



Élida Castilho Bonomi

**Aplicação da fração estearina como modulador de
cristalização no fracionamento térmico de gordura de leite
anidra e na fabricação de chocolate**

Campinas – São Paulo

2013



Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia Química

Élida Castilho Bonomi

Aplicação da fração estearina como modulador de cristalização no fracionamento térmico de gordura de leite anidra e na fabricação de chocolate

Orientador: Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch

Co-orientador: Dr. Valdecir Luccas (ITAL)

Tese de doutorado apresentada à Faculdade de Engenharia Química da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção de título de Doutor em Engenharia Química.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE
DEFENDIDA PELA ALUNA ÉLIDA CASTILHO BONOMI E ORIENTADA PELO
PROF. DR. THEO GUENTER KIECKBUSCH

Assinatura do Orientador

Campinas
2013

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Elizângela Aparecida dos Santos Souza - CRB 8/8098

B644a Bonomi, Élide Castilho, 1980-
Aplicação da fração estearina como modulador de cristalização no
fracionamento térmico de gordura de leite anidra e na fabricação de chocolate /
Élide Castilho Bonomi. – Campinas, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Theo Guenter Kieckbusch.
Coorientador: Valdecir Luccas.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de
Engenharia Química.

1. Gordura do leite. 2. Fracionamento. 3. Óleos e gorduras. 4. Chocolate. I.
Kieckbusch, Theo Guenter, 1942-. II. Luccas, Valdecir. III. Universidade Estadual
de Campinas. Faculdade de Engenharia Química. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Application of the stearin fraction as a modulator for of crystallization in
thermal fractionation of anhydrous milk fat and chocolate manufacturing

Palavras-chave em inglês:

Milk fat

Fractionation

Oils and fats

Chocolate

Área de concentração: Engenharia Química

Titulação: Doutora em Engenharia Química

Banca examinadora:

Theo Guenter Kieckbusch [Orientador]

Juliana Neves Rodrigues Ract

Priscilla Efraim

Izabela Dutra Alvim

Roberta Ceriani

Data de defesa: 27-05-2013

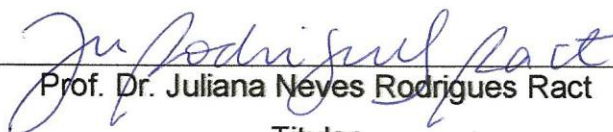
Programa de Pós-Graduação: Engenharia Química

Tese de Doutorado defendida por Élica Castilho Bonomi e aprovada em 27 de maio de 2013 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



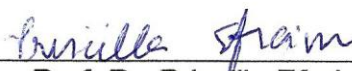
Prof. Dr. – Theo Guenter Kieckbusch

Orientador



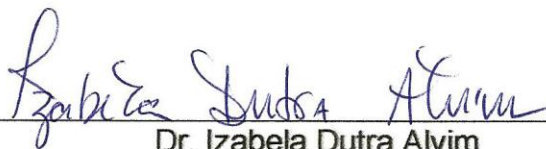
Prof. Dr. Juliana Neves Rodrigues Ract

Titular



Prof. Dr. Priscilla Efraim

Titular



Dr. Izabela Dutra Alvim

Titular



Prof. Dr. Roberta Ceriani

Titular

DEDICATÓRIA

A meus pais Valdemar e Rosemeiri, que me propiciaram uma vida digna, acreditando que podemos conquistar sonhos desde que sejamos honestos e íntegros de caráter.

A meu esposo Adriano, pelo amor, companheirismo e pelo incentivo para eu não desistir de sonhar.

A meus sogros José Luis (in memorian) e Telma pelo apoio, acolhimento e carinho.

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre estar ao meu lado e pelas bênçãos recebidas.

Ao Professor Theo Guenter Kieckbusch pela excelente orientação, amizade e paciência.

Ao co-orientador Valdecir Luccas pela amizade e contribuição para a execução deste trabalho.

Aos colegas e funcionários do ITAL, onde cada um pode contribuir de alguma forma na realização deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório (Chocolab e Leppbio 1 e 2) que sempre estiveram dispostos a ajudar e ensinar.

A todos meus amigos que me apoiaram e estiveram presentes em momentos agradáveis que passamos no decorrer do curso.

A todos aqueles que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

Ao CNPq pela bolsa de doutorado.

"A ciência humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável".

Galileu Galilei

RESUMO

Gordura de leite anidra é o sistema lipídico de composição mais complexa encontrada na natureza. Seu uso em escala industrial é restrito devido à sua inadequada plasticidade, baixa resistência térmica e pouca consistência. Ensaios de fracionamento térmico da gordura de leite foram realizados com base em um delineamento experimental fatorial 2^2 com três pontos centrais e axiais. As temperaturas de cristalização (21 a 27 °C) e as taxas de resfriamento (5 a 20 °C/h) foram as variáveis independentes. As variáveis-resposta foram a composição em ácidos graxos saturados, o teor de sólidos a 25 °C, e a variação do teor de sólidos entre 25 °C e 35 °C das frações obtidas. Os resultados indicaram que a temperatura de cristalização exerceu maior influência sobre as respostas avaliadas. Os fracionamentos conduzidos em temperaturas mais altas foram mais efetivos, pois produziram estearina de maior conteúdo de gordura sólida, embora apresentaram baixo rendimento, em torno de 32%. A estearina com maior conteúdo de triacilgliceróis (TAGs) de alta massa molar foi utilizada na confecção de chocolate ao leite, em substituição total à gordura de leite anidra (3%). A utilização da fração estearina na formulação do chocolate retardou a formação do *fat bloom* e não influenciou no *snap*. Complementarmente, essa mesma fração estearina foi usada como modulador de cristalização em novos ensaios de fracionamento da gordura de leite. Ela foi inoculada (1, 5, 10%) de duas maneiras diferentes: como sementes de nucleação secundária, sendo adicionada na forma sólida à massa já resfriada na temperatura de cristalização de 27 °C ou simplesmente incorporada como massa fundida à gordura de leite no início do processo de fracionamento. Em todos os ensaios de inoculação, o tempo de processo foi substancialmente reduzido em relação ao fracionamento térmico tradicional, principalmente quando a técnica da semeadura foi usada. A adição de 1% de estearina à gordura gerou uma nova fração estearina, com maior conteúdo de sólidos. Esta pesquisa produziu estearina da gordura de leite com características adequadas para ser utilizada na produção de um chocolate de alta qualidade, e estabeleceu condições de fracionamento otimizadas para a sua obtenção.

Palavras-chaves: gordura de leite, fracionamento térmico, estearina e chocolate ao leite.

ABSTRACT

Anhydrous milk fat is the lipid system with the most complex composition found in nature. Its use on industrial scale has been limited due to its inadequate plasticity, low thermal resistance and consistency. Thermal fractionations of milk fat were performed based on a factorial 2^2 experimental delineation with three central and axial points. The crystallization temperatures (21 – 27 °C) and the cooling rates (5 to 20 °C/h) were the independent variables. The response variables were the saturated fatty acid composition, the solid fat content at 25 °C, and the solid fat content differences between 25 and 35 °C of the stearin fractions obtained. The results indicated that the crystallization temperature exerted the largest influence on the responses. The fractionation runs conducted at higher temperatures were more effective, producing stearin with higher solid fat content, but lower yield, around 32%. Stearin containing large amount of triacylglycerols of higher molar mass were used in formulations of milk chocolate totally replacing the anhydrous milk fat (3%). Compared to the chocolate produced with milk fat, the use of stearin fraction in chocolate delayed the formation of fat bloom but did not influence the snap values. Additionally, the same high solid fat stearin fraction was used as a modulator of the crystallization in further fractionation tests of milk fat. Milk fat was inoculated (1, 5, 10%) by two different ways: as seeds for secondary nucleation added to the mass already cooled down to 27 °C or incorporated as a melt into the milk fat, at the beginning of the fractionation process. In all inoculation tests, the process time was substantially reduced compared to the traditional thermal fractionation. The addition of 1% stearin to milk fat generated a new stearin fraction with higher solid fat content, mainly when the seeding technique was used. This study produced milk fat stearin with suitable characteristics for the production of a high quality chocolate, and established the optima fractionation conditions in order to obtain it.

Keywords: milk fat, thermal fractionation, stearin and milk chocolate.

SUMÁRIO

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO.....	1
I.1. Justificativa.....	1
I.2. Objetivos.....	3
I.2.1. Objetivos gerais	3
I.2.2. Objetivos específicos	4
CAPÍTULO II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
II.1. Chocolate.....	5
II.1.1. Manteiga de cacau	6
II.1.2. Processo de fabricação do chocolate	7
II.1.3. <i>Fat bloom</i>	10
II.2. Gordura de leite	11
II.3. Chocolate ao leite	13
II.4. Fracionamento térmico.....	15
II.5. Adição de estearina	19
CAPÍTULO III. MATERIAIS E MÉTODOS	21
III.1. Materiais	21
III.1.1. Matéria-prima.....	21
III.2. Análises químicas e físicas	21
III.2.1. Manteiga de cacau, gordura de leite e suas frações.....	22
III.2.1.1. Análises químicas	22
III.2.1.2. Análises físicas	22
III.2.2. Chocolate ao leite	24
III.2.2.1. Análises físicas	24

III.3. Análises estatísticas	25
III.4. Processos	26
III.4.1. Fracionamento térmico.....	26
III.4.1.1. Equipamentos	26
III.4.1.2. Processo de fracionamento térmico.....	27
III.4.1.3. Planejamento experimental	29
III.4.2. Fabricação de chocolate	30
III.4.2.1. Formulação do chocolate ao leite	30
III.4.2.2. Processo de fabricação do chocolate ao leite.....	31
III.4.2.3. Estudo da estabilidade ao <i>fat bloom</i>	34
III.4.2.4. Estudo da resistência mecânica	34
III.4.2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	34
III.4.3. Adição de estearina de gordura de leite anidra	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
IV.1. Caracterização das matérias-primas	37
IV.1.1. Composição em ácidos graxos	37
IV.1.2. Composição triacilglicerólica	38
IV.1.3. Curva de sólidos.....	40
IV.1.4. Isoterma de cristalização	41
IV.1.5. Comportamento térmico	44
IV.2. Fracionamento térmico	46
IV.2.1. Composição em ácidos graxos das frações oleína e estearina da gordura de leite anidra.....	47
IV.2.2. Composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina da gordura de leite anidra.....	49

IV.2.3. Curva de sólidos	51
IV.2.4. Isoterma de cristalização das frações	54
IV.2.5. Viscosidade aparente.....	57
IV.2.6. Rendimento	59
IV.2.7. Análise estatística.....	60
IV.2.8. Comportamento térmico	66
IV.2.9. Difração de Raios-X.....	67
IV.3. Chocolate ao leite	68
IV.3.1. Caracterização dos chocolates em relação à viscosidade plástica de Casson, limite de escoamento de Casson, teor de umidade e tamanho de partícula.....	68
IV.3.2. Monitoramento durante o armazenamento	69
IV.3.2.1. Aspecto visual	69
IV.3.2.2. Tensão de ruptura	71
IV.3.2.3. <i>Índice de Brancura</i>	73
IV.3.2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	76
IV.4. Fracionamento com adição de estearina da gordura de leite	80
IV.4.1. Composição em ácidos graxos	81
IV.4.2. Composição triacilglicerólica	84
IV.4.3. Curva de sólidos	86
IV.4.3.1. Gordura de leite	86
IV.4.3.2. Frações oleína e estearina, obtidas através dos fracionamentos com adição de estearina	86
IV.4.4. Isoterma de cristalização	91
IV.4.4.1. Gordura de leite com estearina	91
IV.4.4.2. Oleína e estearina, obtidas nos fracionamentos com inoculação de cristais.....	94

IV.4.5. Rendimento	97
CAPÍTULO V. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	99
V.1. Conclusões	99
V.2. Recomendações para futuras pesquisas	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103
APÊNDICE A	110

NOMENCLATURA

Σ_{sat}	Somatório de moléculas saturadas
Σ_{insat}	Somatório de moléculas insaturadas
F_i	Fracionamento térmico tradicional do ensaio i
O_i	Oleína do ensaio i
E_i	Estearina do ensaio i
T_{crist}	Temperatura de cristalização
τ	Tempo de indução
$\text{CGS } (\infty)$	Teor máximo de gordura sólida
CGS	Conteúdo de gordura sólida
TAG	Triacilgliceróis
P	Ácido graxo palmítico
O	Ácido graxo oleico
S	Ácido graxo esteárico

CAPÍTULO I. INTRODUÇÃO

I.1. Justificativa

O chocolate é um alimento muito apreciado, devido ao seu sabor e por causar uma sensação de bem estar durante a degustação, além disso, possui antioxidantes naturais, que ajudam a prevenir doenças do coração e o envelhecimento. Este produto é definido como uma dispersão de partículas muito finas de cacau, sólidos do leite e açúcar, completamente envolvidas por uma fase gordurosa contínua composta por manteiga de cacau (Vissotto *et al.*, 1999). É um alimento caracterizado por ser sólido a temperatura ambiente e derreter facilmente na temperatura corporal, o que provoca uma sensação agradável de frescor durante o seu consumo.

As amêndoas de cacau contêm altos teores de manteiga de cacau, que é o principal e o mais caro ingrediente na fabricação de chocolate, sendo composta principalmente por triacilgliceróis simétricos. A complexidade do processo de cristalização da manteiga de cacau é decorrente do fato dos triacilgliceróis poderem se cristalizar em diferentes formas cristalinas, dependendo da composição, das condições de têmpera e cristalização, além das condições de armazenamento do chocolate (Shukla, 2006). São conhecidas seis diferentes formas polimórficas. Destas, somente a Forma V (também conhecida como Forma β) confere atributos favoráveis de brilho e *snap* (maneira como a barra de chocolate se parte) ao chocolate (Beckett, 2000).

Um dos grandes problemas enfrentados pelas indústrias de chocolate é o fenômeno conhecido como *fat bloom*, que é a migração e recristalização de gordura na superfície do produto, deixando o mesmo com uma aparência esbranquiçada (Talbot, 1999), que ocasiona rejeição por parte do consumidor e prejuízos consideráveis na comercialização destes produtos. O mecanismo deste fenômeno ainda não está totalmente elucidado, mas alguns fatores como temperatura inadequada e flutuações de temperatura durante a estocagem favorecem seu aparecimento. Outra possível causa é a transição da Forma polimórfica V para VI, que ocorre durante o armazenamento do chocolate (Loisel *et al.*, 1998). Diversos trabalhos detectaram que a presença de gordura de leite no chocolate retarda o aparecimento do *fat bloom* (Barna *et al.*, 1992; Timms, 2003).

A mistura de manteiga de cacau e gordura de leite promove o efeito eutético, ou seja, diminuição do ponto de fusão da fase gordurosa, devido à incompatibilidade química entre os triacilgliceróis das respectivas gorduras (Marangoni, 2002; Pajim e Jovanovic, 2005). Este mesmo fenômeno é responsável pela diminuição da resistência térmica do chocolate, contribuindo com a dificuldade encontrada pelas indústrias na fabricação de chocolate em países tropicais.

A gordura de leite é muito utilizada em alimentos por ter sabor e odor agradável ao paladar humano. Entretanto, por apresentar composição e comportamento complexo, o seu uso em escala industrial tem sido restrito (Deffense, 1993).

As interferências do perfil dos triacilgliceróis da gordura de leite com o de outros sistemas lipídicos proporcionaram vários estudos com o intuito de modificar essa gordura (Campbell *et al.*, 1969; Vasishtha *et al.*, 1970; Kaylegian *et al.*, 1993; Van Aken *et al.*, 1999). O fracionamento térmico é um processo puramente físico que consiste na separação dos triacilgliceróis da gordura de leite, com base em seus respectivos pontos de fusão e intersolubilidade. O processo consiste em duas etapas principais: cristalização e separação. A cristalização é a fase de formação dos núcleos e de crescimento dos cristais, e a separação visa separar a fração oleína (parte líquida) da estearina (parte cristalizada) (Lopez *et al.*, 2006). Essas frações apresentam propriedades físicas e químicas distintas, podendo ser aplicadas em diferentes produtos conforme a finalidade.

A aplicação de estearina na formulação de chocolate ao leite já vem sendo estudada em outros países, com o intuito principal de produzir um chocolate com alta estabilidade ao *fat bloom* (Pajim e Jovanovic, 2005). A adição de uma fração contendo triacilgliceróis de maior massa molar também aumenta o teor de sólidos totais deixando o chocolate com um bom *snap* a temperaturas mais altas.

Pesquisas sobre fracionamento térmico de gordura de leite são encontradas na forma de patentes, e muitas vezes o processo exige equipamentos mais sofisticados e, consequentemente, mais caros (Maes e Dijkstra, 1994; Hartel, Baomin e Yuping, 2002). Além disso, o crescimento e maturação dos cristais são lentos e o processo de fracionamento térmico requer um tempo muito longo. Sendo assim, tornam-se necessárias pesquisas que simplifiquem e acelerem este processo.

A técnica de adição de triacilgliceróis de alto ponto de fusão na forma cristalina é utilizada para acelerar processos de fracionamento e induzir a formação de cristais mais homogêneos e na forma polimórfica desejada, como realizado no trabalho de Bootello *et al.* 2011. Esta variável de processo foi abordada nesta pesquisa como forma de acelerar e otimizar o processo de fracionamento térmico de gordura de leite.

Este trabalho teve como finalidade avaliar o fracionamento térmico de uma gordura de leite nacional, tendo como variáveis de processo a temperatura de cristalização e a taxa de resfriamento, visando encontrar uma fração estearina adequada para a produção de chocolate ao leite de alta qualidade, ou seja, com alta resistência mecânica e térmica e promover o retardamento do *fat bloom*. A fração estearina com maior ponto de fusão obtida foi utilizada na formulação e fabricação de chocolate ao leite. Para uma avaliação comparativa do comportamento destes produtos, as barras de chocolate ao leite padrão (produzido com gordura de leite) e de chocolate ao leite com estearina foram armazenadas durante aproximadamente 150 dias sob duas condições de temperatura (constante e com variação cíclica) com monitoramento da cor da superfície e da resistência mecânica. Em complementação, depois de definidas as melhores condições de fracionamento, foi avaliada a adição de 1 a 10 % de estearina à gordura de leite, para atuar como promotor de cristalização durante o fracionamento térmico, com o objetivo de diminuir o tempo de processo e produzir uma estearina com alto teor de gordura sólida.

Parte desta pesquisa foi realizada nas plantas piloto e laboratórios do centro de Pesquisa e Desenvolvimento de cereais e chocolate – Cereal Chocotec, do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL).

I.2. Objetivos

I.2.1. Objetivos gerais

- Estudar o processo de fracionamento térmico com uma gordura de leite anidra brasileira.
- Obter um chocolate ao leite resistente ao *fat bloom* e com boas características de *snap*.
- Avaliar o efeito da adição de estearina na forma fundida e sólida no processo de fracionamento térmico da gordura de leite anidra.

I.2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar quimicamente e fisicamente uma gordura de leite anidra brasileira.
- Investigar o processo de fracionamento térmico da gordura de leite com base em um planejamento experimental.
- Obter através do fracionamento térmico convencional da gordura de leite anidra uma fração estearina com alto teor de gordura sólida.
- Comparar a qualidade e características de pós-processamento (estudo de resistência mecânica e retardamento ao *fat bloom*) do chocolate ao leite produzido com gordura de leite anidra e com estearina de gordura de leite anidra.
- Estudar as possíveis mudanças na estrutura cristalina dos chocolates produzidos, durante o armazenamento, com a inovadora técnica de microscopia eletrônica de varredura.
- Avaliar diferenças entre o processo de fracionamento térmico com estearina fundida e sólida e o processo de fracionamento térmico convencional.

