,2905	-0,6776
Va (Q)	-0,3128	1,3654	0,8279	-0,1564
Tc x Va (L)	-3,0050	1,6221	0,1231	-1,5025

Os valores dos efeitos em negrito são significativos ao nível maior de 95%;

Tc – temperatura de cristalização; Va – velocidade de agitação;

(L) – termo linear; (Q) – termo quadrático.

Pelos valores de cada efeito apresentados na Tabela 4.18, constata-se que todos os fatores interferem negativamente na resposta de Δ Se25°C-35°C, ou

seja, aumentando-se Tc ou Va, a diferença entre os teores de sólidos a 25°C e 35°C diminui e vice-versa.

O modelo proposto pelos coeficientes de regressão apresentados na Tabela 4.18 é representado pela Equação [4.6].

$$\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C} = 48,0102 - 1,1519 \cdot Tc - 0,4190 \cdot Tc^2 - 0,6776 \cdot Va - 0,1564 \cdot Va^2 - 1,5025 \cdot Tc \cdot Va \quad [4.6]$$

Constata-se, pelos valores apresentados na Tabela 4.18, que nenhuma das variáveis apresentou efeito significativo ao nível de 95% de confiança ($p \leq 0,05$) para a resposta $\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$.

Para a validação do modelo proposto, foi feita a análise de variância (ANOVA), cujos resultados são apresentados na Tabela 4.19.

Tabela 4.19 – Resultados da Análise de Variância do modelo ajustado para a resposta $\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$, através da análise de erro puro

Fonte de variação	SQ	GL	MQ	F calc	F tab
Regressão	24,3146	5	4,8629	1,8483	5,05
Resíduos	13,1554	5	2,6311		
Falta de Ajuste	13,0690	3	4,3563	100,8403	19,16
Erro puro	0,0864	2	0,0432		
TOTAL	37,4700	10			

SQ – soma quadrática; GL – graus de liberdade; MQ – média quadrática;

Fcalc – F calculado; Ftab – F tabelado (neste caso, para $p \leq 0,05$).

O modelo proposto não pode ser considerado preditivo, uma vez que a regressão não é significativa ($F_{Calc} < F_{Tab}$) e a falta de ajuste apresentou-se como significativa ($F_{Calc} > F_{Tab}$). Um modelo não preditivo não pode fornecer superfície de resposta e curvas de níveis confiáveis para estimar um resultado.

Desta forma, os valores da resposta ' $\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$ ' foram plotados na forma de gráfico de colunas, como mostra a Figura 4.22. A coluna relacionada ao Ensaio 12 refere-se à gordura de cupuaçu neutralizada.