CAPÍTULO II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

II.1. Chocolate

A transformação do cacau em chocolate é conhecida desde a época das civilizações maia e asteca. Até meados do século XIX, o chocolate era consumido exclusivamente na forma de uma bebida líquida, denominada *chocolatl*. Com o passar dos anos, o valor comercial do cacau foi reconhecido e o chocolate em barras começou a ser vendido em 1861, na Suíça (Beckett, 2009). A fórmula básica do chocolate: *liquor*, açúcar e manteiga de cacau se estendeu até 1875, quando Daniel Peter desenvolveu um método de adição de leite condensado ao chocolate, surgindo assim o chocolate ao leite que se tornou o mais popular (Beckett, 2000; Tanabe e Hofberger, 2006).

O chocolate é muito apreciado devido ao seu sabor agradável e a sensação de prazer que pode causar durante sua degustação. Apesar dos elevados índices de lipídios e de açúcar, contribui positivamente para a nutrição humana, quando consumido com moderação, pois o cacau contém antioxidantes, principalmente polifenóis (Beckett, 2000).

As amêndoas de cacau são as sementes fermentadas da fruta da árvore *Theobroma cacao* L. cultivada principalmente na África, América do Sul (entre os países está o Brasil), Ásia e Oceania. As características das amêndoas de cacau, como sabor, cor, dureza da manteiga, são muito afetadas pela latitude da região onde é cultivado e pela variedade desta espécie (Ribeiro *et al.*, 2012).

A produção mundial de cacau é de aproximadamente 3,5 milhões de toneladas (ICCO, 2012); entre os anos de 2006 e 2011, houve um aumento tanto da produção como do consumo de chocolates no Brasil, sendo o terceiro país maior produtor e consumidor mundial de chocolates, superado apenas por Estados Unidos e Alemanha. O Brasil tem a projeção de assumir a vice-liderança entre os dez maiores mercados de chocolate, balas e amendoim do mundo até 2016, segundo dados da ABICAB (2013).

Existem três tipos comerciais de chocolate: o chocolate amargo, que é composto basicamente por *liquor*, manteiga de cacau e açúcar, o chocolate ao leite, que inclui leite ou derivados lácteos, e o chocolate branco, que não contém *liquor* de cacau.

II.1.1. Manteiga de cacau

A manteiga de cacau é o ingrediente mais caro e fundamental na formulação do chocolate, sendo obtida através de prensagem mecânica das amêndoas de cacau fermentadas, secas e torradas. Esta gordura é responsável pelos atributos de qualidade do chocolate, como dureza, *snap*, brilho, fusão completa e rápida à temperatura corporal, desprendimento de aroma e sabor durante a degustação (Luccas, 2001; Miquel *et al.*, 2001).

Os triacilgliceróis (TAGs) simétricos que em termos da distribuição (dos radicais) são compostos por ácidos graxos saturado-insaturado-saturado em sua estrutura respondem a mais de 75% da composição da manteiga de cacau, sendo os três principais POS, SOS e POP onde O é o ácido oleico, P é o ácido palmítico e S é o ácido esteárico (Lonchampt e Hartel, 2004; Shukla, 2006). O ponto de fusão deste sistema lipídico está entre 32 e 35 °C, e à temperatura ambiente 20% de seus triacilgliceróis se encontram no estado líquido.

A composição triacilglicerólica da manteiga de cacau é dependente da espécie do cacau e da região geográfica na qual a planta foi cultivada (Shukla, 2006). No Brasil, o cacau da Bahia produz uma manteiga mais macia (isto é, com menor conteúdo de gordura sólida a 25 °C) do que a de outros países produtores (Ribeiro *et al.*, 2012).

A manteiga de cacau apresenta um polimorfismo complexo porque seus triacilgliceróis podem se cristalizar em diversas formas, dependendo da composição, condições de pré-cristalização (temperagem) e armazenamento. O polimorfismo é definido como a capacidade de uma substância existir em mais de uma forma cristalina sob condições termodinamicamente diferentes (Chapman, 1957).

A variedade de formas polimórficas dos cristais de triacilgliceróis tem sido motivo de muitos estudos. Essas formas podem ser enquadradas em três grupos básicos: α , β' e β (Figura II.1). Existem três diferentes tipos de sub-células em lipídios e cada um está relacionado a uma estrutura polimorfa. A Forma α é metaestável com empacotamento hexagonal. A Forma β' tem estabilidade intermediária e empacotamento ortorrômbico perpendicular, e a Forma β , que é a mais estável, tem empacotamento triclinico paralelo (Martini *et al.*, 2006). A metodologia mais usada para a determinação da forma polimórfica é a difração de Raio X e a comparação dos resultados é dificultada pelas diferentes nomenclaturas utilizadas.

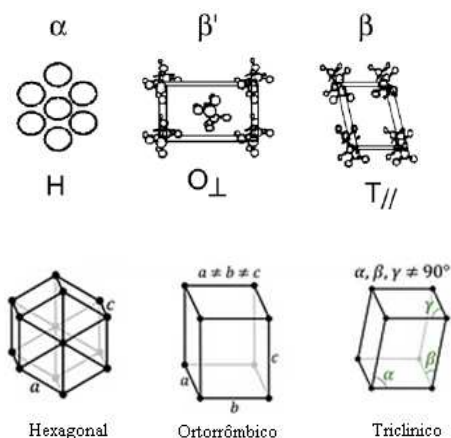


Figura II.1. Formas polimórficas comuns dos triacilgliceróis (adaptado de Sato, 2001).

Vários estudos foram feitos para determinar quais as formas polimórficas encontradas na manteiga de cacau (Duck 1964; Luccas, 2001). Seis formas polimórficas foram identificadas e são como consequência de sua composição triacilglicerólica homogênea, conhecidas como γ , α , β'_2 , β'_1 , β_2 e β_1 , em concordância com a nomenclatura atual (McGauley e Marangoni, 2002). A nomenclatura para os polimorfos da manteiga de cacau pode também ser baseada no sistema de numeração romana, onde as formas I, II, III, IV, V e VI correspondem respectivamente a γ , α , β'_2 , β'_1 , β_2 e β_1 .

As Formas I e II são obtidas pelo resfriamento rápido a uma temperatura baixa e são muito instáveis. Elas podem dar origem as Formas III e IV que são formadas em temperaturas moderadas. A Forma V é a mais adequada e é a que se busca para um chocolate adequadamente pré-cristalizado, resultando em uma aparência brilhante, com bom *snap* e resistente ao *fat bloom* (Beckett, 2000). A Forma VI é formada a partir da Forma V através de uma transformação no estado sólido, e normalmente só surge após longo tempo de armazenamento. Embora o mecanismo do *fat bloom* ainda não seja totalmente conhecido, atribui-se que esta transformação polimórfica seja a principal causa de seu surgimento (Loisel *et al.*, 1998; Talbot, 1999).

II.1.2. Processo de fabricação do chocolate

As amêndoas de cacau fermentadas e secas passam pelo processo de limpeza, seguem para a etapa de torrefação, e então são descascadas e quebradas em fragmentos (denominados

nibs). Os *nibs* são moídos, transformando-se em *liquor* que prensado dá origem à manteiga de cacau e ao cacau em pó (Afoakwa *et al.* 2007).

Os *nibs* de cacau possuem aproximadamente 55% de manteiga, que contém predominantemente ácido oléico (35%), esteárico (34%) e palmítico (26%), além de lipídios polares, esteróis e tocoferóis (Talbot, 1999).

O processo de fabricação do chocolate começa com a mistura dos ingredientes, que vai depender do tipo de chocolate a ser produzido. No chocolate ao leite, o *liquor* de cacau, açúcar, manteiga de cacau e leite em pó são misturados e, posteriormente, refinados para atingir um tamanho máximo de partícula entre 20 e 25 μm (Luccas, 2001). O refino tem como objetivo reduzir o tamanho de partículas e desfazer as aglomerações, além de distribuí-las homogeneamente na fase contínua. O tamanho das partículas influencia as propriedades reológicas e sensoriais do produto acabado e na liberação dos voláteis (Afoakwa *et al.* 2007). Partículas grandes conferem uma sensação bucal de areosidade durante a degustação, enquanto as partículas menores influenciam a fluidez do chocolate. Um chocolate com granulometria média de 20 μm terá um sabor e textura mais cremosa do que um chocolate com 30 μm de granulometria média (Beckett, 2000).

A etapa seguinte ao refino é a conchagem, que consiste na agitação do chocolate por tempo prolongado a uma temperatura média de 60 °C (Luccas, 2001). Este processo mecânico converte o pó refinado em uma suspensão fluída de partículas de açúcar, cacau e leite em pó na fase gordurosa líquida, sendo responsável pela redução da viscosidade obtida através da dispersão dos sólidos na gordura fluída, reação de *Maillard*, textura, desenvolvimento do sabor, retirada de água e liberação dos voláteis indesejáveis (ácidos originados na fermentação das sementes de cacau) da massa de chocolate (Luccas, 2001). O tempo de conchagem pode ser alterado conforme o tipo de chocolate produzido, a composição, o equipamento de conchagem e as condições de operação e a qualidade desejada para o produto.

O próximo passo é o processo de têmpera ou pré-cristalização, responsável pelo desenvolvimento do polimorfo mais estável no chocolate, influenciando nas características do produto (Afoakwa *et al.*, 2007). A temperagem consiste primeiramente na fusão de toda a massa de chocolate próxima à temperatura de 45 °C por um tempo suficiente para fundir completamente todos os cristais e assim apagar a memória de todo histórico cristalino. Segue-se então o

resfriamento a uma taxa constante de 2 °C/min até atingir a temperatura de cristalização, entre 26 e 28 °C, para iniciar a formação de sementes de cristais. A nucleação de gorduras ocorre tipicamente em polimorfos instáveis devido à pequena energia necessária para a sua formação em relação aos polimorfos estáveis. Após a manutenção por alguns minutos à temperatura de temperagem, procede-se a um reaquecimento até a temperatura de 31 – 32 °C para que todos os cristais instáveis se fundam e alguns se reorganizem na Forma β V (Lonchamp e Hartel, 2006). A temperatura de reaquecimento não deve ultrapassar a temperatura de fusão do cristal β . Nesta situação do processo, a quantidade de cristais formada é cerca de 2 a 4% (Norberg, 2006). O binômio tempo/temperatura tem muita importância na definição dessa sequência de temperagem, e vai depender dos ingredientes, do tipo de chocolate, do equipamento e do objetivo final (Tanabe e Hofberger, 2006).

O chocolate temperado adequadamente terá boa aparência (cor e brilho), maior estabilidade e vida-de-prateleira mais longa, e a contração do volume permitirá fácil desmolde. Na têmpera do chocolate ao leite utiliza-se uma temperatura de cristalização mais baixa do que a do chocolate amargo para a obtenção dos núcleos dos cristais estáveis devido à tendência de formação de misturas eutéticas dos diferentes triacilgliceróis. A gordura de leite reduz o ponto de fusão do chocolate (o que torna necessário esta diminuição da temperatura de cristalização no processo de temperagem), limita a formação do *fat bloom* e desenvolve um produto com textura mais suave (Talbot, 1999).

A massa de chocolate pré-cristalizada é colocada em moldes e resfriada para que o restante da gordura se cristalize lentamente na forma adequada (Norberg, 2006). O resfriamento é necessário para retirar o calor gerado na formação dos cristais durante a solidificação. A definição das melhores condições da etapa de resfriamento depende de diversos fatores, principalmente da composição do chocolate e, sobretudo, da proporção de manteiga de cacau. Como regra geral, o resfriamento deve ser feito em três etapas, com temperaturas maiores no início e na saída do túnel, e temperaturas inferiores no meio. A menor temperatura no centro do túnel coincide com o momento de grande formação de cristais, portanto, geração local de calor que necessita ser retirado.

O chocolate segue então para as etapas de desmoldagem e embalagem e depois é armazenado. O local onde o chocolate é estocado deve ter controle de temperatura e umidade,

pois altas temperaturas podem resultar no aumento da mobilidade molecular, permitindo mudanças na estrutura do cristal, e resultar na formação do *fat bloom*. Locais com alta umidade também não são favoráveis, porque a água pode ser absorvida pelo chocolate, ocasionando a formação do *sugar bloom*, que é a recristalização do açúcar em sua superfície. O uso de embalagens com barreira ao vapor de água minimiza este problema. A Figura II.2 exibe uma imagem obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do chocolate ao leite com *sugar bloom*. Tanto o *fat bloom* como o *sugar bloom* são considerados defeitos do chocolate, pois tornam o produto pouco atraente ao consumidor (Luccas, 2001).

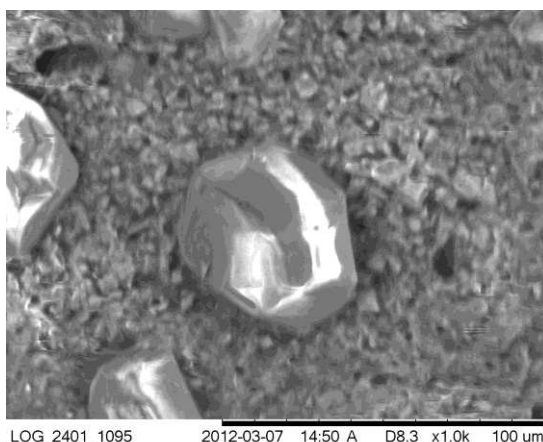


Figura II.2. Imagem do chocolate ao leite com *sugar bloom*.

II.1.3. *Fat bloom*

O *fat bloom* é um fenômeno que ocorre devido à migração de manteiga de cacau para a superfície do chocolate, onde se recristaliza, formando cristais com dimensões entre 4 e 5 μm , resultando em um produto sem brilho superficial e aparência esbranquiçada (Lonchampt e Hartel, 2004; Alander *et al.*, 2007), como mostra a Figura II.3. Esta formação representa um grande problema para as indústrias de chocolate, pois afeta adversamente os atributos visuais e a textura dos produtos, uma vez que geralmente promove a formação de superfícies não uniformes e com uma desagradável aparência de mármore (uniformemente acinzentado) ou com pontos brancos, e que pode ser confundido com o desenvolvimento de fungos.



Figura II.3. Chocolate sem e com *fat bloom* (Alander *et al.*, 2007).

Vários estudos têm sido realizados com a finalidade de descobrir as causas desta recristalização da gordura. O mecanismo de formação do *fat bloom* ainda não está claramente entendido, mas alguns fatores como formação insuficiente de cristais estáveis durante o processo de temperagem, adição de gorduras incompatíveis com a manteiga de cacau e flutuações de temperatura durante a estocagem favorecem seu aparecimento (Hartel, 1999; Lonchampt e Hartel, 2006).

Apesar do mecanismo específico pelo qual este fenômeno ocorre ainda ser desconhecido, a teoria mais aceita é a de que o *fat bloom* seja formado devido à transição polimórfica da manteiga de cacau. A transformação de cristais instáveis em elementos cristalinos estáveis resultaria no *fat bloom*, associado primordialmente à transição $\beta V \rightarrow \beta VI$ (Loisel *et al.*, 1998). Entretanto, uma variedade de tipos de *fat bloom* pode ocorrer, dependendo do tipo de chocolate e das condições de estocagem, e tal variação dificulta ainda mais o entendimento deste fenômeno, pois estes fatores podem atuar isoladamente ou em conjunto (Kinta e Hatta, 2007).

Estudos já relataram que a adição de gordura de leite ao chocolate retarda o aparecimento do *fat bloom*, além de retardar o início da cristalização da manteiga de cacau e proporcionar uma maior estabilidade dos cristais (Barna *et al.*, 1992; Timms, 2003).

II.2. Gordura de leite

Gordura de leite anidra (ou *Butteroil*) é definida como produto gorduroso obtido a partir de creme ou manteiga pela eliminação quase total de água e sólidos não gordurosos, mediante processos tecnologicamente adequados (MAPA, Portaria nº146 de 07/03/96). Esta gordura é muito apreciada em alimentos de alta qualidade por possuir incomparáveis atributos

organolépticos, principalmente em virtude do seu sabor (Deffense, 1993). A baixas temperatura, ela é dura, mas derrete-se completamente à temperatura corporal, o que produz uma sensação refrescante ao saborear o produto acabado.

Esta é a gordura mais complexa encontrada na natureza (Lopez *et al.*, 2006), sendo composta por 40 tipos diferentes de ácidos graxos (alguns exclusivos da gordura de leite), contendo 70% de ácidos graxos saturados (principalmente C16:0, C18:0 e C14:0), 27% de ácidos graxos insaturados (C18:1) e 3% de ácidos graxos poliinsaturados. Os principais ácidos graxos presentes na composição da gordura de leite são apresentados na Tabela II.1. Devido à grande variação em ácidos graxos, existe uma imensa diversidade de triacilgliceróis presentes na gordura de leite (Deffense, 1993).

A gordura de leite pode sofrer variações na composição química e, conseqüentemente, em suas propriedades físico-químicas devido à estação do ano, região, raça e alimentação da vaca leiteira (Walstra e Jenness, 1984; Deffense, 1993). A variação sazonal é o fator de maior efeito na estabilidade física da gordura de leite, nas propriedades funcionais e na textura final dos produtos (Walstra e Jenness, 1984).

Algumas características da gordura de leite, como sua plasticidade, dureza e espalhamento, restringem o seu uso em escala industrial (Deffense, 1993), situação ainda mais prejudicada por possuir alta concentração de ácidos graxos saturados e de colesterol, alto preço e funcionalidade limitada quando comparada a outras gorduras (Kaylegian *et al.* 1993).

O estudo realizado por Lopez *et al.* (2006) mostrou que a gordura de leite natural é constituída por uma mistura de moléculas de triacilgliceróis com ampla diferença no comprimento da cadeia e grau de insaturação, induzindo à formação de vários tipos de cristais. Os principais TAGs da gordura de leite são BPP, BMS, PPO, MSO, MPO e PPPo, onde B é o ácido butirico, M é o ácido mirístico, O é o ácido oleico, P é o ácido palmítico, Po é o ácido palmitoleico e S é o ácido esteárico.

Como em todos os sistemas graxos, os triacilgliceróis da gordura de leite podem cristalizar nas diferentes formas básicas (α , β' e β). As propriedades da gordura de leite, incluindo o comportamento de cristalização e polimorfismo, são dependentes não apenas das propriedades físicas e químicas dos triacilgliceróis, mas das interações entre eles.

Tabela II.1. Composição em ácidos graxos da gordura de leite (% em peso) e respectivos ponto de fusão (O'Brien, 2004 e 2008).

Ácido graxo		% em peso	P.F (°C)
C4:0	Butírico	2,8 – 4,0	-8,0
C6:0	Capróico	1,4 – 3,0	-3,4
C8:0	Caprílico	0,5 – 1,7	16,7
C10:0	Cáprico	1,7 – 3,2	31,6
C12:0	Láurico	2,2 – 4,5	44,2
C14:0	Mirístico	5,4 – 14,6	54,4
C14:1	Miristoleico	0,6 – 1,6	-4,5
C15:0	Pentadecanóico	2,1	52,1
C16:0	Palmítico	26,0 – 41,0	62,9
C16:1	Palmitoleico	2,8 – 5,7	-0,5
C17:0	Margárico	0,7	61,3
C18:0	Esteárico	6,1 – 12,5	69,6
C18:1	Oleico	18,7 – 33,4	13,4
C18:2	Linoleico	0,9 – 3,7	-6,5
C18:3	Linolênico	< 2,5	-13,0

A Forma Polimórfica α é resultante de um resfriamento rápido da gordura de leite que se reorganiza instantaneamente para a Forma β' e aparece como cristais esferulíticos. Os triacilgliceróis com alto ponto de fusão se cristalizam na Forma β tipo agulha (Kaylegian *et al.*, 1993).

II.3. Chocolate ao leite

A adição de leite ao chocolate promove o efeito eutético, derivado da palavra grega *eutektos*, que significa fácil derretimento, e que resulta em liquefação da mistura a composições específicas, representando problemas na aplicação de gorduras em que a consistência e o conteúdo de gordura sólida são importantes. Esta propriedade é caracterizada por diagramas de

fases que representam as condições de equilíbrio entre as fases líquida e sólida de um sistema. Este tipo de interação é também observado em misturas de gorduras e define um dos critérios para determinar o grau de compatibilidade entre as diferentes matérias-primas lipídicas (Bigalli, 1988).