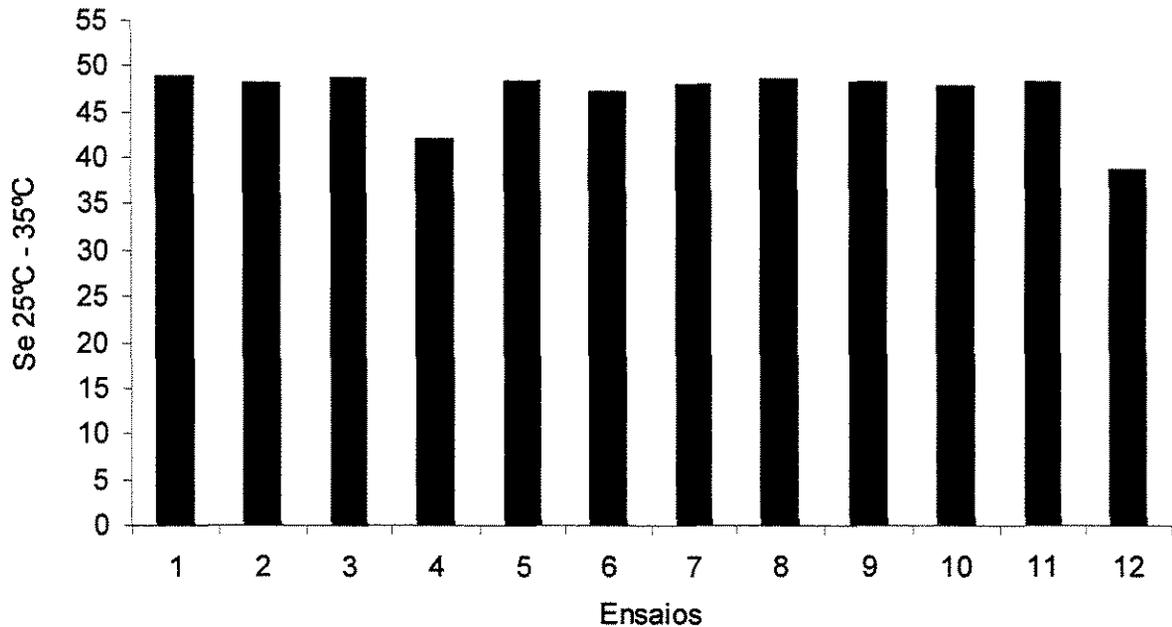


Figura 4.22 – Resultados de $\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$

Verifica-se que a estearina do Ensaio 4 praticamente não apresentou diferença nos valores de ' $\Delta Se_{25^{\circ}C-35^{\circ}C}$ ' com relação à gordura não fracionada 'Ensaio 12' da Figura 4.22, fato devido à grande quantidade de oleína ocluída entre a estearina.

4.5.2 Otimização dos resultados

4.5.2.1 Interação entre 'tf' e '%est'

A Figura 4.23 mostra a interação entre as respostas '%est' e 'tf' obtida com a sobreposição dos gráficos de curvas de contorno (Figuras 4.16 e 4.17). Do ponto de vista econômico, tem-se que a melhor condição para 'tf' é o menor tempo de processo e que para '%est' quanto maior seu valor melhor. Desta forma, considerou-se como melhor condição o ponto intermediário entre as duas respostas. Portanto, as condições

ótimas para 'tf' e '% est' estão na faixa de temperatura de 29,2° a 29,5°C e velocidades 25 e 32rpm.

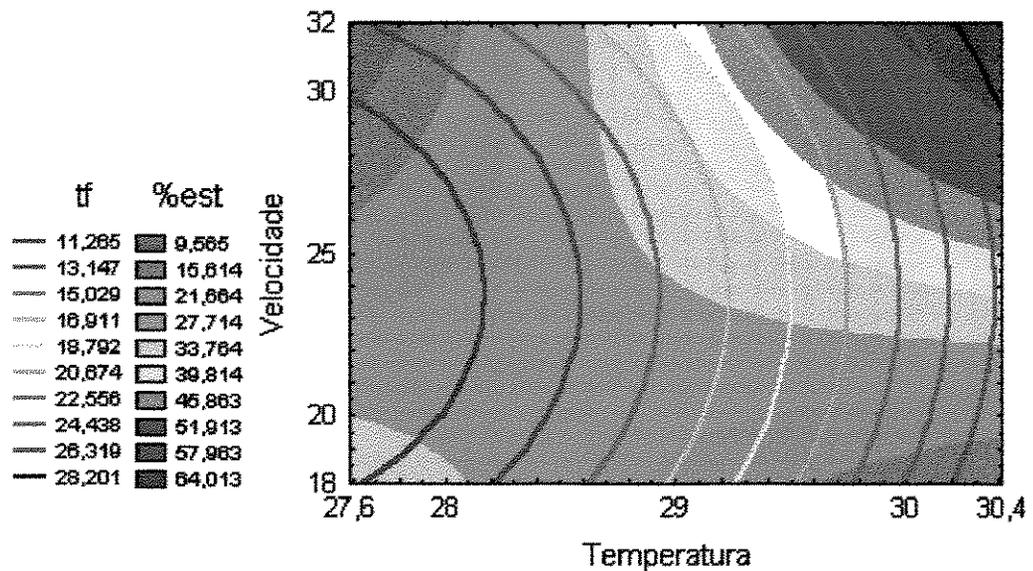


Figura 4.23 – Sobreposição das curvas de contorno de '%est' e 'tf'

4.5.2.2 Interação entre ' ΔI_i ' e ' ΔP_f '

A Figura 4.24 mostra a interação entre as respostas ' ΔI_i ' e ' ΔP_f ' obtida com a sobreposição dos gráficos de curvas de contorno (Figuras 4.18 e 4.19). As escalas do gráfico da Figura 4.19 (ΔP_f) foram ajustadas para igualar com as escalas da Figura 4.18 (ΔI_i). As referidas respostas estão relacionadas com o índice de separação das frações uma vez que os valores citados são as diferenças entre os índices de iodo e pontos de fusão das frações oleína e estearina. Desta forma, quanto maior esta diferença, mais efetiva foi a separação. Com a sobreposição dos gráficos observa-se que a melhor condição de separação encontra-se na faixa de temperatura de 28° a 28,4°C e velocidade de 20 a 21,2rpm.

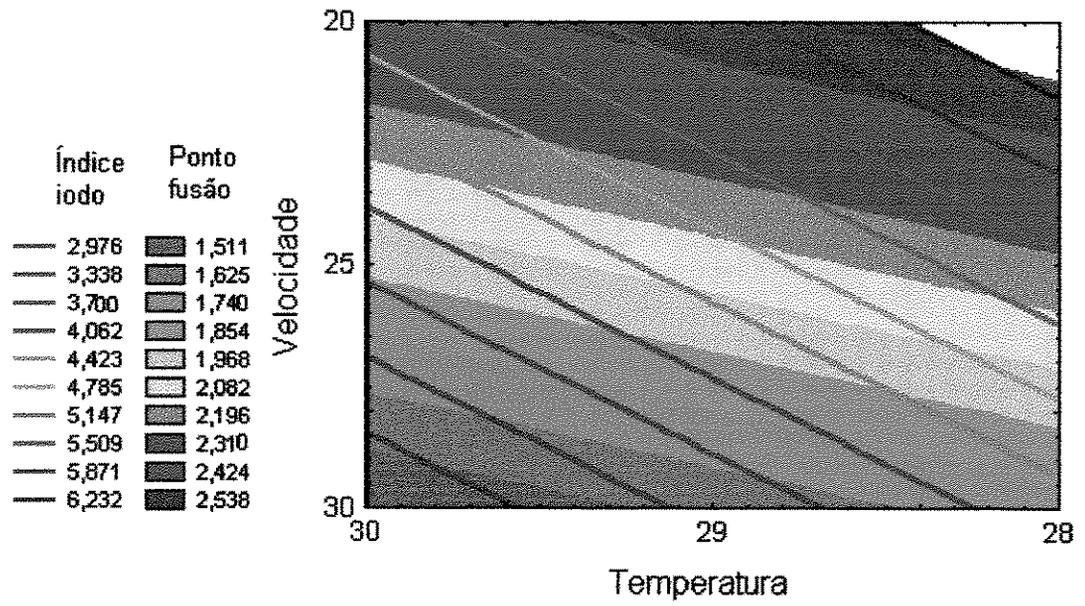


Figura 4.24 – Sobreposição das curvas de contorno de ' Δli ' e ' ΔPf '

5 CONCLUSÕES

O estudo da gordura de cupuaçu utilizando a técnica de Microscopia de Luz Polarizada (MLP) mostrou uma tendência de cristalização na Forma β .

A análise realizada simultaneamente com Difração de Raios X com Radiação Síncrotron (SR-XRD) e Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC) detectou a transição de três formas cristalinas, γ , α e β' .