No chocolate ao leite, este efeito é decorrente da incompatibilidade dos TAGs de médio ponto de fusão da gordura de leite e os TAGs simétricos da manteiga de cacau (Marangoni, 2002; Pajim e Jovanovic, 2005). As Figuras II.4 e II.5, apresentam os diagramas de iso-sólidos de misturas de gordura de leite/manteiga de cacau e fração da gordura de leite com alto ponto de fusão/manteiga de cacau. Uma formação eutética está evidente no sistema gordura de leite/manteiga de cacau (Figura II.4) enquanto que no sistema fração da gordura de leite com alto ponto de fusão/manteiga de cacau nenhum efeito eutético foi formado (Figura II.5).

A presença de leite no chocolate diminui o conteúdo de gordura sólida da mistura manteiga de cacau e gordura de leite, abaixa o ponto de fusão, deixa o chocolate com coloração clara e retarda o aparecimento do *fat bloom* (Timms, 2003). Os cristais da manteiga de cacau ficam mais estáveis na presença de gordura de leite, e a mistura destas gorduras é facilmente pré-cristalizada (Barna *et al.*, 1992).

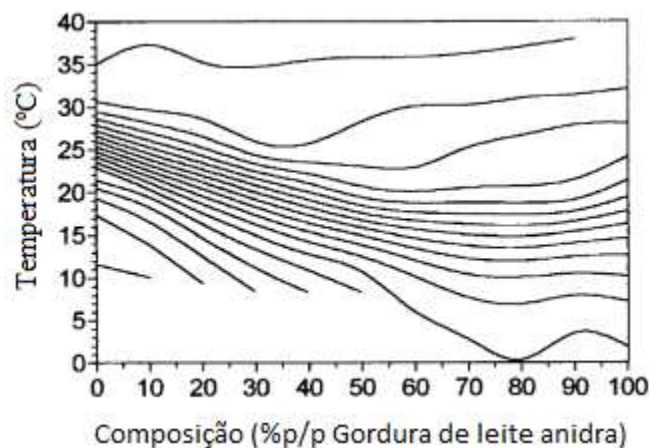


Figura II.4. Diagrama de iso-sólidos manteiga de cacau/gordura de leite (Marangoni, 2002).

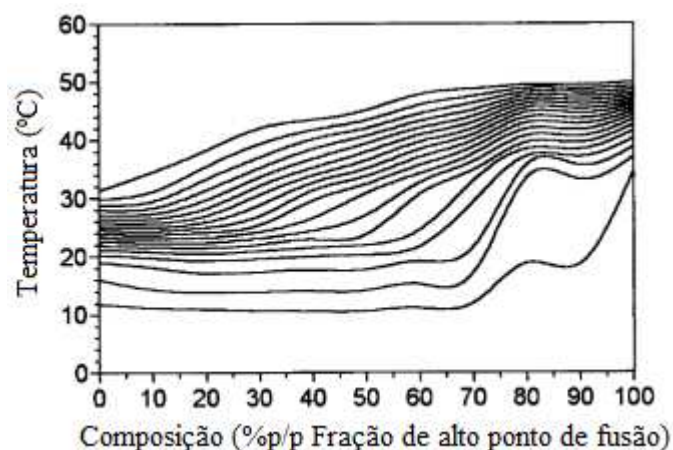


Figura II.5. Diagrama de iso-sólidos manteiga de cacau/fração de alto ponto de fusão da gordura de leite (Marangoni, 2002).

A fim de restringir os efeitos eutéticos no chocolate ao leite, a máxima concentração de gordura de leite no chocolate não deve ultrapassar 35%, calculado com base no total de gordura (Timms, 1980).

A adição de uma fração de gordura de leite com alto ponto de fusão aumenta o teor de sólidos totais, ou seja, aumenta o ponto de fusão e a dureza do produto, deixando o chocolate com bom *snap* em temperaturas mais altas, além de promover maior estabilidade ao *fat bloom*. A estearina de gordura de leite pode ser adicionada em qualquer proporção, pois não apresenta efeito eutético com a manteiga de cacau, diferentemente da gordura de leite natural (Marangoni, 2002). A elevada quantidade de gordura sólida presente nesta fração da gordura de leite diminui as transformações polimórficas, de modo a alcançar a forma polimórfica estável responsável pelo *fat bloom* (Pajim e Jovanovic, 2005).

II.4. Fracionamento térmico

A gordura de leite pode ter suas características físicas e químicas modificadas por processos de fracionamento, interesterificação ou hidrogenação (de Man 1961; Campbell *et al.*, 1969; Vasishtha *et al.*, 1970; Kaylegian *et al.*, 1993). A legislação que obriga o acesso à ampla informação, fez com que os consumidores ficassem mais exigentes, optando por alimentos sem

qualquer tratamento químico e que apresentem características naturais. Os processos mais aceitos baseiam-se na modificação física, que utiliza técnicas de fracionamento a seco, misturas com óleo vegetal (Ali e Dimick, 1994) e tratamentos térmicos (Kleyn, 1992).

A gordura de leite pode ser fracionada por extração supercrítica (Chen, 1992), por cristalização térmica ou pelo uso de solventes (Van Aken *et al.*, 1999). O fracionamento por tratamento supercrítico possui um alto custo, tornando-se inviável comercialmente (Lopez *et al.*, 2006). O uso de solventes no fracionamento torna o processo mais eficiente e facilita a separação das frações, necessitando de menor tempo do que no fracionamento a seco. Embora seja utilizado em processos com óleos vegetais, não é recomendado em aplicações alimentícias devido ao residual de solvente, perda dos compostos naturais de sabor e alto custo do processo de purificação. Nas indústrias de laticínios não é permitida a utilização de solventes orgânicos (Lopez *et al.*, 2006; Vanhoutte *et al.*, 2002).

Considerando as limitações impostas em processos comerciais de modificação da gordura de leite, a tecnologia de fracionamento térmico é a recomendada em indústrias de laticínios. Os problemas de funcionalidade e variação sazonal da gordura de leite são completamente ou quase que completamente resolvidos com este processo (Deffense, 1993). As vantagens em relação às outras técnicas são a ausência de solvente, custo moderado, equipamento simples e preservação do delicado sabor de gordura de leite (Fatouh *et al.*, 2003). Esta tecnologia envolve duas etapas principais: cristalização e separação, e na operação mais simplificada, resulta em duas frações com composições triacilglicerólicas e pontos de fusão distintos, conhecidas como oleína e estearina (Deffense, 1993).

A força motriz da nucleação é a supersaturação na cristalização, que pode ser conseguida com a progressiva redução da temperatura. O segundo passo é o crescimento dos cristais existentes, o que requer taxa de resfriamento linear e agitação controlada para garantir uma boa transferência de calor e massa, além de manter os cristais em suspensão (Deffense, 1993; Vanhoutte *et al.*, 2002).

Os parâmetros de processo que influenciam na composição química e nos atributos físicos das frações obtidas são a taxa de resfriamento, o nível de agitação e a temperatura de cristalização (Grall e Hartel, 1992; Deffense, 2000).

Em geral, todos os processos de cristalização são complexos e influenciados por diversos fatores. A cristalização da gordura de leite é ainda mais difícil por causa da sua complexa composição. A cristalização é influenciada pela intersolubilidade, co-cristalização, formação de cristais mistos (ou seja, que contem mais de uma espécie de triacilgliceróis), composição do óleo, polimorfismo e taxa de resfriamento. Estes fatores específicos agindo isoladamente ou em conjunto exigem conhecimento prévio para permitir o controle de uma boa cristalização e adequada separação (Deffense, 1993). Esta etapa ocorre em um determinado intervalo de tempo e as estruturas são consequentemente formadas pela cinética do processo afetadas pelo equilíbrio termodinâmico (Deffense, 1993).

Lopez *et al.* (2006) estudaram o fracionamento de gordura de leite à temperatura de 21 °C, com resfriamento lento e agitação de 3 rpm durante 24 horas. O resultado mostrou que todos os triacilgliceróis continuavam presentes em ambas as frações, mas em diferentes proporções. A fração estearina foi enriquecida com ácidos graxos saturados de cadeia longa e a oleína continha maior proporção de ácidos graxos insaturados e de cadeia curta.

Um estudo realizado por Vanhoutte *et al.* (2002) com gordura de leite mostrou que a variação da agitação de 11,5 a 14,5 rpm parece não ter influência na agregação dos cristais e que a variação do tempo de residência, 6 a 12 horas, afetou o custo de produção e as propriedades de fusão das frações obtidas. Quando a temperatura de fracionamento utilizada variou de 21 a 27 °C observou-se uma notável alteração no ponto de fusão das frações obtidas e uma grande influência no rendimento das mesmas. O estudo foi realizado com uma taxa de resfriamento baixa (não informada pelo autor), para induzir a formação de uma rede mais densa de cristais e, portanto menor oclusão de óleo. Nesse mesmo estudo a influência da agitação foi investigada variando a rotação de 13 a 25 rpm, e observou-se que uma alta agitação provoca um aumento de oclusão de óleo e um aumento no tempo de filtração, formando uma estearina mais macia devido à retenção de óleo. Isto pode ter acontecido porque uma alta taxa de cisalhamento rompe os cristais agregados. Contudo, o efeito da agitação é menos pronunciado em altas temperaturas de fracionamento (Vanhoutte *et al.* 2003).

A utilização de uma taxa de cristalização rápida para o fracionamento da gordura de leite produz uma rede de cristais impregnada com gordura líquida, além dos mesmos serem pequenos e numerosos. A rede de cristais, o tamanho e a distribuição influenciam a firmeza e a plasticidade

da gordura de leite. O resfriamento lento induz a formação de cristais grandes, na Forma β e β' , e em menor quantidade, facilitando a próxima etapa que é de separação (Kaylegian *et al.*, 1993, Marangoni, 2005).

A separação pode ser realizada por filtros de membranas, filtração à vácuo, prensagem e centrifugação, dando origem à fração cristalina (estearina) e à fração líquida (oleína).

A estearina sempre retém pequenas porções de oleína devido à formação de cristais mistos e a dificuldades no processo de separação. A oclusão de óleo ocorre devido à agregação das partículas cristalizadas, bem como à retenção de óleo entre estas (Deffense, 1993). Na separação por filtração à vácuo, a estearina arrasta de 60 a 70% de líquido (Deffense, 2000) e possui ponto de fusão entre 40 a 46 °C, dependendo da temperatura durante a filtração. As frações de gordura de leite com alto ponto de fusão têm sido amplamente utilizadas como gordura para a fabricação de massa folhada, na produção de chocolate para inibir a formação de *fat bloom*, na substituição de manteiga de cacau em produtos de confeitaria, em filmes comestíveis e em sobremesas congeladas (Bystrom e Hartel, 1994).

A outra fração da gordura de leite conhecida como oleína apresenta ponto de fusão entre 18 e 28 °C, dependendo da temperatura de filtração (Deffense, 1993). Em sua composição possui mais ácidos graxos de cadeia curta (C4 - C10) que são os que mais contribuem com o sabor (Kaylegian *et al.* 1993). Algumas aplicações para este tipo de fração podem ser na fabricação de biscoitos, manteiga em barra, pães macios e pão-de-queijo.

O fracionamento térmico apesar de ser um processo simples e barato, apresenta algumas desvantagens, como por exemplo, a obtenção de uma fração estearina com oleína ocluída dificultando a etapa de filtração, além de gerar uma estearina com baixo teor de sólidos. Outro inconveniente é a formação de cristais de diferentes morfologias durante a etapa de cristalização em detrimento à seletividade do fracionamento.

Para atenuar ou mesmo solucionar estes problemas do fracionamento térmico algumas modificações no processo são propostas. Uma das técnicas mais utilizadas é a adição de cristais de alto ponto de fusão, pois reduz o tempo de nucleação e aumenta a eficiência de separação da etapa final que é a filtração.

II.5. Adição de estearina

O processo de cristalização abrange a nucleação e o crescimento dos cristais. A fase de nucleação é a etapa mais importante no controle de cristalização da gordura e ocorre com a formação de agregados de moléculas que excederam um tamanho crítico e são, portanto, estáveis. Uma vez que um núcleo cristalino se formou, este começa a crescer pela inclusão de outras moléculas derivadas da camada de líquido adjacente (Boistelle, 1988).

Os mecanismos de nucleação podem ser classificados como primário e secundário, sendo a nucleação primária dividida em homogênea e heterogênea. A nucleação homogênea ocorre quando a rede de cristais é formada somente a partir de núcleos e o crescimento destes a partir da junção de espécies moleculares isoladas, que formam dímeros, trímeros e subsequentemente continuam o processo de acumulação até que um eventual núcleo estável possa ser formado dependendo das condições de temperatura e supersaturação. Este tipo de nucleação, entretanto, raramente ocorre sob as condições dos processos industriais. O mecanismo exato da nucleação heterogênea ainda não foi totalmente explicado, mas sabe-se que para que ocorra é requerida a presença de superfícies ou sítios catalíticos externos, como moléculas de composição diferenciada, que servem como redutores da barreira energética. Por último, a nucleação secundária consiste na formação de um novo núcleo na presença de cristais da mesma substância já existentes no sistema (Hartel, 2001). A presença de um cristal na solução supersaturada induz à formação de mais cristais que não se formariam espontaneamente e a temperatura de resfriamento fica acima do que seria necessário para a nucleação primária. Este tipo de nucleação é importante em suspensões de cristais, como no fracionamento de gorduras, no qual a agitação de sementes de cristais pode conduzir a esse tipo de nucleação.

A adição de sementes de cristal é uma técnica utilizada para facilitar a nucleação secundária e/ou melhorar o crescimento de cristais (Calliauw *et al.* 2010). Além de controlar a cristalização polimórfica de gorduras, aumenta consideravelmente a taxa de cristalização, é mais seletiva e diminui o tempo de fracionamento (Deffense, 2000). O fenômeno de nucleação secundária aparece principalmente em algumas misturas de triacilgliceróis, especialmente na gordura de leite.

O enriquecimento de gordura com TAGs de alto ponto de fusão também promove uma cristalização mais homogênea e seletiva. Os primeiros núcleos são formados por estes TAGs, que

se desenvolvem na forma polimórfica mais estável e conduz o crescimento destes da mesma maneira.

Poucos trabalhos de fracionamento térmico com adição de estearina foram encontrados na literatura e eles abordavam o tema na linha de gorduras vegetais especialmente sobre óleo de palma (Calliauw *et al.* 2010, Bootello *et al.* 2011). Não foram encontradas pesquisas a respeito de adição de estearina no processo de fracionamento térmico com gordura de leite anidra.

CAPÍTULO III. MATERIAIS E MÉTODOS

III.1. Materiais

III.1.1. Matéria-prima

A gordura de leite utilizada nesta pesquisa foi doada pela empresa Fonterra (Goiânia – GO). A gordura foi armazenada em baldes de 20 litros e mantida em congelador a -10 °C. Ao ser usada, toda a gordura armazenada em cada balde foi aquecida a 65 °C, homogeneizada e dividida em potes de 2 litros fechados e estocados a -10 °C.

Para a fabricação do chocolate ao leite foram utilizados:

- manteiga de cacau desodorizada da empresa Barry Callebaut Brasil S.A. (Ilhéus - BA)
- *liquor* de cacau natural fornecido pela Barry Callebaut Brasil S.A. (Ilhéus - BA)
- leite em pó desnatado Tangará Foods (Vila Velha – ES)
- açúcar cristal Mais Doce (Limeira – SP)
- gordura de leite anidra da Fonterra (Goiânia – GO)
- lecitina de soja Solec CN (92% de fosfolipídios), fornecida pela Solae do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda (Esteio - RS)
- poliricinoleato de poliglicerol (PGPR) 90 Grindsted, fornecido pela Danisco Brasil Ltda (Pirapozinho– SP).

Todos esses ingredientes foram armazenados em câmara climatizada a 25 °C, exceto o PGPR que foi conservado em geladeira a 5 °C.

III.2. Análises químicas e físicas

Os métodos analíticos descritos a seguir foram aplicados na caracterização da manteiga de cacau, gordura de leite e suas frações e das amostras de chocolate ao leite.

III.2.1. Manteiga de cacau, gordura de leite e suas frações

III.2.1.1. Análises químicas

a) Composição em ácidos graxos: as amostras foram esterificadas segundo o método de Hartman e Lago (1973) e depois analisadas de acordo com o método AOCS Ce 2-66 (AOCS, 2004) em cromatógrafo gasoso capilar Agilent 6850 – EUA, com coluna DB 23 (50% cianopropil-metil polisiloxano), de 60 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm. O cromatógrafo foi operado nas seguintes condições: temperatura do detector de 280 °C e do injetor de 250 °C. A temperatura do forno foi programada da seguinte forma: 110 °C (5 min), de 110 a 215 °C (5 °C/min), 215 °C (24 min). O gás de arraste utilizado foi o hélio, com razão *split* 1:50 e o volume da amostra injetado foi 1,0 µL. A composição foi determinada por comparação dos tempos de retenção dos picos com os dos respectivos padrões de ácidos graxos e sendo a normalização de área dos picos expressa como porcentagem em massa. As análises foram realizadas em duplicata.

b) Composição triacilglicerólica: esta análise também foi determinada utilizando um cromatógrafo gasoso capilar Agilent 6850 – EUA, com coluna DB- 17HT (50% fenil-metil polisiloxano), de 15 m de comprimento e diâmetro interno de 0,25 mm. Foram utilizadas as seguintes condições de operação: temperatura do detector de 375 °C e do injetor de 360 °C. A temperatura do forno foi programada da seguinte forma: de 250 a 340 °C (5 °C/min). O gás de arraste utilizado foi o hélio em vazão de 1,0 mL/min; volume da amostra injetado foi 1,0 µL e a concentração da amostra foi de 20 mg/mL em tetrahidrofurano. A identificação dos grupos de triacilgliceróis foi realizada por meio da comparação dos tempos de retenção, segundo os procedimentos de Antoniosi Filho *et al.* (1995). As análises foram realizadas em duplicata.

III.2.1.2. Análises físicas

a) Teor de gordura sólida: a determinação do teor de gordura sólida foi realizada de acordo com AOCS – Método Oficial Cd 16b-93: método direto, leitura das amostras em série, com temperagem para gorduras estabilizadas e não estabilizadas (AOCS, 2004). A análise foi realizada em espectrômetro de ressonância magnética nuclear Minispec mq20 (Bruker,

Alemanha), com auxílio de banhos secos de alta precisão (0 – 70 °C) TCON 2000 (Duratech, EUA). As determinações foram realizadas em duplicata.

b) Isoterma de cristalização: as amostras foram fundidas e mantidas em banho seco de alta precisão (TCON 2000 – Duratech, EUA) a 60 °C para a completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por espectrômetro de ressonância magnética nuclear, Minispec mq20 (Bruker, Alemanha), com compartimento de leitura estabilizado à temperatura de cristalização (Campos, 2005). A aquisição de dados foi automática, com medidas a cada minuto. As determinações foram realizadas em duplicata.

c) Comportamento térmico: as curvas de fusão e cristalização foram determinadas por Calorímetro Diferencial de Varredura (Differential Scanning Calorimeter – DSC-7 Perkin Elmer - Alemanha), do tipo fluxo de calor, com *software* acoplado, seguindo a metodologia de Marangoni (2005). As determinações foram realizadas em duplicata.

d) Viscosidade aparente: no final do processo de cristalização da gordura de leite foi retirada uma amostra para a determinação da viscosidade aparente em um Reômetro programável BROOKFIELD, modelo RVDIII, EUA, com adaptador para pequena quantidade de amostra. Foi utilizado o *spindle* do tipo cilíndrico S15 a uma rotação de 20 rpm (a mesma utilizada no fracionamento). A temperatura do sistema foi mantida na mesma temperatura de cristalização do ensaio de fracionamento segundo o planejamento experimental. A determinação da viscosidade aparente de gorduras é uma forma simples de monitorar o andamento do processo, tal como foi feito por Ruscheinsky (2005), com gordura de cupuaçu durante o fracionamento térmico.

e) Difração de Raio X: a forma polimórfica dos cristais foi determinada por difração de Raios-X, segundo o método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2004). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710), utilizando a geometria Bragg-Bretano ($\theta:2\theta$) com radiação de Cu-K α ($\lambda = 1,54056\text{\AA}$, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de $0,02^\circ$ em 2θ e tempo de aquisição de 2 segundos, com *scans* de 5 a 40° (escala 2θ). A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir dos *short spacings* característicos dos cristais. Os teores dos diferentes tipos de cristais foram estimados pela intensidade relativa dos *short spacings* (AOCS, 2004).

III.2.2. Chocolate ao leite

III.2.2.1. Análises físicas

a) Diâmetro máximo de partículas: as amostras foram analisadas utilizando um micrômetro digital MITUTUYO (JAPÃO), com escala de 0 – 25 mm, calibrado antes de cada medida. As amostras foram dispersas em óleo mineral puro Nujol[®] até atingirem consistência homogênea (Luccas, 2001). Foram feitas 10 medidas durante a etapa de refino.

b) Viscosidade plástica e limite de escoamento de Casson: as propriedades reológicas das amostras foram determinadas em um Reômetro programável da marca BROOKFIELD, modelo RVDIII, com adaptador para pequenas amostras de chocolate acoplado a um banho termostaticado a $40 \pm 0,5$ °C. O *spindle* utilizado foi cilíndrico (especificação: S15). O método utilizado para as medidas seguiu o programa de rotações apresentado por Vissotto *et al.* (1999). Os dados experimentais de taxa e tensão de cisalhamento foram correlacionados de acordo com o modelo, e os parâmetros de Casson determinados por regressão linear. As determinações foram realizadas em triplicata.

c) Teor de Umidade: 0,05 a 0,1 grama de chocolate foi dissolvido em uma solução de clorofórmio:metanol, na proporção de (1:1) e determinado pelo equipamento Karl Fischer (Metrohm, modelo 901 titrando com dosador automático 800 Dosino), segundo a metodologia ASTM E 203-96 (Bruttel e Schlink, 2003). Os resultados apresentados são a média de três repetições.

d) Grau de cristalização: esta determinação foi realizada com a massa de chocolate pré-cristalizada usando um Temperímetro Sollich (Alemanha) modelo E3. Este equipamento quantifica o nível de cristalização do chocolate através da curva de solidificação (ou resfriamento) que relaciona a quantidade de calor latente de cristalização liberado durante a solidificação da massa de chocolate (Luccas, 2001). O índice de temperagem entre 4 e 6 é considerado adequado para um chocolate adequadamente temperado, sendo o grau 5 o ideal. Índice abaixo de 4 indica sub-temperagem e acima de 6 sobretemperagem.

e) Tensão de ruptura ou *snap test*: as amostras de chocolate foram submetidas a este ensaio em um texturômetro universal TA-XT2i, da Stable Micro Systems (Inglaterra), com o probe HDP/3PB – *Three Point Bend Rig*, segundo metodologia proposta por Jorge *et al.* (1999), e

adaptada por Luccas (2001). A força máxima de ruptura aplicada no centro das barras, expressa em kgf, foi avaliada através do registro da curva força *versus* deformação. A fim de evitar a influência de possíveis diferenças de espessura das barras de chocolate, os valores da força obtidos em cada ensaio foram divididos pela área de secção transversal de cada barra e a tensão de ruptura foi expressa em kgf/cm².

f) Cor: esta medida foi realizada na superfície de barras de chocolate ao leite para estudo da estabilidade ao *fat bloom*. A coloração dos chocolates foi determinada por um colorímetro Hunterlab/Colorquest II (EUA), e as leituras foram realizadas em sistema CIELAB (L*, a* e b*). Os valores de L*, a* e b*, foram transformados em Índice de Brancura (WI), de acordo com a Equação IV.1 (Lohman e Hartel, 1994) e usado para monitorar a estabilidade ao *fat bloom*. Quanto mais alto o valor deste índice, mais branca é a cor da superfície e, portanto, maior o desenvolvimento do *fat bloom*. Cada barra de chocolate foi lida 10 vezes para assegurar que toda a superfície do produto fosse determinada. Os testes foram realizados quatro vezes, totalizando 40 leituras.

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0.5} \quad (IV.1)$$

g) Microscopia eletrônica de varredura (MEV): foram capturadas imagens da superfície dos chocolates em microscópio de bancada, TM-3000 (Hitachi High Technologies America, Inc), conforme metodologia descrita por Afoakwa *et al.* (2009). As barras de chocolates eram cortadas em pequenos pedaços de aproximadamente 1 x 2cm e colocadas no suporte de amostras. A rede cristalina foi observada no modo Analy, com aumentos de 1000 vezes. As imagens das modificações resultantes da cristalização foram feitas em duplicatas e processadas pelo *software* Image-Pro Plus v 7.01 (Media Cybernetics, Inc).

III.3. Análises estatísticas

a) Análise de variância (ANOVA): foi aplicada para verificar se os fatores exerceram alguma influência em na variável dependente. Esta análise foi realizada no planejamento experimental do fracionamento térmico convencional da gordura de leite anidra, utilizando *software* Statistica 7.

b) Teste de Tukey: este teste foi aplicado para comparação das médias com 95% de confiança, na viscosidade plástica de Casson, limite de escoamento de Casson, teor de umidade, tamanho de partículas e tensão de ruptura (snap) dos chocolates ao leite, utilizando *software Statistica 7*.

III.4. Processos

Os processos de fracionamento térmico da gordura de leite anidra, da fabricação do chocolate ao leite e de adição de estearina no processo de fracionamento térmico são descritos a seguir.

III.4.1. Fracionamento térmico

III.4.1.1. Equipamentos

O sistema de fracionamento, em conjunto com os equipamentos utilizados no processo são mostrados na Figura III.1 e descritos a seguir:

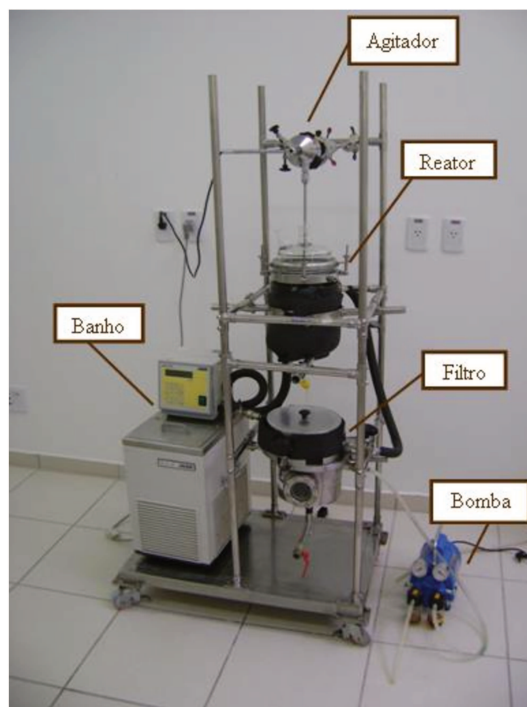


Figura III.1. Fotografia do sistema de fracionamento.

- Reator de vidro encamisado marca Geraetebau (Alemanha), com fundo cônico, 23 cm de altura, 14,5 cm de diâmetro e capacidade de 2 litros. O reator foi isolado com uma manta térmica de 13 mm envolvendo o vaso para evitar perda de calor,
- Agitador mecânico digital, com pá tipo âncora em aço inoxidável com 20 cm de diâmetro e revestida em *teflon*,
- Banho termostático com programador/controlador digital de temperatura marca Lauda, modelo RC 6CP, Alemanha, com resolução de 0,01 °C,
- Sistema de filtração a vácuo de aço inoxidável AISI 304, com 25,13 cm² de área filtrante, corpo superior encamisado, corpo inferior com visor e disco perfurado para suporte do papel de filtro,
- Bomba de vácuo marca Primatec,
- Suporte tubular sobre rodas para a sustentação do sistema,
- Termômetro da marca Gulton, modelo Gulterm 180, com resolução de 0,1 °C.

III.4.1.2. Processo de fracionamento térmico

Cada ensaio de fracionamento foi realizado com lotes de 2 kg de gordura de leite anidra. Com base em referências bibliográficas (Vanhoutte *et al.*, 2002; Lopez *et al.*, 2006) foram pré-definidos a velocidade de agitação durante o fracionamento (20 rpm), o tipo de filtro e o vácuo aplicado durante a filtração.

O fluxograma do processo de fracionamento térmico tradicional está apresentado na Figura III.2. A gordura congelada foi derretida em forno a microondas, tomando-se os devidos cuidados para que a temperatura não ultrapassasse 65 °C. Essa gordura líquida foi colocada no reator permanecendo sob agitação a 20 rpm por 15 minutos a 60 °C. Depois desse tempo, a temperatura do banho foi abaixada a uma taxa de resfriamento pré-determinada pelo planejamento experimental (Tabela III.1) até atingir a temperatura de cristalização desejada. O tempo de permanência na temperatura de cristalização foi definido através das curvas de isotermas da gordura de leite, levantadas previamente em cada temperatura de fracionamento.

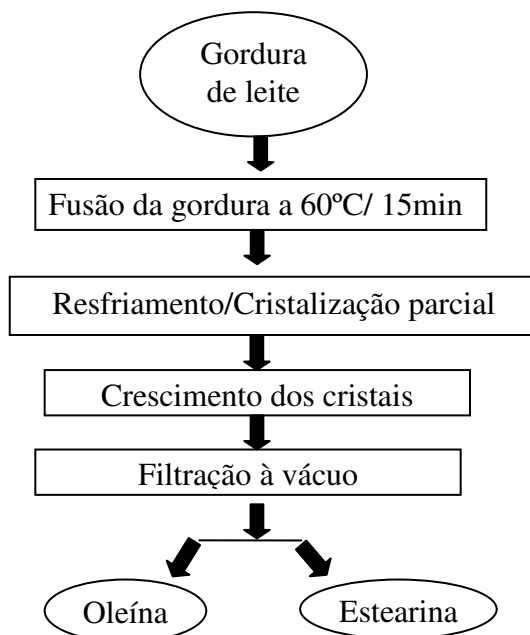


Figura III.2. Fluxograma do processo de fracionamento térmico da gordura de leite anidra.

A filtração foi realizada à vácuo, sob pressão absoluta de 500 mmHg. A estearina foi retida pelo papel de filtro da marca Quality com diâmetro de poro de 14 μm e a oleína fluíu para o corpo inferior do sistema de filtração. As duas frações foram recolhidas e armazenadas em recipientes a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior caracterização. A Figura III.3 exibe o sistema de separação.



(a)



(b)

Figura III.3. Fotografia do sistema de filtração: (a) com o papel de filtro e (b) com a estearina obtida no ensaio de fracionamento térmico F2.

A determinação da viscosidade aparente da massa cristalizada de gordura de leite durante o fracionamento foi a maneira encontrada para controlar e finalizar o processo.

Os ensaios foram realizados ao longo de um período de 3 meses. Os primeiros ensaios em cada condição de operação pré-determinada serviram apenas para criar uma rotina de trabalho, sobretudo acompanhar a viscosidade aparente da massa cristalizada até alcançar o tempo de residência determinado pelas curvas de isotermas. Esta determinação foi conduzida a fim de observar a variação da viscosidade aparente da massa com o tempo e principalmente determinar seu valor ao final do tempo de residência. A análise da viscosidade aparente é realizada com a retirada de uma amostra da massa cristalizada de dentro do reator de cristalização, sendo que seu último valor foi determinado cerca de 1 minuto antes de iniciar a filtração. Além disso, em cada situação era preciso aprender a estabelecer a temperatura de cristalização, que flutuava devido as diferentes taxas de cristalização. Alguns ensaios foram descartados devido ao descontrole na manutenção de temperatura, umidade relativa e ventilação da sala.

III.4.1.3. Planejamento experimental

Para o fracionamento da gordura de leite foi utilizado um planejamento fatorial 2^2 com três pontos centrais e pontos axiais. As variáveis independentes foram a temperatura de cristalização e a taxa de resfriamento, e obteve-se como respostas a composição em ácidos graxos saturados, o teor de sólidos a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) e a diferença do teor de sólidos a 25 °C e 35 °C ($\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$). A análise estatística foi realizada com o *software Statistic 7.0*.

Os valores dos pontos axiais da temperatura de cristalização e taxa de resfriamento foram definidos em testes preliminares. A Tabela III.1 mostra as condições dos ensaios realizados e os respectivos valores das variáveis independentes. A sequência dos fracionamentos foi realizada conforme sorteio dos ensaios, com os pontos centrais distribuídos no começo, meio e fim (F1, F5 e F11).

Tabela III.1. Planejamento experimental dos ensaios simples de fracionamento.

Ensaio	variável 1	variável 2	T de cristalização (°C)	Taxa de resfriamento (°C/hora)
F1	0	0	24,0	12,5
F2	α	0	27,0	12,5
F3	$-\alpha$	0	21,0	12,5
F4	-1	1	21,9	17,8
F5	0	0	24,0	12,5
F6	0	α	24,0	20,0
F7	1	-1	26,1	7,2
F8	1	1	26,1	17,8
F9	-1	-1	21,9	7,2
F10	0	$-\alpha$	24,0	5,0
F11	0	0	24,0	12,5

No presente trabalho, os 11 ensaios de fracionamento tiveram a denominação, variando de F1 a F11. A oleína obtida em cada um dos ensaios teve a denominação correspondente (de O1 a O11), assim como a estearina (de E1 a E11).

III.4.2. Fabricação de chocolate

III.4.2.1. Formulação do chocolate ao leite

O chocolate ao leite foi fabricado segundo a formulação apresentada na Tabela III.2, e considerada como “chocolate padrão”.

Para a produção do chocolate ao leite contendo estearina foi utilizada a mesma formulação do chocolate ao leite padrão, com exceção da gordura de leite anidra que foi integralmente substituída pela estearina de gordura de leite, E2.

Tabela III.2. Formulação do chocolate ao leite padrão.

Ingredientes	%
Açúcar cristal moído*	45,0
Manteiga de cacau desodorizada	19,2
Leite em pó desnatado	17,3
<i>Liquor</i> de cacau natural	15,0
Gordura de leite anidra	3,0
Lecitina de soja	0,3
Poliricinoleato de poliglicerol - PGPR	0,2
Total	100,0
Total de gordura	30,0

* Peneira 3,2 mm

III.4.2.2. Processo de fabricação do chocolate ao leite

O fluxograma de fabricação de chocolate ao leite é mostrado na Figura III.4. Primeiramente os ingredientes em pó foram misturados à temperatura de 45 °C em um misturador da marca INCO (Alemanha), com capacidade de 5 kg. Em seguida, foi adicionado *liquor* de cacau derretido, gordura de leite e parte da manteiga de cacau. O teor de gordura total da massa nesta etapa foi de 20%, pois essa proporção deixa a mesma com uma consistência plástica ideal para a etapa de refino.

A massa que saiu do misturador foi refinada em refinador DRAISWERK GMBH (Alemanha), composto de três cilindros horizontais de aço carbono e resfriados internamente com água fria. Os cilindros foram ajustados de forma que a massa atingisse diâmetro de partículas entre 20 e 25 µm. Esta faixa de valores é ideal para a produção de chocolate, pois valores menores que 20 µm fazem com que a viscosidade do chocolate aumente, dificultando a temperagem, e com valores acima de 25 µm é possível que as partículas sejam perceptíveis durante a degustação. O acompanhamento do tamanho máximo das partículas foi feito com micrômetro digital MITUTOYO, com amostras retiradas de diferentes pontos do refinador.

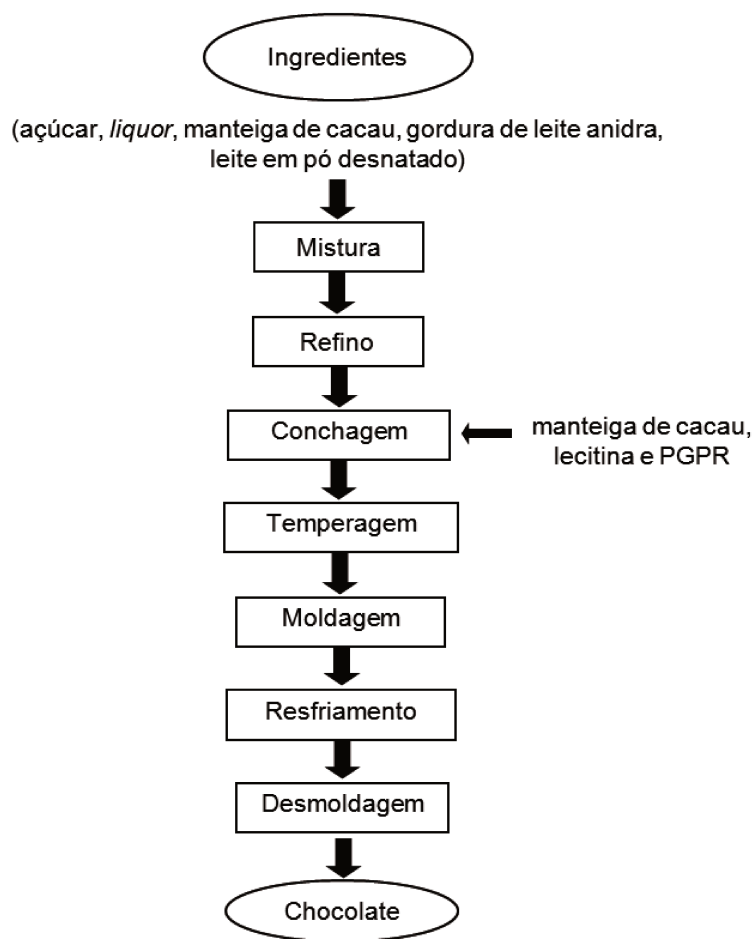


Figura III.4. Fluxograma do processo de fabricação do chocolate ao leite.

Seguindo as etapas do processo, a próxima fase foi a conchagem da massa de chocolate juntamente com o restante da manteiga de cacau, a qual foi realizada em um misturador encamisado INCO (Alemanha), Figura III.5. Cada batelada de 5 kg foi conchada a 60 °C, durante 24 horas. Uma hora antes do final da conchagem foram adicionados os emulsificantes.

Ao término da etapa de conchagem, 4 kg de massa de chocolate eram colocados em uma temperadeira semi-industrial da marca Jafinox (Brasil), com capacidade para 8 kg. A massa de chocolate foi resfriada em aproximadamente 10 min, de 45 °C até a temperatura de 26 °C para o chocolate ao leite padrão e a 26,5 °C para o chocolate ao leite com estearina, e mantida nesta temperatura durante 23 min. Reddy *et al.* (1996) mostraram em seu trabalho que massas de chocolate que contem fração de gordura de leite de alto ponto de fusão exigem temperatura de cristalização ligeiramente mais altas.



Figura III.5. Misturador da marca INCO (Alemanha).

Cada ciclo de temperagem foi realizado com quatro quilos de massa de chocolate ao leite. Houve a necessidade de fazer 4 ciclos de temperagem devido:

- à quantidade insuficiente de formas de policarbonato para moldar 4 kg de chocolate, já que havia apenas 10 formas de policarbonato,
- o Índice de temperagem foi medido durante o preenchimento da 5ª forma de policarbonato com chocolate pré-temperado. Dependendo do grau de temperagem obtido, os chocolates fabricados com as formas anteriores ou superiores a 5ª forma eram submetidos a um novo ciclo de temperagem.

Dessa forma, foram obtidos 4 Índices de Temperagem atingidos estavam entre 4 e 6, ou seja, valores adequados para o controle de temperagem do chocolate. A média de valores dos Índices de Temperagem foi de 5,05 para o chocolate ao leite padrão e 4,25 para o chocolate ao leite com estearina.