No fracionamento térmico a seco a melhor estearina (Δ li e Δ Pf) foi obtida com temperatura de cristalização na faixa de 28° a 28,4°C e velocidade de agitação de 20 a 21,2rpm, condição que propiciou melhor separação dos TAGs insaturados (estearina) dos saturados (oleína). Com relação ao custo do processo (tempo e rendimento) a melhor condição está na faixa de 29,2° a 29,5°C para temperatura de cristalização e velocidade de agitação variando entre 25 e 30rpm.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudar a cristalização das frações estearina e oleína, obtidas com fracionamento térmico a seco utilizando as técnicas de Microscopia de Luz Polarizada e Difração de Raios X com Radiação Síncrotron;
- Avaliar possibilidades de aplicação da fração oleína na indústria alimentícia;

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução – RDC nº 482*, de 23 de setembro de 1999. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 19 jan. 2005.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Resolução – RDC nº 227*, de 28 de setembro de 2003. Disponível em <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 19 jan. 2005

AZEVEDO, A. B. A. *Extração e fracionamento da gordura de cupuaçu (Theobroma grandiflorum) com fluidos supercríticos*. 2001. 108p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP.

BARBOSA, W.C.; NAZARÉ, R.F.R. & NAGATA, I. *Estudos tecnológicos de frutas da Amazônia*. Belém: EMBRAPA/CPATU, 1978. 19p. (Comunicado técnico, n.3).

BARROS NETO, B.; BRUNS, R. E. & SCARMINIO, I. S. *Planejamento e otimização de experimentos*. Campinas – SP: UNICAMP, 1995. 401p.

BECKETT, S. T. *Industrial chocolate manufacture and use*. 2ª ed. London: Chapman and Hall, 1994. 408p.

BERGER, K. G. Some theoretical and practical aspects of fractionation of palm oil. In: *American Oil Chemists Society Annual Meeting*. Chicago, USA, Proceeding, 1976.

BREITSCHUH, B. & WINDHAB, E. J. Parameters influencing crystallization and polymorphism in milk fat. *Journal of The American Oil Chemists Society*, Chicago, v. 75, n.8, p.897-904, Aug 1998.

CHAPMAN, G. M. Cocoa butter and confectionery fats studies using programmed temperature x-ray diffraction and differential scanning calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Chicago, v.48, p.824-830, 1971.

CHIU, M. C. *Caracterização, fracionamento e aproveitamento da gordura abdominal de frango*. 2001. 130p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo–SP.

COHEN, K. O. *Estudo do processo de temperagem do chocolate ao leite e de produtos análogos elaborados com líquido e gordura de cupuaçu*. 2003. 296p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas –SP.

COUTINHO, R. B. S. Industrialização das sementes de cupuaçu. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Amazônia*, Belém, p.283-286, jul./set. 1969.

COSTA, D.; MOTTA, S. & CARVALHO, M.C. *Sobre o valor nutritivo do doce de cupuaçu*. Rio de Janeiro: [s.n.], 1960. 6p. (Coleção estudo e pesquisa alimentar, n.14).

D'AGOSTINI, D. *Obtenção de lipídios estruturados por interesterificação de triacilgliceróis de cadeia média e longa*. 2001. 185p. Tese (doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo–SP.

DEFENSE, E. Multi-step fractionation and spreadable butter. *Fett Wissenschaft Technologie – Fat Science Technology*. v.89, n.5, p.502-507, 1987.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DIMICK, P. S. & MANNING, D. M., Thermal and compositional properties of cocoa butter during static crystallization. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Chicago, v.64, p.1663-1669, 1987.

FIRESTONE, D. (Ed.), *Official methods and recommended practices of the AOCS*. 5ª ed., 2v. Chicago: American Oil Chemists Society, 1998.