O chocolate pré-cristalizado, ainda fluido, foi vertido em moldes de policarbonato e submetido à vibração em mesa vibratória Jafinox, para a retirada de bolhas de ar. Os moldes preenchidos foram resfriados em um túnel de resfriamento SIAHT, modelo TRS de oito metros de extensão com temperatura de entrada e saída de 18 °C e no centro do túnel de 12 °C, para cada ciclo ou passagem de 16 min.

Os chocolates foram retirados dos moldes manualmente, embalados em papel chumbo e armazenados sob temperatura controlada ($20 \pm 0,5$ °C) durante 7 dias, para completar a formação da rede cristalina.

As barras de chocolate produzidas com gordura de leite e com a fração estearina obtida no ensaio de fracionamento F2 (considerada a mais apropriada) foram avaliadas em relação à estabilidade ao *fat bloom*, resistência térmica e observações da estrutura cristalina. Uma parte de cada tipo de chocolate foi armazenada em uma estufa B.O.D. (Novatecnica) temperatura constante de 20 °C simulando uma condição ideal e a outra parte em outra estufa B.O.D. (EletroLab) que foi submetida a ciclos de temperatura (variando entre 20 °C e 32 °C) a cada período de 24 horas, para acelerar a formação do *fat bloom* (Aguilera et al., 2004, Graef, 2005). Após os primeiros 15 dias de armazenamento nestas duas condições, as determinações de cor, *snap* e imagens começaram a ser realizadas, sendo esta data referida como tempo zero.

III.4.2.3. Estudo da estabilidade ao *fat bloom*

O monitoramento das alterações de cor foi realizado a cada 15 dias. A avaliação da estabilidade ao *fat bloom* foi realizada por um período de aproximadamente 210 dias.

III.4.2.4. Estudo da resistência mecânica

Para o estudo de resistência mecânica, amostras de chocolate ao leite em barras foram submetidas à tensão de ruptura (*snap test*) a cada 15 dias. O monitoramento se manteve por um período de aproximadamente 150 dias.

III.4.2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Observações da microestrutura da rede cristalina da superfície do chocolate começaram a ser exploradas recentemente e raríssimos trabalhos foram encontrados a respeito do assunto (Afoakwa et al., 2009; Dahlenborg et al., 2011). Esta pesquisa acompanhou variações da estrutura cristalina do chocolate ao leite com o decorrer do tempo, um tema novo e essencial para

compreender a formação de *fat bloom* neste produto. As imagens da superfície do chocolate foram realizadas a cada 30 dias para avaliar alterações na rede cristalina.

III.4.3. Adição de estearina de gordura de leite anidra

Com a intenção de reduzir o tempo de processo no fracionamento térmico da gordura de leite foi avaliada a influência da adição de estearina de gordura de leite no processo de fracionamento. Para este estudo foi utilizado a estearina de maior conteúdo de sólidos obtida com base no planejamento experimental, ou seja, fração estearina E2, como será discutido posteriormente. A estearina foi produzida em ensaios planejados especificamente para este fim, realizados no máximo dois dias antes do ensaio de fracionamento térmico com inoculação. Esta estearina foi mantida a 25 °C até seu uso.

A descrição geral do processo de fracionamento foi apresentada no fluxograma da Figura III.2. No caso do Fracionamento F2, a temperatura de cristalização foi de 27 °C, taxa de resfriamento de 12,5 °C/h, rotação de 20 rpm e tempo de cristalização de 3 horas, que corresponde à situação na qual a viscosidade aparente atingiu 250 cP. Todos os ensaios de fracionamento térmico com adição de estearina foram realizados em duplicata.

Para o ensaio de adição de cristais foram utilizadas diferentes porcentagens de estearina, 1, 5 e 10% em relação à massa total de gordura de leite anidra. Dois métodos de inoculação foram considerados:

- Adição na etapa da mistura: a estearina fundida foi adicionada à gordura de leite logo no início do processo, toda a massa era então aquecida a 60 °C e depois resfriada. Neste caso, a estearina atuaria como acelerador de cristalização por aumentar a concentração de TAGs de alto ponto de fusão na massa. Estes triacilgliceróis cristalizam primeiro e funcionariam como núcleos para acelerar a cristalização. Este método, nesta tese, recebe a denominação de “formulação”.

- Semeadura: a estearina foi adicionada ao processo quando a gordura de leite já estava resfriada a 27 °C (temperatura de cristalização do Fracionamento F2). Diversas tentativas foram feitas para inocular esta estearina devido às dificuldades no manuseio e homogeneização dentro do equipamento decorrente de sua consistência pastosa. A melhor maneira aqui encontrada foi a retirada de uma quantidade de gordura de leite do sistema (assim que esta atingia a temperatura

de cristalização pré-fixada) que serviu de veículo para misturar a estearina de forma homogênea. Logo em seguida, esta mistura retornava ao restante no reator.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

IV.1. Caracterização das matérias-primas

IV.1.1. Composição em ácidos graxos

Na Tabela IV.1 é apresentada a composição dos principais ácidos graxos identificados na manteiga de cacau e na gordura de leite anidra utilizadas nesta pesquisa. Como os valores da tabela foram renormalizados, os ácidos graxos da gordura de leite não identificados correspondem a no máximo 7%, e não foram incluídos na tabela. Observa-se uma grande diferença no perfil dos ácidos graxos encontrados na gordura de leite em relação ao da manteiga de cacau.

A manteiga de cacau apresentou aproximadamente 61% de ácidos graxos saturados, principalmente o palmítico e o esteárico, enquanto o ácido oleico foi o insaturado predominante, com 35%. Estes dados são compatíveis com os resultados encontrados por Marangoni (2002) e Ribeiro *et al.* (2012).

A gordura de leite tem cerca de 67% de ácidos graxos saturados, sendo os principais, o ácido palmítico, esteárico e mirístico e 33% de insaturados, principalmente o ácido oleico. O ácido butírico, (C4:0), que normalmente corresponde de 3 a 4% e é característico da gordura de leite, não foi identificado nestas determinações devido à alta temperatura utilizada durante a análise no CG. Comparando estes resultados com os encontrado por Marangoni (2002) que realizou seu trabalho com a gordura de leite anidra dos Estados Unidos da América, e levando em consideração a ausência da identificação do ácido butírico, observou-se que a gordura de leite brasileira tem maior quantidade de ácido palmítico e uma diferença ainda maior na quantidade de ácido oleico que a encontrada na gordura de leite dos Estados Unidos. O ácido palmítico tem ponto de fusão de 62,9 °C, enquanto que o do ácido oleico é de 16 °C. A combinação destes ácidos graxos para compor os triacilgliceróis pode caracterizar a dureza da gordura de leite nacional. Confrontando estes dados com a pesquisa de Shi *et al.* (2001), que analisou a composição em ácidos graxos da gordura de leite dos Estados Unidos, Nova Zelândia, Alemanha e Irlanda, em nenhuma delas foi encontrada uma quantidade de ácido oleico tão alta quanto a quantificada no presente trabalho.

Tabela IV.1. Composição em ácidos graxos (%) das matérias-primas.

Ácido Graxo	Manteiga de cacau	Manteiga de cacau (Marangoni, 2002)	Gordura de leite anidra	Gordura de leite anidra (Marangoni, 2002)
C4:0	-	-	-	4,51
C6:0	-	-	1,49	3,12
C8:0	-	-	1,10	1,64
C10:0	-	-	2,57	3,86
C10:1	-	-	-	0,80
C12:0	-	-	3,18	4,07
C14:0	-	-	11,34	10,97
C14:1	-	-	-	1,88
C15:0	-	0,10	1,27	1,46
C16:0	26,78	26,20	32,44	28,72
C16:1	-	0,20	2,05	3,12
C17:0	-	-	0,91	0,40
C18:0	34,04	35,10	12,53	10,44
C18:1	35,06	34,30	28,21	20,91
C18:2	3,58	3,50	1,97	1,85
C18:3	-	-	0,53	1,65
C20:0	0,54	0,60	0,23	0,60
C20:1	-	-	0,17	-
Σ saturados	61,44	62,00	67,07	69,79
Σ insaturados	38,56	38,00	32,93	30,21
Total	100,00	100,00	100,00	100,0

IV.1.2. Composição triacilglicerólica

As composições da manteiga de cacau e da gordura de leite em triacilgliceróis são apresentadas na Tabela IV.2. Observa-se que a manteiga de cacau possui apenas triacilgliceróis de cadeia longa, enquanto que na gordura de leite, embora seja diversificada, prevalecem os

triacilgliceróis de cadeia longa (Σ 42–56). A manteiga de cacau caracterizada por Marangoni (2002) apresentou maior quantidade de C54, o que indica que ela é mais dura que a manteiga de cacau utilizada nesta pesquisa devido ao alto ponto de fusão destes triacilgliceróis.

Tabela IV.2. Composição triacilglicerólica das matérias-primas.

Número de carbono	Manteiga de cacau	Manteiga de cacau (Marangoni, 2002)	Gordura de leite anidra	Gordura de leite anidra (Marangoni, 2002)
C 22	-	-	-	0,22
C 24	-	-	-	0,83
C 26	-	-	0,33	0,37
C 28	-	-	0,59	0,60
C 30	-	-	0,88	1,04
C 32	-	-	2,11	2,64
C 34	-	-	5,70	6,40
C 36	-	-	13,38	14,04
C 38	-	-	17,30	14,73
C 40	-	-	10,45	10,78
C 42	-	-	6,84	7,69
C 44	-	-	6,34	6,91
C 46	-	-	4,66	7,42
C 48	-	0,1	7,96	8,63
C 50	19,85	16,5	11,47	9,60
C 52	47,23	45,8	8,84	6,42
C 54	31,86	36,1	3,15	1,68
C 56	1,06	1,5	-	-
Σ 22 - 34	-	-	9,61	12,10
Σ 36 - 40	-	-	41,13	39,55
Σ 42 - 56	100,00	100,00	49,25	48,35
Total	100	100	100	100

A gordura de leite apresenta 49,25% de triacilgliceróis de cadeia longa, 41,13% de triacilgliceróis de cadeia média, e 9,61% de triacilgliceróis de cadeia curta, sendo que a pesquisa de Marangoni (2002) mostrou cerca de 48, 39 e 12% para as respectivas classe de compostos. Uma comparação entre os valores apresentados nestes dois trabalhos permite considerar a gordura de leite brasileira mais dura devido à superior quantidade de TAGs de cadeia longa (caracterizados por possuir alto ponto de fusão) e inferior quantidade de TAGs de cadeia curta (caracterizados por apresentar baixo ponto de fusão). A maior diferença entre as duas gorduras de leite foi encontrada em C38, C46 e C50. No trabalho de Shi *et al.* (2001), que analisaram a composição triacilglicerólica da gordura de leite de vários países, não foi encontrada uma quantidade tão alta de C38 e nem tão baixa de C46 como a da gordura nacional. Como a gordura de leite sofre alterações na composição devido ao clima, nutrição e raça do animal, entre outros, essa diferença da composição obtida entre valores da literatura é aceitável. Mais determinações são necessárias para correlacionar estas composições com diferenças nas propriedades físicas e térmicas. No geral, a gordura de leite apresentou uma maior quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa, seguida de uma menor quantidade de triacilgliceróis de cadeia média e uma pequena quantidade de triacilgliceróis de cadeia curta.

IV.1.3. Curva de sólidos

Curvas do conteúdo de gordura sólida podem quantificar diversos parâmetros físicos das gorduras, dentre estes, o valor do conteúdo de gordura sólida a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) que representa a dureza da gordura ou sua fragilidade, segundo Leissner *et al.* (1991). A presença de sólidos em temperaturas superiores a 35 °C ($S_{35^{\circ}\text{C}}$) é conhecida como residual gorduroso e é facilmente detectada durante a degustação. Assim, para que a manteiga de cacau possa ser utilizada na fabricação de chocolate, ela deve ser dura e quebradiça a temperatura ambiente, com conteúdo de gordura sólida (CGS) superior a 50% a 25 °C; além de não apresentar residual ceroso, característica associada a valores significativos de CGS acima de 35 °C (Ribeiro *et al.*, 2012). Considera-se que com 4% de sólidos, uma gordura encontra-se no estado líquido, ou seja, não existe fração sólida residual (Karabulut *et al.*, 2004; Ribeiro *et al.*, 2009). Outra informação muito importante que pode ser extraída da curva de sólidos é a variação do conteúdo de gordura

sólida de 25 °C a 35 °C ($\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$), que está relacionada com o perfil de derretimento da gordura na boca, associado com a sensação de frescor e desprendimento do sabor.

Os resultados de teor de gordura sólida nas referentes temperaturas podem apresentar um desvio de 1% devido o erro de análise do próprio equipamento. Na Figura IV.1 estão traçadas as curvas de sólidos da manteiga de cacau e da gordura de leite anidra utilizadas nesta pesquisa. Pode-se observar que a manteiga de cacau contem 51% de gordura sólida a 25 °C, e por esse motivo é considerada dura. A 35 °C o teor de gordura sólida é de 0,41 não apresentando um residual ceroso, e o $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ é de 50,3%. A gordura de leite na temperatura ambiente (25 °C) tem 12,30% de sólidos, o que a caracteriza como uma gordura macia. A 35 °C o teor de sólidos é de 1,48%, também não indicando cerosidade e o $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ é de 10,83%.

Comparando o $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ das duas gorduras pode-se observar que a manteiga de cacau apresenta um perfil de derretimento na boca maior, ou seja, se funde mais rápido do que a gordura do leite.

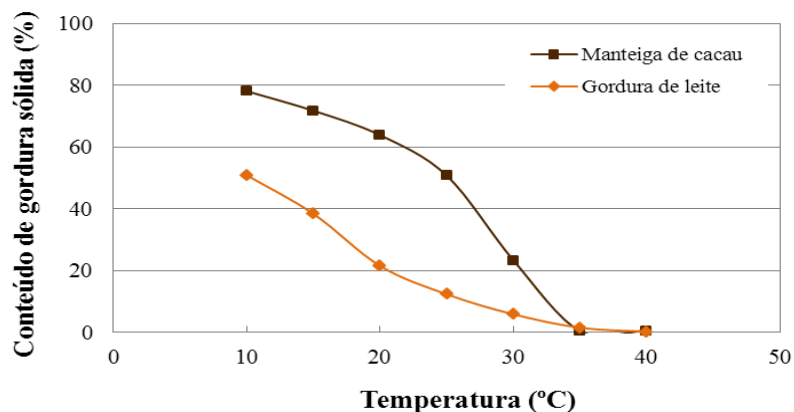


Figura IV.1. Curva de sólidos das matérias-primas em função da temperatura.

IV.1.4. Isoterma de cristalização

O levantamento das isotermas de cristalização permite definir o comportamento de cristalização dos lipídios através de índices experimentais, como o teor máximo de sólidos $\text{CGS}_{(\infty)}$, que é o conteúdo final de equilíbrio de gordura sólida conforme o tempo tende ao

infinito, e o tempo de indução (τ_{CGS}) que é o tempo necessário para que um núcleo estável de tamanho crítico seja formado na fase líquida na temperatura do ensaio (McGauley e Marangoni, 2002). A Figura IV.2 apresenta as isotermas de cristalização da manteiga de cacau e da gordura de leite a 15 °C e a Tabela IV.3 exibe alguns parâmetros relevantes retirados da Figura IV.2.

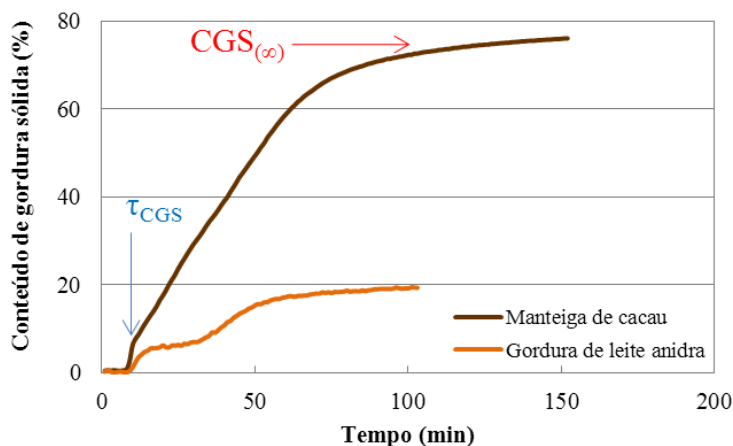


Figura IV.2. Isoterma de cristalização da manteiga de cacau e da gordura de leite a 15 °C.

Tabela IV.3. Tempo de indução, τ_{CGS} , e teor máximo de sólidos, $CGS_{(\infty)}$, da manteiga de cacau e da gordura de leite, a 15 °C.

Parâmetros Estearinas	τ_{CGS} (min)	$CGS_{(\infty)}$
Manteiga de cacau	9	72,59
Gordura de leite	10	18,05

O tempo de indução (τ_{CGS}) foi praticamente o mesmo para as duas gorduras e um $CGS_{(\infty)}$ de cerca de 73% para a manteiga de cacau e 18% para a gordura de leite foram encontrados. O teor máximo de gordura sólida obtido para a manteiga de cacau está próximo do observado no equilíbrio por fusão a 15 °C, mas o da gordura de leite é bem inferior (Figura IV.1). Esta diferença no comportamento da gordura de leite pode ser atribuída à histerese. A curva de sólidos é determinada com a amostra cristalizada que aos poucos é derretida, comprometendo a

destruição do histórico cristalino enquanto que a isoterma parte da amostra fundida, que é resfriada até a cristalização. Adicionalmente, a composição da gordura de leite é muito complexa, pois possui diversos componentes minoritários, que são conhecidos por dificultar a nucleação.

A fim de operacionalizar os ensaios de fracionamento, foram levantadas as isotermas da gordura de leite nas cinco temperaturas de cristalização especificadas no planejamento experimental, isto é, 21, 22, 24, 26 e 27 °C. O padrão de curvas obtido permitiu estimar o tempo necessário para atingir o teor máximo de sólidos do processo, e são apresentados na Figura IV.3 e Tabela IV.4.

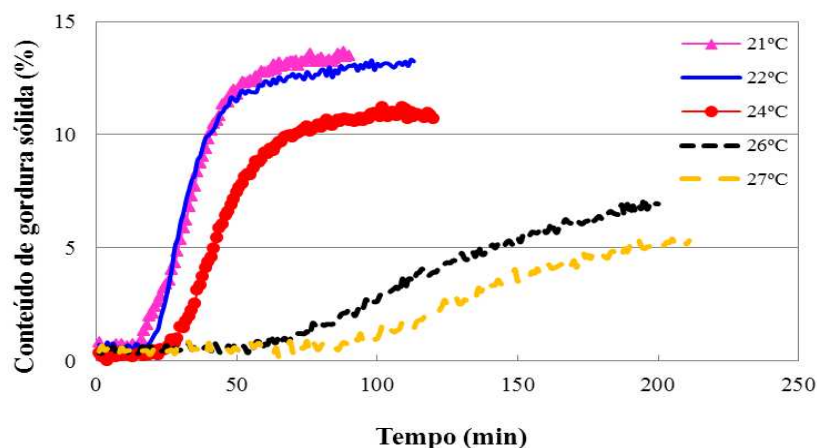


Figura IV.3. Isoterma de cristalização da gordura de leite em temperaturas correspondentes às dos ensaios de fracionamento.

Estas curvas indicam que o aumento da temperatura de cristalização da gordura do leite anidra aumenta o tempo de indução e diminui o teor máximo de sólidos. Esta é uma tendência típica em determinações deste tipo realizadas em sistemas lipídicos. A inspeção da forma das curvas indica o tempo necessário para atingir a estabilidade do conteúdo de gordura sólida. As seguintes combinações tempo/temperatura para o fracionamento foram obtidas das curvas da Figura V.3: 90 min a 21 °C; 100 min a 21,9 °C; 120 min a 24 °C; 180 min a 26,1 °C e também na temperatura de 27 °C.

A definição do tempo de cristalização foi uma das dificuldades encontradas em todos os ensaios de fracionamento. Vários ensaios preliminares foram realizados e controlados através da determinação da viscosidade aparente. Observou-se a necessidade de adotar um tempo suficiente para a formação e crescimento dos cristais, atingindo assim a estabilidade na etapa de cristalização. O tempo aqui referido mostrou-se suficiente, pois os valores da viscosidade aparente da massa cristalizada também se estabilizaram nestas condições mostrando uma sinergia entre os mecanismos.