GILABERT-ESCRIVÁ, M. V.; GONÇALVES, L. A. G.; SILVA, C. R. S. & FIGUEIRA, A. Fatty acid and triacylglycerol composition and thermal behaviour of fats from seeds of Brazilian Amazonian *Theobroma* species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. v.82, p.1425-1431, 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*. v.57, p.347-355, 2003.

GUNNERDAL, J. Cocoa butter alternatives in confectionary production. *Agro-Food-Industry*. Milano, v.3/4, p.28-32, 1994.

HAMM, W. Trends in edible oil fractionation. *Trends in Food Science & Technology*. Cambridge, v.6, p.121-126. 1995.

HELRICH, K. (Ed.) *Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists: agricultural chemicals; contaminants; drugs*. 15ª ed. Arlington: AOAC, 1990. 2v.

HUYGHEBAERT, A. & HENDRICKX, H. Polymorphism of cocoa butter, shown by differential scanning calorimetry. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, London, v.4, n.2, p.59-63, 1971.

KELLENS, M. & HENDRIX, M. *Desarrollos en la modificacion de grasas: características y beneficios de las combinaciones de hidrogenación-interesterificación-fraccionamiento*. [s.l]: [s.n], 1996. 51p.

KELLER, G.; LAVIGNE, F.; LOISEL, C.; OLLIVON, M. & BOURGAUX, C. Investigation of the complex thermal behavior of fats: combined DSC and X-ray diffraction techniques. *Journal of Thermal Analysis*. v.47, p.1545-1565, 1996.

LIMITES ÉTICOS. O caso do cupuaçu. Disponível em <<http://www.amazonlink.org/biopirataria/cupuacu.htm>>. Acesso em: 04 fev. 2005.

LIPP, M. & ANKLAM, E. Review of cocoa butter and alternatives fats for use in chocolate – part A. Compositional data. *Food Chemistry*. Oxford, v.62, n.1, p.73 – 97, 1998.

LOISEL, C.; KELLER, G.; LECQ, G.; BOURGAUX, C. & OLLIVON, M. Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Chicago, v.75, n.4, p.425-439. 1998.

LUCAS, V. *Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate*. 2001. 195p. Tese (Doutorado). Faculdade de Engenharia Química. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

MALSSEN, K. V.; PESCHAR, R. & SCHENK, H. Real-time x-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. I. Temperature dependent crystallization behavior. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Chicago, v.73, n.10, p.1209-1215, 1996a.

MALSSEN, K. V.; PESCHAR, R. & SCHENK, H. Real-time x-ray powder diffraction investigations on cocoa butter. II. The relationship between melting behavior and composition of β -Cocoa Butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Chicago, v.73, n.10, p.1217-1223, 1996b.

MARANGONI, A. G. The nature of fractality in fat crystal networks. *Trends in Food Science and Technology*. V.13, inssue 2, p.37-47. Fev/2002.

MARANGONI, A. G. & McGAULEY, S. E. Relationship between crystallization behavior and structure in cocoa butter. *Crystal Growth and Design*. Ontario, Canadá, v.3, n.1, p.95-108, 2003.

MELLO, G. R. P. & CHITARRA, A. B. Características qualitativas de importância na gordura da amêndoa em nove híbridos de cacauzeiro (*Theobroma cacao* L.). *Ciência e Agrotecnologia*, v.23, n.1, p.161-169, jan./mar., 1999.

NARINE, S. S.; MARANGONI, A. G. Microscopic and rheological studies of fat crystal networks. *Journal of Crystal Growth*. v.198/199, p.1315 – 1319, 1999.

- NESARETNAN, K. Engkabang (Illipe) – an excellent component for cocoa butter equivalent fat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, London, v.60, p.15 – 20, 1992.
- O.I.C.C. Determination of the Melting Points of Cocoa Butter. In: *Analytical Methods of the Office International du Cacao et du Chocolat*, pag 8b, 1962.
- PANDOLFI, A. R. Novos desenvolvimentos no fracionamento de óleo de palma. *Revista Óleos e Grãos*. v.15, nov./dez. 1993, São Paulo - SP.
- PARLAMENTO EUROPEU. *Posição Comum C5-0252/1999 de 15 de novembro de 1999*. Disponível em <<http://www.europarl.eu.int/commonpositions/1999/pdf/c5-0252-99-pt.pdf>>. Acesso em: 19 fev. 2005.
- PAULICKA, F. R. Phase behaviour of cocoa butter extenders. *Chemistry and Industry*. Londres, v.9, p.835-839. 1973.
- RIBEIRO, J. D. *A cultura do cupuaçuzeiro em Rondônia*. Porto Velho: EMBRAPA. Rondônia, 1992.
- RODRIGUES, D. M. *Aspectos da produção e da comercialização do cupuaçu (Theobroma grandiflorum schum) na região norte*. 1996. 43p. Monografia – Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, Belém.
- RODRIGUES, J. N.; ANTON, C. & GIOIELLI, L. A. Cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de milho. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v.39, n.1, p.93-103, jan./mar., 2003.
- ROSSEL, B. Features: Vegetable fats for chocolate, couvertures and coatings. *Lipid Technology*. September/October 1992. p.106-113.
- SATO, K. Crystallization behaviour of fats and lipids – a review. *Chemical Engineering Science*. V. 56, p 2255 – 2265, 2001.
- SATO, K.; UENO, S. & YANO, J. Molecular interactions and kinetic properties of fats. *Progress in Lipid Research*. v.38, p.91-116, 1999.

SEBRAE/AM. *Chocolate de cupuaçu*. 2ª ed. Manaus, 1999. 44p.

SILVA, W. G. *Gordura de Cupuaçu – “sucedâneo de manteiga de cacau”*. 1988. 120p Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, São Paulo.

SIMÕES, I. S. & GIOIELLI, L. A. Cristalização e polimorfismo de gorduras. *Revista Óleos e Grãos*. Set./Out. 1999. São Paulo - SP.

SUFRAMA. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. *Projeto Potencialidades regionais: Estudo de viabilidade econômica: cupuaçu*, 2003. Disponível em <http://www.suframa.gov.br/publicacoes/proj_pot_regionais/cupuacu.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2005.

TALBOT, G., *Chocolate temper*. In: BECKETT, S. T. (Ed.). *Industrial chocolate manufacture and use*. 2ª ed. Londres: Chapman & Hall, 1994. cap. 11, p.156-166.

TANGO, J. S.; LACAZ, P. A.; SANTOS, L. C.; TURATTI, J. M.; SILVA, M. T. C.; FIGUEIREDO, I. B.; MANTOVANI, D. M. B. & CAMPOS, S. D. S. Características físicas e químicas do óleo de dendê. *Boletim do ITAL*. Campinas, v.18, n.4., p.509-542, 1981.

TIMMS, R. E. The phase behaviour of mixtures of cocoa butter and milk fat. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*. Suíça, v.13, p.61-65, 1980.

TURRATI, J. M.; GOMES, R. A. R. & ATHIÉ, I. *Lipídios: aspectos funcionais e novas tendências*. ITAL, 2002, 78p.

UENO, S.; MINATO, A.; YANO, J. & SATO, K. Synchrotron radiation X-ray diffraction study of polymorphic crystallization of SOS from liquid phase. *Journal of Crystal Growth*. Hiroshima, Japão. p.1326-1329, 1999.

VENTURIERI, G. A. *Cupuaçu: a espécie, sua cultura, usos e processamento*. Belém: Clube do Cupu, 1993. 108p.

WILLE, R. L. & LUTTON, E. S. Polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Chicago, v. 43, n. 8, p. 491-496, 1966.

YOUNG, F. V. K. Interchangeability of fats and oils. *Journal of American Oil Chemists Society*. Chicago, v.62, n.2, p.372-375, 1985.