A Tabela IV.4 apresenta o tempo de indução e o teor máximo de sólidos da gordura de leite anidra determinados a diferentes temperaturas. O tempo de indução aumenta com o aumento da temperatura, e um aumento drástico foi observado quando a temperatura subiu de 24 °C para 26 °C. O teor máximo de sólidos aumenta com a diminuição da temperatura, pois baixas temperaturas favorecem a cristalização de uma maior quantidade de triacilgliceróis.

Tabela IV.4. Tempo de indução, τ_{CGS} , e teor máximo de sólidos, $\text{CGS}_{(\infty)}$, da gordura de leite.

T (°C)	Parâmetros	
	τ_{CGS} (min)	$\text{CGS}_{(\infty)}$
21	17	13,09
22	20	11,78
24	29	10,24
26	70	6,49
27	70	4,80

IV.1.5. Comportamento térmico

As curvas de cristalização e fusão da manteiga de cacau e da gordura de leite obtidas por DSC são apresentadas na Figura IV.4 e os valores de T_{onset} , $T_{\text{máx}}$, T_{final} e entalpia da manteiga de cacau e gordura de leite, obtidos das respectivas curvas, são listados na Tabela IV.5.

A cristalização da manteiga de cacau começou à temperatura de 21,6 °C e terminou em -3,9 °C, com dois picos exotérmicos nas temperaturas de 16,9 °C e 14,4 °C. A curva de fusão

mostrou que a manteiga de cacau começou a se liquefazer na temperatura de $-1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e terminou em $29,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ com pico máximo em $20,3\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A curva de cristalização da gordura de leite inicia-se em $20,1\text{ }^{\circ}\text{C}$ e termina em $-29,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ apresentando 2 picos exotérmicos a $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $12,5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Em uma pesquisa realizada por meio da difração de raio-X por Ten Grotenhuis *et al.* (1999), os autores sugeriram que o primeiro pico está relacionado à cristalização dos triacilgliceróis de alto ponto de fusão na Forma α , e o segundo pico da cristalização dos triacilgliceróis de baixo ponto de fusão, também na Forma α . A curva de fusão da gordura de leite apresenta 3 picos endotérmicos. A fusão inicia-se em $-16,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e termina em $37,7\text{ }^{\circ}\text{C}$. O comportamento térmico de fusão desta gordura foi estudado por Lopez (2001) que concluiu que o primeiro pico é o derretimento do polimorfo α das frações de baixo e médio ponto de fusão (LMF e MMF), e entre o primeiro e o segundo pico existe uma transformação dos cristais α em β' . A maioria dos triacilgliceróis que sofre esta transformação correspondia às frações de médio e alto ponto de fusão (MMF e HMF). O terceiro pico é o da fusão dos cristais mistos β' dos triacilgliceróis de alto e médio ponto de fusão.

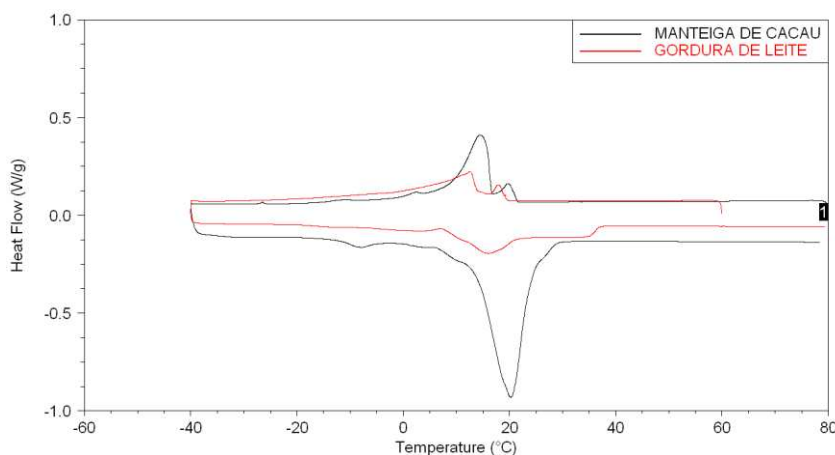


Figura IV.4. Curvas de cristalização e fusão da manteiga de cacau e da gordura de leite obtidas por DSC.

Comparando as curvas da Figura IV.2 e da Figura IV.4 da gordura de leite, observa-se que ocorre uma transição de fase na isoterma de cristalização (ou seja, um novo patamar de CGS

é estabelecido) próxima aos 21 minutos, e essa transição está presente na curva de cristalização realizada por DSC, que exibe dois picos exotérmicos próximo da mesma temperatura (15 °C).

A manteiga de cacau também sofre essa transição de fase como mostra a análise de DSC, mas sua visualização não foi possível na isoterma da Figura IV.2 porque a isoterma de cristalização foi realizada na temperatura de 15 °C. Em alguns trabalhos, como o de McGauley e Marangoni (2002) a isoterma de cristalização foi levantada à temperatura de 17,5 °C, e esse comportamento de transição de fases foi detectado.

Os valores de entalpia (Tabela IV.5) mostram que a manteiga de cacau necessita de maior energia durante a cristalização do que a gordura de leite. Isso provavelmente ocorre porque esta possui apenas triacilgliceróis de cadeia longa e que se cristalizaram na Forma β . O processo inverso (comportamento de fusão) também precisa de maior energia para a destruição destes cristais já que estes estão na forma mais estável.

Tabela IV.5. Valores de T_{inicial} , $T_{\text{máx}}$, T_{final} e Entalpia da manteiga de cacau e gordura de leite.

Comportamento	Matéria-prima	T_{inicial} (°C)	$T_{\text{máx}}$ (°C)	T_{final} (°C)	Entalpia (J/g)
Cristalização	Manteiga de cacau	21,6	14,4	-3,9	71,8
	Gordura de leite	20,1	12,5	-29,4	63,6
Fusão	Manteiga de cacau	-1,1	20,3	29,4	75,4
	Gordura de leite	-16,2	16,1	37,7	72,2

IV.2. Fracionamento térmico

Os ensaios de fracionamento térmico da gordura de leite anidra foram realizados segundo o planejamento experimental especificado no Capítulo IV, e reapresentado na Tabela IV.6.

Tabela IV.6. Planejamento experimental dos ensaios simples de fracionamento.

Ensaio	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11
Variável 1	0	α	$-\alpha$	-1	0	0	1	1	-1	0	0
Variável 2	0	0	0	1	0	α	-1	1	-1	$-\alpha$	0
T _{cris} (°C)	24,0	27,0	21,0	21,9	24,0	24,0	26,1	26,1	21,9	24,0	24,0
T _{xresfr} (°C/hora)	12,5	12,5	12,5	17,8	12,5	20,0	7,2	17,8	7,2	5,0	12,5

IV.2.1. Composição em ácidos graxos das frações oleína e estearina da gordura de leite anidra

Os ácidos graxos constituem as unidades básicas dos lipídeos e sua determinação é fundamental para o conhecimento da qualidade dos óleos. O ponto de fusão dos ácidos graxos aumenta com o aumento da cadeia, mas diminui com o aumento do número de insaturações. Isso ocorre porque a configuração "cis" das duplas ligações dobra-se inviabilizando um empacotamento firme e diminuindo a superfície de contato fatores que dificultam a agregação das moléculas.

A Tabela IV.7 exibe a composição em ácidos graxos da oleína obtida em cada ensaio de fracionamento térmico e a compara com a gordura de leite anidra. Confrontando a composição em ácidos graxos das frações oleína e da gordura de leite anidra observa-se que em todos os ensaios de fracionamentos a concentração de ácidos graxos saturados diminuiu e a concentração de ácidos graxos insaturados aumentou. Este resultado indica que um grau de separação sempre foi alcançado e está de acordo com o objetivo da operação e com outros estudos já realizados, como de Vanhoutte *et al.* (2003).

A oleína O3 foi a que apresentou maior quantidade de ácidos graxos insaturados e menor quantidade de saturados. Este fracionamento ocorreu com a T_{cris} de 21 °C e T_{xresf} de 12,5 °C/h.

Tabela IV.7. Composição em ácidos graxos da gordura de leite anidra e das frações oleína obtidas nos onze ensaios de fracionamento térmico, indicados na Tabela IV.6.

Ácido Graxo	Gordura de leite	Oleína										
		O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11
C6:0	1,49	1,78	2,03	2,72	1,98	1,67	2,90	1,61	1,76	1,19	3,05	1,78
C8:0	1,10	1,10	1,37	1,74	1,26	1,07	1,74	1,18	1,31	1,01	1,88	1,26
C10:0	2,57	2,35	2,99	3,39	2,55	2,35	3,40	2,65	2,99	2,44	3,71	2,79
C12:0	3,18	3,11	3,41	3,44	3,16	2,91	3,56	3,14	3,67	3,06	3,89	3,25
C14:0	11,34	9,89	10,91	9,80	10,14	10,59	11,20	10,72	10,50	10,37	11,63	10,97
C15:0	1,27	1,11	1,17	1,03	1,12	1,20	1,21	1,19	1,11	1,13	1,22	1,21
C16:0	32,44	30,11	29,58	26,67	29,62	30,78	29,62	30,64	28,70	30,90	29,32	30,40
C16:1	2,05	1,93	2,17	1,94	1,96	2,20	2,08	2,30	2,08	2,25	1,82	2,23
C17:0	0,91	0,90	0,82	0,72	0,84	0,89	0,85	0,86	0,78	0,79	0,75	0,87
C18:0	12,53	12,55	10,77	9,31	10,90	11,34	10,71	11,28	10,55	10,33	10,11	11,15
C18:1	28,21	31,35	29,78	33,96	31,57	31,26	30,08	30,59	30,36	31,57	29,42	30,52
C18:2	1,97	2,91	3,24	3,53	4,20	2,68	2,05	2,77	4,92	3,95	2,38	2,56
C18:3	0,53	0,60	1,42	1,43	0,52	0,65	0,38	0,71	0,90	0,65	0,49	0,66
C20:0	0,23	0,19	0,18	0,16	0,19	0,20	0,21	0,17	0,19	0,18	0,16	0,17
C20:1	0,17	0,12	0,18	0,17	0,00	0,20	0,00	0,20	0,20	0,19	0,16	0,19
Σ sat	67,07	63,09	63,22	58,98	61,75	63,01	65,40	63,42	61,54	61,39	65,73	63,84
Σ insat	32,93	36,91	36,78	41,02	38,25	36,99	34,60	36,58	38,46	38,61	34,27	36,16
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

A composição em ácidos graxos das frações estearina é apresentada na Tabela IV.8. Observa-se que a composição em ácidos graxos da estearina tem um comportamento complementar ao da oleína em relação à gordura de leite, pois, conforme esperado, aumenta a quantidade de ácidos graxos saturados e diminui a de ácidos graxos insaturados.

O fracionamento F10 obteve a estearina com maior conteúdo de ácidos graxos saturados e menor conteúdo de insaturados. Este fracionamento térmico foi realizado com T_{crist} de 24 °C e T_{xresf} de 5 °C/h. A baixa taxa de resfriamento provavelmente favoreceu a formação de cristais sem oclusão de oleína, facilitando a etapa de filtração.

Tabela IV.8. Composição em ácidos graxos da gordura de leite anidra e das frações estearina obtidas nos onze ensaios de fracionamento térmico, conforme Tabela IV.6.

Ácido Graxo	Gordura de leite	Estearina										
		E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
C6:0	1,49	0,81	1,19	1,02	1,35	1,30	1,68	0,96	1,18	1,27	1,26	1,67
C8:0	1,10	0,53	0,89	0,69	0,88	0,83	1,06	0,69	0,91	0,95	0,95	1,05
C10:0	2,57	2,11	2,17	1,74	2,06	1,99	2,32	1,76	2,10	2,33	2,36	2,39
C12:0	3,18	3,06	2,94	2,63	2,81	2,77	2,97	2,62	2,38	3,09	3,13	3,17
C14:0	11,34	11,22	10,88	10,54	10,76	11,29	9,71	10,85	9,53	11,47	11,73	11,23
C15:0	1,27	0,86	1,24	1,23	1,24	1,33	1,07	1,29	1,02	1,30	1,33	1,27
C16:0	32,44	35,05	34,17	33,28	33,08	34,97	32,22	35,12	34,58	34,05	34,87	33,61
C16:1	2,05	1,10	1,72	1,72	1,71	1,36	1,16	1,64	1,28	1,76	1,75	1,33
C17:0	0,91	0,70	0,94	0,93	0,93	1,01	0,75	1,00	0,76	0,95	0,97	0,91
C18:0	12,53	15,55	14,56	13,87	13,98	15,04	13,12	15,34	13,61	14,10	14,49	14,61
C18:1	28,21	26,09	25,08	27,57	27,55	25,79	28,12	25,49	27,57	25,28	24,13	25,73
C18:2	1,97	2,03	3,18	3,68	2,76	1,66	4,78	2,31	3,97	2,46	2,14	2,24
C18:3	0,53	0,39	0,65	0,65	0,62	0,31	0,52	0,49	0,67	0,56	0,44	0,35
C20:0	0,23	0,32	0,26	0,27	0,26	0,24	0,32	0,28	0,30	0,27	0,28	0,28
C20:1	0,17	0,19	0,15	0,17	0,00	0,12	0,21	0,16	0,14	0,17	0,15	0,16
Σ sat	67,07	70,20	69,23	66,21	67,35	70,76	65,21	69,91	66,38	69,78	71,38	70,19
Σ insat	32,93	29,80	30,77	33,79	32,65	29,24	34,79	30,09	33,62	30,22	28,62	29,81
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

IV.2.2. Composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina da gordura de leite anidra

A composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina obtidas nos ensaios de fracionamento são apresentadas nas Tabelas IV.9 e IV.10 respectivamente.

Em relação à composição da gordura de leite anidra a composição das frações oleína mostra um aumento da concentração de triacilgliceróis de cadeia média e uma diminuição de triacilgliceróis de cadeia longa, enquanto que as frações estearina tiveram uma diminuição dos triacilgliceróis de cadeia curta e média e um aumento bastante acentuado da quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa.

Tabela IV.9. Composição triacilglicerólica da gordura de leite anidra e das frações oleína obtidas nos onze ensaios de fracionamento térmico, conforme Tabela IV.6.

N° de carbono	Gordura de leite	Oleína										
		O1	O2	O3	O4	O5	O6	O7	O8	O9	O10	O11
C 26	0,33	0,53	0,60	0,68	0,80	0,69	0,62	0,61	0,62	0,74	0,56	0,62
C 28	0,59	0,36	0,26	0,52	0,56	0,49	0,42	0,46	0,42	0,50	0,46	0,55
C 30	0,88	0,65	0,62	0,79	0,83	0,77	0,76	0,74	0,70	0,94	0,66	0,71
C 32	2,11	1,97	1,79	2,20	2,34	2,24	1,97	1,96	1,77	2,41	1,82	2,11
C 34	5,70	5,71	5,75	6,81	6,63	6,23	6,44	5,52	5,41	6,47	5,24	5,59
C 36	13,38	14,10	13,90	14,89	15,66	13,61	14,73	13,62	14,15	16,71	13,10	15,62
C 38	17,30	16,80	17,42	18,54	18,62	18,03	17,67	16,59	16,92	18,37	18,29	16,59
C 40	10,45	13,33	13,90	10,05	9,45	10,02	9,46	12,74	11,26	9,88	9,79	9,08
C 42	6,84	7,27	6,88	5,72	5,13	5,64	5,05	6,80	6,58	6,56	7,43	7,98
C 44	6,34	5,09	6,30	4,12	4,24	4,12	6,92	6,41	7,30	5,04	7,66	7,60
C 46	4,66	5,71	3,94	2,77	2,80	2,72	2,69	2,63	3,06	2,49	3,28	2,35
C 48	7,96	4,66	4,55	5,52	6,08	5,91	5,35	5,22	5,94	5,30	5,58	5,58
C 50	11,47	10,00	10,06	12,01	9,09	11,42	11,27	10,22	9,96	7,10	9,99	9,78
C 52	8,84	10,83	10,93	11,51	12,26	11,76	11,24	11,48	10,76	12,14	10,72	10,92
C 54	3,15	3,00	3,13	3,89	5,53	6,36	5,43	5,01	5,15	5,36	5,43	4,92
Σ C26 - C34	9,61	9,22	9,01	11,00	11,16	10,42	10,20	9,28	8,92	11,19	8,73	9,58
Σ C36 - C40	41,13	44,23	45,21	43,48	43,72	41,66	41,86	42,95	42,33	41,71	41,18	41,30
Σ C42 - C54	49,25	46,56	45,78	45,53	45,13	47,92	47,95	47,77	48,76	47,10	50,10	49,13
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Comparando a composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina de um mesmo fracionamento, observa-se que a fração estearina sofreu uma diminuição dos triacilgliceróis de cadeia curta e média, e um aumento muito expressivo dos triacilgliceróis de cadeia longa. Estas características confirmam que houve uma separação, e que foram produzidos dois produtos com particularidades químicas bem distintas.

Os valores mais altos de triacilgliceróis de cadeia longa foram obtidos em E7 e E10 (Tabela IV.10), e correspondem aos fracionamentos que utilizaram as taxas de resfriamento mais lentas durante o resfriamento, 7,2 e 5 °C/h, respectivamente. Quando a cristalização ocorreu de forma lenta (com baixa taxa de resfriamento) os cristais se formaram e se desenvolveram melhor, de maneira que diminuísse a oclusão de gordura líquida nos cristais, facilitando a etapa de filtração e obtendo uma estearina com alto ponto de fusão.

Tabela IV.10. Composição triacilglicerólica da gordura de leite anidra e das frações estearina obtidas nos onze ensaios de fracionamento térmico, conforme Tabela IV.6.

Nº de carbono	Gordura de leite	Estearina										
		E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11
C 26	0,33	0,44	0,43	0,44	0,48	0,46	0,44	0,41	0,37	0,40	0,60	0,46
C 28	0,59	0,28	0,34	0,30	0,35	0,27	0,29	0,30	0,28	0,22	0,20	0,26
C 30	0,88	0,51	0,46	0,56	0,57	0,53	0,52	0,50	0,46	0,50	0,42	0,47
C 32	2,11	1,39	1,34	1,52	1,51	1,40	1,39	1,26	1,29	1,34	1,26	1,48
C 34	5,70	3,90	3,99	4,54	4,69	4,24	4,08	3,77	3,56	4,50	3,51	4,16
C 36	13,38	10,23	8,83	9,57	9,48	9,23	8,97	8,60	9,28	9,96	9,11	8,94
C 38	17,30	11,04	11,13	13,78	13,10	12,46	12,88	11,58	11,28	11,67	10,81	12,37
C 40	10,45	10,66	8,85	6,80	7,85	7,12	8,46	6,70	8,85	8,85	8,97	8,06
C 42	6,84	7,60	7,01	8,94	7,58	7,49	8,42	8,34	7,07	6,97	7,76	8,10
C 44	6,34	6,97	7,16	9,11	8,76	8,32	8,47	7,68	9,00	7,54	9,15	8,74
C 46	4,66	6,94	8,10	8,20	6,93	7,30	7,69	7,37	7,42	6,99	7,67	7,43
C 48	7,96	9,95	10,90	10,74	10,83	9,97	10,14	10,84	9,75	10,22	10,25	10,50
C 50	11,47	14,85	16,02	10,30	11,52	15,21	13,42	16,31	15,16	13,87	14,43	14,06
C 52	8,84	11,18	12,39	10,42	11,95	12,31	11,39	12,21	12,12	12,13	11,21	10,59
C 54	3,15	4,08	3,07	4,78	4,40	3,70	3,44	4,15	4,12	4,86	4,67	4,38
Σ C26 - C34	9,61	6,52	6,55	7,37	7,61	6,89	6,72	6,24	5,96	6,95	5,98	6,83
Σ C36 - C40	41,13	31,92	28,81	30,14	30,43	28,81	30,31	26,87	29,41	30,47	28,88	29,37
Σ C42 - C54	49,25	61,57	64,65	62,49	61,97	64,30	62,97	66,89	64,64	62,56	65,12	63,81
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

IV.2.3. Curva de sólidos

Na Figura IV.5 estão traçadas as curvas de sólidos das oleínas obtidas em cada ensaio de fracionamento e também a da gordura de leite anidra para facilitar uma comparação. Pode-se observar que as curvas das frações oleína de todos os ensaios estão abaixo da curva da gordura de leite anidra, confirmando a eficácia do processo de fracionamento nas condições estudadas.

As curvas de sólidos O3, O4 e O9 foram as que apresentaram menor teor de gordura no estado sólido em todas as temperaturas de ensaio, ou seja, as frações oleína com consistência mais macia. Estas frações foram obtidas nos fracionamentos com as menores temperaturas do planejamento experimental, isto é, 21 °C para O3 e 21,9 °C para O4 e O9. Era de se esperar que para estes ensaios uma fração estearina dura deveria ter sido obtida, fato que não foi constatado. A baixa consistência na estearina destes ensaios foi devido a grande quantidade de triacilgliceróis

que se cristaliza nestas temperaturas e também a alta quantidade de oleína que foi ocluída nesta fração durante a etapa de cristalização, resultando em uma estearina mais macia, ou seja, com baixo conteúdo de gordura sólida.

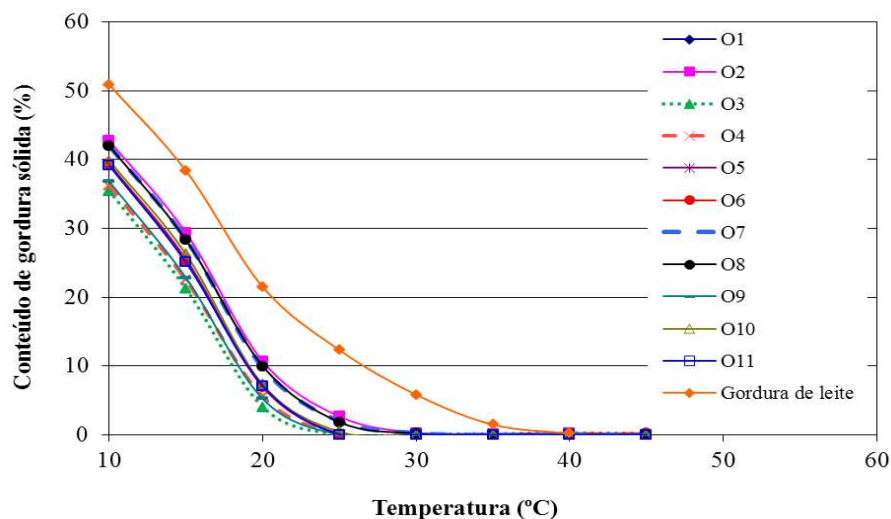


Figura IV.5. Curva de sólidos das frações oleína obtidas em cada ensaio e da gordura de leite, em função da temperatura.

As curvas de sólidos das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento e a da gordura de leite são comparadas na Figura IV.6. Nota-se que a curvas de sólidos de todas as frações estearina obtidas estão acima da curva da gordura de leite, confirmando a constatação de que o fracionamento foi bem sucedido.

Todos os ensaios de fracionamento realizados com a mesma taxa de resfriamento mostraram que o conteúdo de gordura sólida aumenta com o aumento da temperatura de cristalização tanto para as frações oleína como para as estearinas.

As frações E2 e E7, obtidas com as temperaturas de cristalização mais altas, 26,1 °C e 27 °C, respectivamente foram as que apresentaram maiores conteúdos de gordura sólida. Esse fato é plausível, pois em altas temperaturas de cristalização apenas triacilgliceróis de alto ponto de fusão se solidificam, promovendo um aumento no teor de gordura sólida.

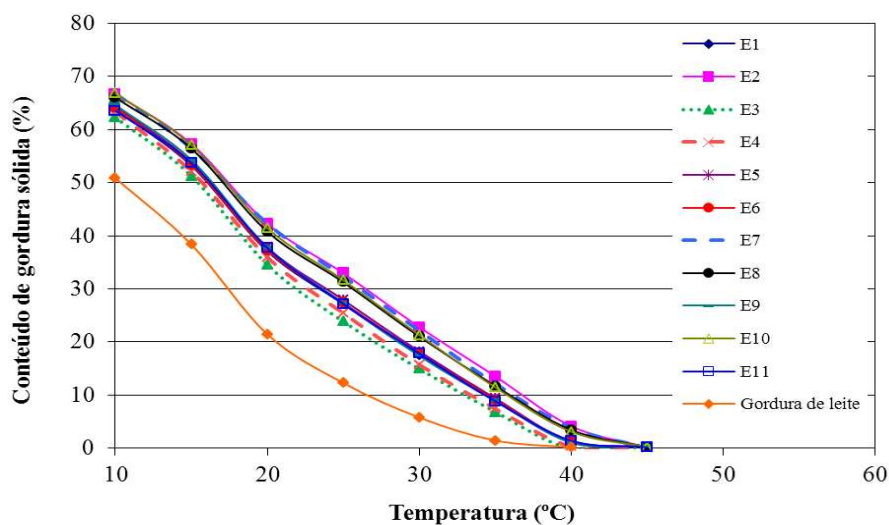


Figura IV.6. Curva de sólidos das frações estearinas obtidas em cada ensaio e da gordura de leite, em função da temperatura.

A Tabela IV.11 apresenta o teor de sólidos das frações estearina a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) e 35 °C ($S_{35^{\circ}\text{C}}$) e a diferença do teor de gordura sólida entre estas temperaturas, $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$. Observa-se que E2, E7, E8 e E10 apresentaram maior teor de sólidos a 25 °C, a 35 °C e o $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$, apresentando cerosidade.

As estearinas E3 e E4 apresentaram o menor teor de sólidos a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$), a 35 °C ($S_{35^{\circ}\text{C}}$) e a diferença entre estes, $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$. Estes ensaios foram realizados com as temperaturas de cristalização mais baixas, 21 e 21,9 °C e taxa de resfriamento de 12,5 e 17,8 °C/h, respectivamente. Devido ao alto teor de gordura sólida, as frações estearinas obtidas nos ensaios E2, E7, E8 e E10 possuem uma consistência mais dura, do que as estearinas E3 e E4, que podem ser consideradas macias.

Tabela IV.11. Teor de sólidos das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento térmico a 25 °C, 35 °C e $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$.

Fração estearina	Teor de sólidos		
	S _{25°C}	$\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$	S _{35°C}
E1	27,1	18,2	9,0
E2	33,0	19,4	13,6
E3	23,9	17,0	6,9
E4	25,4	18,0	7,5
E5	27,9	18,5	9,4
E6	27,4	18,2	9,2
E7	32,3	20,1	12,2
E8	31,3	19,5	11,8
E9	27,3	18,4	8,9
E10	31,7	20,2	11,5
E11	27,2	18,3	8,9

IV.2.4. Isoterma de cristalização das frações

O levantamento das isotermas de cristalização na temperatura de 15 °C foi realizado com o intuito de comparação entre as frações obtidas em cada ensaio de fracionamento. Para as frações oleína não foi detectada nenhuma gordura sólida. As oleínas obtidas em todos os fracionamentos, portanto, eram completamente líquidas a 15 °C. Esta determinação também foi realizada para as frações estearina e os resultados obtidos estão na Figura IV.7.

Observa-se, pela disposição das curvas, que as frações estearina E2 e E7 foram as que obtiveram maior conteúdo máximo de gordura sólida e correspondem aos ensaios realizados com a temperatura de cristalização mais alta, 27 °C e 26,1 °C, respectivamente. Estes mesmos ensaios também foram destacados na análise de teor de sólidos, consolidando a influência da temperatura de cristalização nas propriedades físicas da fração estearina. Da mesma forma as estearinas E3 e E4 apresentaram o menor conteúdo máximo de gordura sólida como pode ser observado na curva de sólidos.

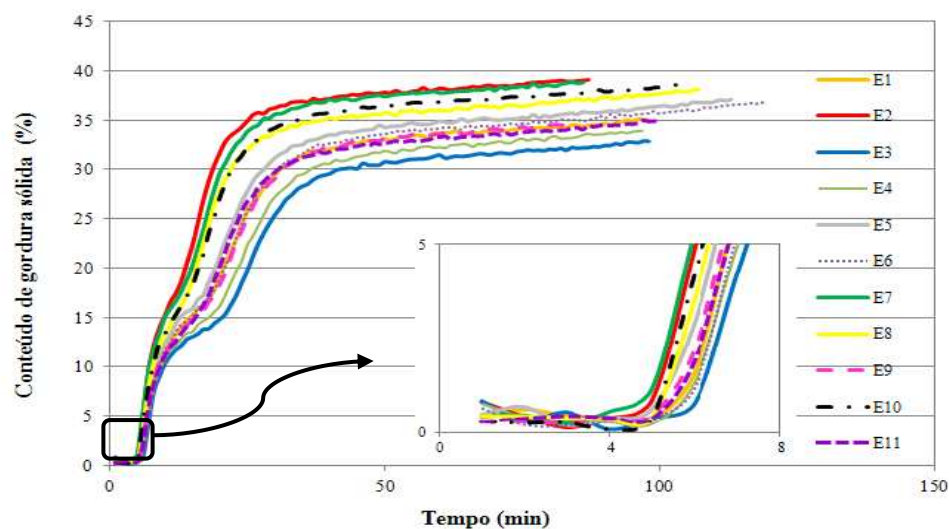


Figura IV.7. Isoterma de cristalização das estearinas à temperatura de 15 °C.

A Tabela IV.12 indica que o tempo de indução foi muito próximo para todas as frações estearina obtidas.

Tabela IV.12. Tempo de indução, τ_{CGS} , e teor máximo, $\text{CGS}_{(\infty)}$, de sólidos das frações estearina a 15 °C.

Estearinas	Parâmetros	
	$\tau_{\text{CGS}} (\text{min})$	$\text{CGS}_{(\infty)}$
E1	6	32,5
E2	6	36,8
E3	7	30,7
E4	6	31,9
E5	6	33,8
E6	7	33,6
E7	5	36,8
E8	6	34,9
E9	6	32,8
E10	6	35,7
E11	6	32,7

As frações estearina E2 e E7 alcançaram em torno de 36% de teor máximo de gordura sólida. As frações estearina E3 e E4 apresentaram a menor porcentagem, cerca de 31%, evento explicável, pois estes fracionamentos ocorreram nas temperaturas de 21 °C e 21,9 °C, respectivamente (as mais baixas do planejamento experimental), induzindo a cristalização de triacilgliceróis de baixo ponto de fusão.

As isotermas de cristalização das frações oleína e estearina também foram levantadas na temperatura correspondente a dos ensaios de fracionamento com o objetivo de esclarecer se os fracionamentos foram executados da melhor maneira. As frações oleína obtidas não apresentaram nenhum sólido, confirmando a separação das frações na temperatura de fracionamento proposta. A Figura IV.8 apresenta as isotermas das frações estearina e a Tabela IV.13 apresenta os valores de tempo de indução e teor máximo de sólidos.

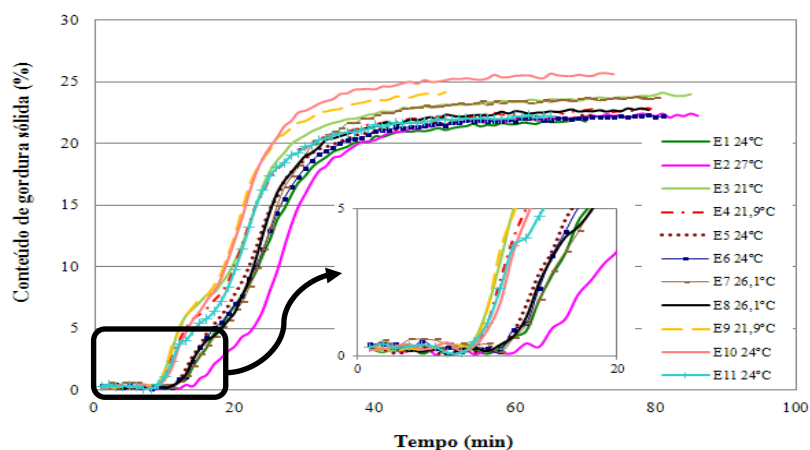


Figura IV.8. Isoterma de cristalização das estearinas à temperatura do ensaio de fracionamento.

Observa-se que E10, E9 e E7 atingiram um maior conteúdo de gordura sólida, uma vez que estes ensaios foram realizados com as taxas de resfriamento mais baixas, 5 °C/h e 7,2 °C/h.

Tabela V.13. Tempo de indução, τ_{CGS} , e teor máximo de sólidos, $\text{CGS}_{(\infty)}$, das frações estearina obtidas nos fracionamentos.

Parâmetros Estearinas	T_{crist} (°C)	τ_{CGS} (min)	CGS_(∞)
E1	24,0	14	21,1
E2	27,0	16	21,2
E3	21,0	10	22,6
E4	21,9	11	22,0
E5	24,0	13	21,3
E6	24,0	14	21,4
E7	26,1	13	23,0
E8	26,1	13	21,7
E9	21,9	10	24,0
E10	24,0	11	24,6
E11	24,0	11	20,8

IV.2.5. Viscosidade aparente

Durante os ensaios, quando o tempo de cristalização pré-estabelecido (fornecidos pelas isotermas da gordura de leite Item IV.1.4) estava próximo, alíquotas de massa cristalizada eram retiradas para a determinação da viscosidade aparente. A constância dos valores de viscosidade era indicação de que o sistema estava em equilíbrio. Nos ensaios iniciais havia a necessidade de retirar muitas alíquotas, e neste caso observou-se que quanto menor a quantidade de gordura remanescente no reator, mais rapidamente cristalizava e, conseqüentemente, o tempo foi encurtado. Os resultados destes testes foram descartados e todos os ensaios eram repetidos, até se conseguir uma combinação de resultados coerentes.

A viscosidade aparente foi uma determinação de controle utilizada para acompanhar o processo de fracionamento térmico. O comportamento da viscosidade aparente pode ser associado à curva de isoterma de cristalização da gordura de leite para diferentes temperaturas (Figura IV.3). A viscosidade foi medida ao longo da etapa de cristalização e se o valor permanecesse constante, era possível considerar que a etapa de cristalização atingira o equilíbrio.

O início da nucleação é marcado pela baixa viscosidade aparente, enquanto que a parte mais íngreme da curva de isoterma, quando a taxa de cristalização é alta, foi caracterizada por uma grande variação da viscosidade, finalizando na parte alta e constante da curva juntamente com a estabilidade da viscosidade aparente.

Ao final da cristalização, ou seja, antes da etapa de filtração, foi realizada a última medida da viscosidade, apresentada na Tabela IV.14. Esta determinação foi extremamente importante, pois foi considerada o ponto de parada do fracionamento térmico. Estes dados, juntamente com os das isotermas de gordura de leite para diferentes temperaturas, levou a definição de um tempo de cristalização adequado para a formação e crescimento dos cristais. No estudo de fracionamento térmico da gordura de leite com adição de estearina, que está explicitado no Item IV.4, o valor desta viscosidade também foi o parâmetro de referência para interromper o processo de cristalização.

Tabela IV.14. Viscosidade aparente da gordura de leite anidra cristalizada.

Fracionamento	T_{crist}	Viscosidade aparente (cP)	Tempo de cristalização (min)
F1	24,0	950	120
F2	27,0	250	180
F3	21,0	1178,5	90
F4	21,9	1317,33	100
F5	24,0	809,5	120
F6	24,0	1214,2	120
F7	26,1	309,5	180
F8	26,1	414,8	180
F9	21,9	637,5	100
F10	24,0	392,9	120
F11	24,0	926,8	120

O menor valor de viscosidade foi obtido com o fracionamento F2, que por sua vez foi realizado na temperatura de cristalização mais alta (27 °C). Quanto maior a temperatura de cristalização, uma menor quantidade de triacilgliceróis pode se cristalizar, ou seja, a quantidade de cristais formada é menor, mantendo a fluidez da massa. O comportamento inverso é observado a baixas temperaturas (21 a 24 °C) que facilitam a formação de um maior número de cristais deixando a massa densa.

IV.2.6. Rendimento

Ao término da filtração, a massa das frações oleína e estearina foram determinadas para a avaliação do rendimento do fracionamento. Os rendimentos das frações estearina estão listados na Tabela IV.15.

Tabela IV.15. Rendimento da fração estearina obtida nos fracionamentos.

Fracionamento	T_{crist}	Rendimento (%)
E1	24,0	45,8
E2	27,0	32,0
E3	21,0	56,2
E4	21,9	51,8
E5	24,0	43,6
E6	24,0	41,8
E7	26,1	31,0
E8	26,1	33,6
E9	21,9	47,2
E10	24,0	38,6
E11	24,0	45,4

Em fracionamentos de gordura, um maior rendimento mássico pode implicar em uma menor eficiência de separação dos componentes da mistura inicial. Este é um fato presente em

grande parte dos processos tecnológicos, e existe uma grande dificuldade em amenizar este efeito nos procedimentos.

Observa-se que os maiores rendimentos foram obtidos nos fracionamentos realizados nas temperaturas mais baixas de cristalização, o que é esperado, pois uma maior quantidade de triacilgliceróis tem ponto de cristalização acima de 21 °C. Complementarmente, os menores rendimentos foram obtidos para E2 e E7. Estas frações estearina também apresentaram maior conteúdo de gordura sólida a 25 °C e maior teor máximo de sólidos (Figura IV.7). Os fracionamentos F2 e F7 transcorreram em condições de cristalização que favoreceram a formação e crescimento de cristais para a obtenção de uma fração estearina com pouca oclusão de gordura líquida, favorecendo a etapa de filtração. A estearina E3, que foi obtida na temperatura de cristalização mais baixa (21 °C), foi a que alcançou maior rendimento, menor teor máximo de sólido e menor teor de gordura sólida, assim caracterizada por ter consistência mais macia.

IV.2.7. Análise estatística

O estudo estatístico forneceu resultados relevantes da influência da temperatura de cristalização e taxa de resfriamento sobre a composição em ácidos graxos saturados, teor de sólidos a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) e para a diferença do teor de gordura sólida entre 25 e 35 °C ($\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$).

A Tabela IV.16 expõe os resultados da análise de variância (ANOVA) a 95% de confiança da composição em ácidos graxos saturados para as frações estearina obtidas por fracionamento térmico segundo o planejamento estatístico. O coeficiente de regressão para o ajuste matemático foi de $R^2 = 0,86$, considerado regular para os ensaios realizados.

Observa-se que o valor de F calculado (MQ_R/MQ_F) foi de 13,70, três vezes maior que o $F_{0,95;3;7}$ (tabelado), que é 4,35. O valor de MQ_{faj}/MQ_{ep} foi de 11,72, ou seja, aproximadamente 2 vezes menor que o $F_{0,95;5;2}$ (19,296). Logo, a Equação IV.1 é válida e preditiva.

$$AG\ sat = 70,38333 - 1,84 * T_{x_{resfr}} - 1,25 * (T_{crist})^2 + 0,96 * (T_{x_{resfr}})^2 \quad (IV.1)$$

Tabela IV.16. Análise de variância para a composição em ácidos graxos saturados para as frações estearina.

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g.l.	Média quadrática	<i>F</i>
Regressão (SQ_R)	37,87	v1 – 3	12,62	13,70
Resíduos (SQ_r)	6,45	v2 - 7	0,92	
Falta de ajuste (SQ_{faj})	6,24	v1 - 5	1,25	
Erro puro (SQ_{ep})	0,21	v2 - 2	0,11	
Total (SQ_T)	44,32	10		

A Tabela IV.17 apresenta os valores dos efeitos e seus respectivos valores de *p* a 95% de confiança para a composição em ácidos graxos saturados para as frações estearina. O aumento da composição em ácidos graxos saturados ocorre com a diminuição T_{crist} (termo quadrático) e Tx_{resfr} (termo quadrático), sendo que a T_{crist} apresenta um efeito maior do que Tx_{resfr}, 2,49% e 1,92% respectivamente. A temperatura de cristalização foi a variável que mais favoreceu o processo de fracionamento obtendo uma fração estearina com alta quantidade de ácidos graxos saturados e, conseqüentemente, com consistência mais dura. A Figura IV.9 exibe a superfície de resposta da composição em ácidos graxos saturados.

Tabela IV.17. Valores dos efeitos e de *p* para a composição em ácidos graxos saturados para as frações estearina.

Variável	Efeito	Valor de <i>p</i>
Temperatura de cristalização (Q)	-2,49	0,011946
Taxa de resfriamento (L)	-3,67	0,019953
Taxa de resfriamento (Q)	-1,92	0,019953

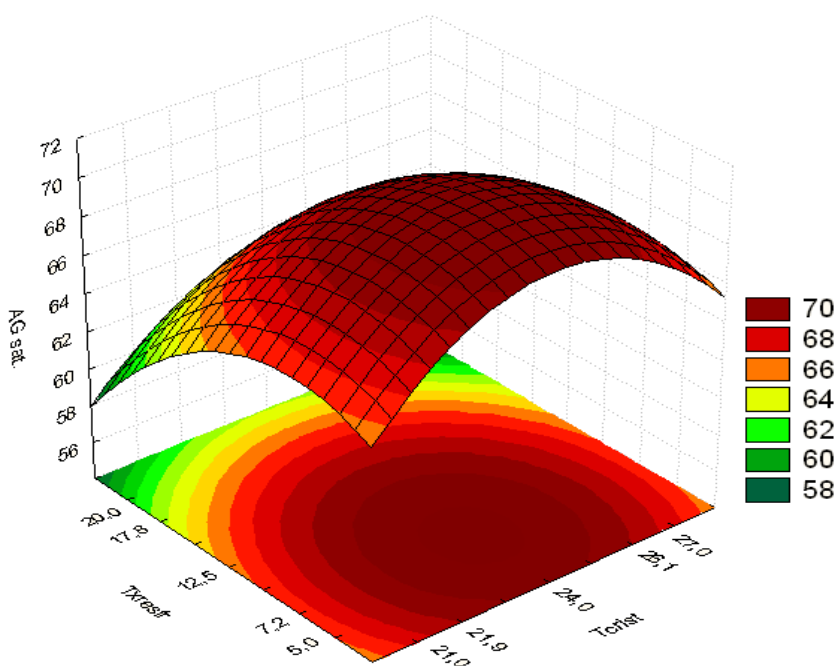


Figura IV.9. Superfície de resposta para a composição em ácidos graxos saturados.

A Tabela IV.18 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) do teor de sólidos a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) para a estearina obtida por fracionamento térmico. O valor de R^2 é definido como o coeficiente de determinação do modelo, e é de 0,96, obtido a partir dos dados mostrados nesta tabela. Note-se que a porcentagem de variação explicada pelo modelo é alta para a resposta analisada.

Tabela IV.18. Análise de variância para os resultados do $S_{25^{\circ}\text{C}}$ para as frações estearina.

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g.l.	Média quadrática	<i>F</i>
Regressão (SQ_R)	85,61	3	28,54	52,48
Resíduos (SQ_r)	3,81	7	0,54	
Falta de ajuste (SQ_{faj})	3,42	5	0,68	
Erro puro (SQ_{ep})	0,38	2	0,19	
Total (SQ_T)	89,42	10		

O valor de F calculado (MQ_R/MQ_r) para $S_{25^\circ C}$ foi de 52,48. Sabe-se que o valor de $F_{0,95;3;7}$ (tabelado) é 4,35, ou seja, 12 vezes menor que o valor do F calculado. A 95% de confiança a razão MQ_{faj}/MQ_{ep} é menor que o valor tabelado de $F_{0,95;5;2}$. Portanto pode se considerar que a Equação IV.2 é válida e preditiva.

$$S_{25^\circ C} = 27,91 + 2,97 * T_{crist} - 1,12 * T_{x_{resfr}} + 0,93 * (T_{x_{resfr}})^2 \quad (IV.2)$$

Os valores dos efeitos e seus respectivos valores de p a 95% de confiança para os resultados do $S_{25^\circ C}$ das frações estearina são apresentados na Tabela IV.19. A Figura IV.10 detalha a superfície de resposta do teor de sólidos a 25 °C.

Tabela IV.19. Valores dos efeitos e de p para os resultados do $S_{25^\circ C}$ para as frações estearina.

Variável	Efeito	Valor de p
Temperatura de cristalização (L)	5,93	0,002749
Taxa de resfriamento (L)	-2,23	0,018940
Taxa de resfriamento (Q)	1,86	0,034579

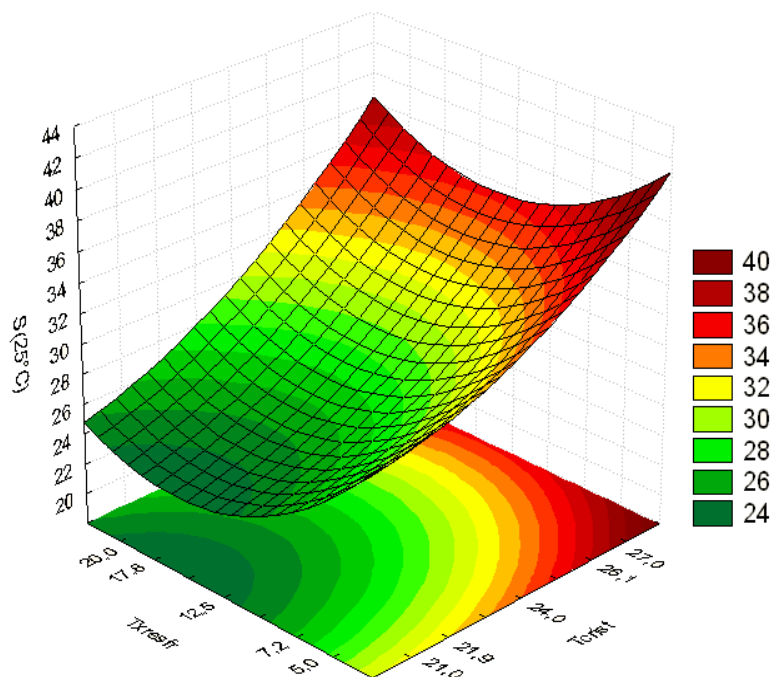


Figura IV.10. Superfície de resposta para o teor de sólidos a 25 °C.

A temperatura de cristalização tem um efeito positivo de 5,93%, enquanto que a taxa de resfriamento tem um efeito negativo de 2,23% sobre o $S_{25^{\circ}\text{C}}$. Estes resultados mostram que o aumento da temperatura de cristalização promove um aumento do teor de sólidos a 25 °C, enquanto que o aumento da taxa de resfriamento diminui $S_{25^{\circ}\text{C}}$. Assim, para um bom fracionamento deve-se associar uma temperatura de cristalização alta e uma taxa de resfriamento bem baixa, para se obter uma estearina com alto teor de sólidos a 25 °C, ou seja, uma fração mais resistente ao amolecimento a esta temperatura.

A Tabela IV.20 apresenta os resultados da análise de variância (ANOVA) da diferença do teor de gordura sólida entre 25 e 35 °C ($\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$) para as frações estearina, de acordo com o planejamento estatístico. O coeficiente de regressão para o ajuste matemático foi de $R^2 = 0,94$, considerado satisfatório para os ensaios realizados.

Tabela IV.20. Análise de variância para os resultados do $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ para as frações estearina.

Fonte de variação	Soma quadrática	Nº de g.l.	Média quadrática	<i>F</i>
Regressão (SQ_R)	9,01	3	3,00	35,54
Resíduos (SQ_r)	0,59	7	0,09	
Falta de ajuste (SQ_{faj})	0,53	5	0,11	
Erro puro (SQ_{ep})	0,07	2	0,03	
Total (SQ_T)	9,60	10		

Observa-se que o valor de *F* calculado (MQ_R/MQ_r) foi de 35,54, oito vezes maior que o $F_{0,95;3;7}$ (tabelado), que é 4,35. O valor de MQ_{faj}/MQ_{ep} foi de 3,25, ou seja, aproximadamente 6 vezes menor que o $F_{0,95;5;2}$ (19,296). Logo, a Equação IV.3 é válida e preditiva.

$$\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}} = 18,33 + 0,84 * T_{\text{crist}} - 0,47 * T_{\text{x}_{\text{resfr}}} + 0,51 * (T_{\text{x}_{\text{resfr}}})^2 \quad (\text{IV.3})$$

A Tabela IV.21 exhibe os valores dos efeitos e seus respectivos valores de *p* a 95% de confiança para os resultados do $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ para as frações estearina. O incremento $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ ocorre com o incremento T_{crist} (termo linear) e com o decréscimo $T_{\text{x}_{\text{resfr}}}$ (termo linear), indicando que o efeito da temperatura de cristalização é maior do que da taxa de resfriamento, 1,67% e

0,95%, respectivamente. Desta maneira, para se conseguir uma estearina com elevado $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$, ou seja, com um alto perfil de derretimento, é só proceder um fracionamento com alta temperatura de cristalização e com taxa de resfriamento abaixo de 5 °C/h ou acima de 20 °C/h. A Figura IV.11 mostra a superfície de resposta para a variação do teor de sólidos entre as temperaturas de 25 °C e 35 °C.

Tabela IV.21. Valores dos efeitos e de p para os resultados do $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$ para as frações estearina.

Variável	Efeito	Valor de p
Temperatura de cristalização (L)	5,93	0,002749
Taxa de resfriamento (L)	-2,23	0,018940
Taxa de resfriamento (Q)	1,86	0,034579

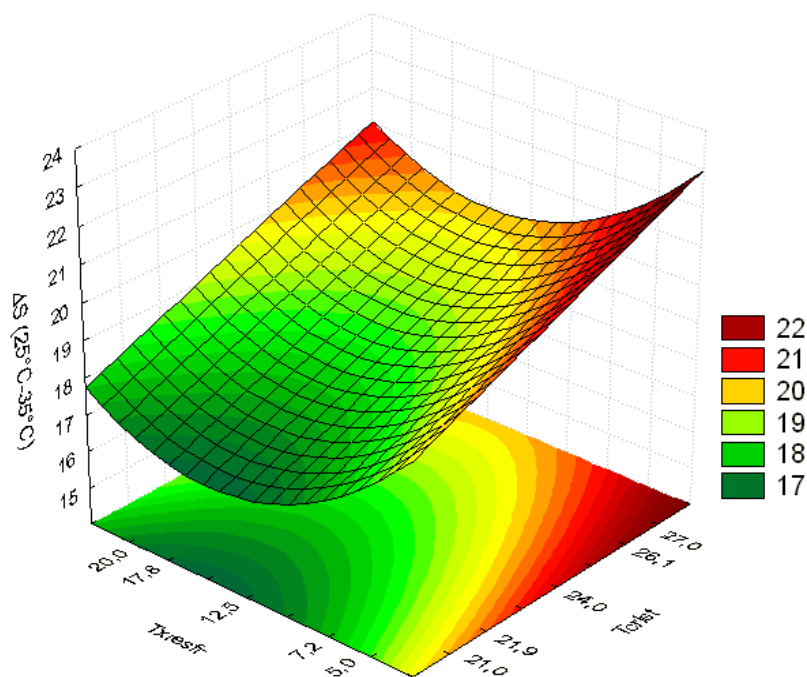


Figura IV.11. Superfície de resposta para a $\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$.

A análise estatística das três variáveis dependentes revelou que a temperatura de cristalização exerceu maior influência no processo de fracionamento do que a taxa de resfriamento. Pode-se notar também uma concordância de comportamento, já que a diminuição da taxa de resfriamento favorece o aumento da composição em ácidos graxos saturados, do teor de sólidos a 25 °C e da variação do teor de sólidos entre as temperaturas de 25 °C e 35 °C.

As superfícies de resposta indicaram que as estearinas E2 e E7 apresentaram resultados satisfatórios, ou seja, com alto teor de ácidos graxos saturados, alto teor de sólidos a 25 °C e alta variação do teor de sólidos entre as temperaturas de 25 °C e 35 °C, já que estes pontos variam da faixa amarela a vermelha dependendo da variável dependente analisada. A fração E2 foi indicada como a mais apropriada, devido os resultados anteriormente apresentados (como composição triacilglicerólica, teor de sólidos, isoterma de cristalização e tempo de cristalização). A taxa de resfriamento utilizada neste fracionamento foi um dos fatores decisivos, pois é maior que a do F7, acelerando o processo e diminuindo o custo da produção.

IV.2.8. Comportamento térmico

A Figura IV.12 apresenta as curvas de cristalização e de fusão da estearina E2 e da gordura de leite. A temperatura de início e fim da cristalização da estearina foi de 27,3 °C e -22,1 °C, com entalpia de 68,3 J/g e temperatura do pico máximo de 26,3 °C.

Como já discutido anteriormente a gordura de leite apresentou dois picos exotérmicos na curva de cristalização (Figura IV.4) enquanto que a estearina apresentou três picos exotérmicos. O primeiro pico no termograma da estearina corresponde aos triacilgliceróis cristalizando na Forma α , enquanto que o segundo e terceiro picos se referem à cristalização na Forma α e β' (Lopez *et al.*, 2006).

O comportamento de fusão da estearina teve início a -9,8 °C e finalizou em 44,5 °C, com a temperatura do pico máximo em 40,7 °C e entalpia de 74,2 J/g. Observa-se uma diferença expressiva entre o ponto de fusão da estearina (40,7 °C) e da gordura de leite (16,1 °C), resultado que comprova a execução de um bom fracionamento, e obtenção de uma fração diferenciada com alto ponto de fusão, composta especialmente por triacilgliceróis de cadeia longa e apresentando alto teor de gordura sólida.

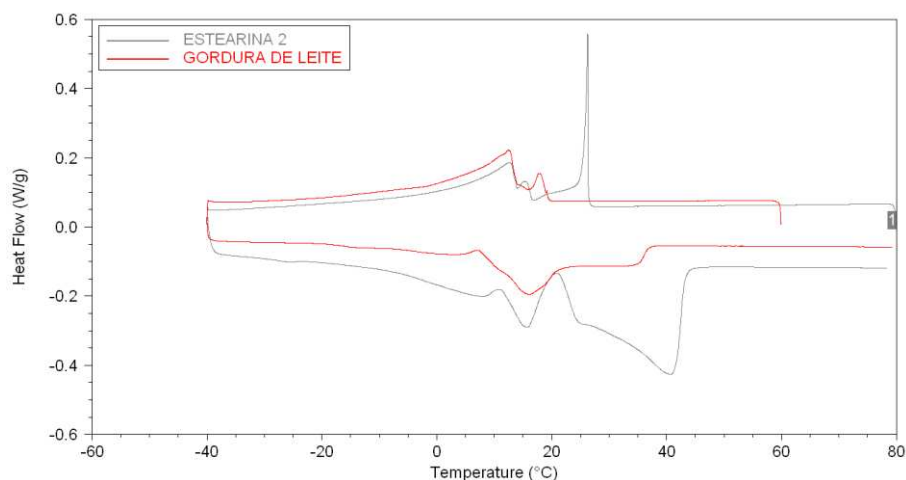


Figura IV.12. Curvas de cristalização e de fusão da estearina E2 e da gordura de leite.

IV.2.9. Difração de Raios-X

Para uma identificação do tipo de cristal formado na fração estearina E2, foi realizado uma determinação com difração de raios-X e o difratograma está apresentado na Figura IV.13. Uma comparação com difratogramas indica que houve a formação do cristal β' , característico da gordura de leite.

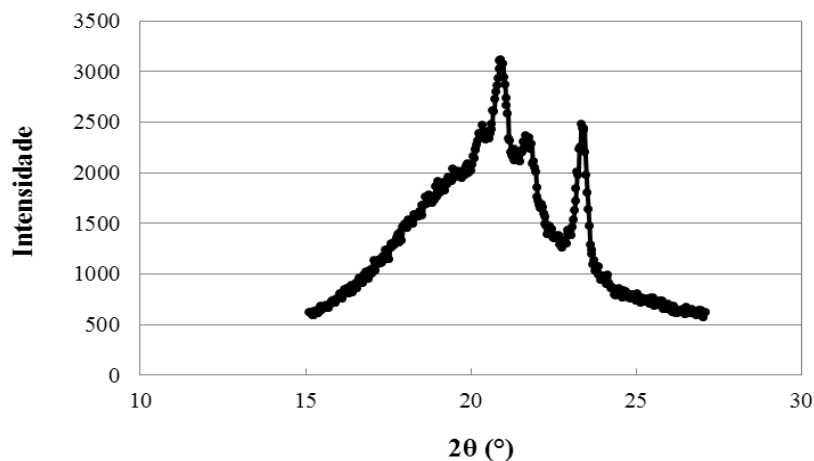


Figura IV.13. Difração de raios-X da estearina E2.

Há diferenças no tipo de cristal formado quando a fração estearina é obtida por fracionamento térmico ou com solvente. Assim como neste trabalho, Metin e Hartel (1998) também verificaram a forma cristalina β' em todas as frações de estearina obtidas em diferentes temperaturas e em fracionamento com várias etapas. O trabalho de Timms (1980a) mostrou que os triacilgliceróis de alto ponto de fusão da gordura de leite obtidos por fracionamento com acetona podem se cristalizar na forma β . O uso de solvente no processo de fracionamento favorece a obtenção de frações bem definidas, ou seja, com estearina sem oclusão de gordura líquida.

IV.3. Chocolate ao leite

Foram produzidos dois tipos de chocolate ao leite: chocolate ao leite padrão, com a formulação contendo gordura de leite anidra (ver Tabela III.2), e chocolate ao leite com estearina, obtida no fracionamento F2, ou seja, E2 que substituiu totalmente a gordura de leite anidra (3%) na formulação. A produção e caracterização desta estearina foram apresentadas na Secção IV.2.

IV.3.1. Caracterização dos chocolates em relação à viscosidade plástica de Casson, limite de escoamento de Casson, teor de umidade e tamanho de partícula

O chocolate apresenta comportamento reológico não-newtoniano, sendo caracterizado como um fluido pseudo-plástico. O comportamento reológico do chocolate é delineado pelo uso da equação de Casson (Vissoto *et al.* 1999).

A viscosidade plástica e o limite de escoamento de Casson juntamente com o teor de umidade e tamanho máximo de partículas dos chocolates foram determinados e as médias dos valores obtidos estão apresentadas na Tabela V.22.

A viscosidade plástica e o limite de escoamento de Casson foram determinados em amostras retiradas após a conchagem. Observa-se que a viscosidade do chocolate com estearina é cerca de 13% maior que a do chocolate padrão, o que pode ser um indício do efeito do mais alto teor de gordura sólida da estearina presente. Apesar do tamanho máximo de partícula das duas formulações estarem dentro dos limites, não se pode excluir totalmente uma possível influência

deste parâmetro nesta determinação, pois a distribuição de tamanhos das partículas pode estar diferente.

O limite de escoamento de Casson, o teor de umidade e o tamanho de partículas dos dois chocolates não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, como mostra o Teste de Tukey.

A viscosidade plástica e o limite de escoamento de Casson são influenciados pelo conteúdo de gordura, umidade, presença de lecitina e outros emulsificantes, além disso, condições do processo de fabricação, como tempo de conchagem, grau de temperagem, tamanho de partícula e temperatura também podem afetar estas determinações (Chevalley, 1975).

Tabela IV.22. Viscosidade plástica de Casson, limite de escoamento de Casson, teor de umidade e tamanho de partículas da massa de chocolate ao leite padrão e com estearina.

Determinações	Chocolate ao leite	
	Padrão	Estearina
Viscosidade plástica de Casson (Pa.s)	2,31±0,02 ^a	2,63±0,04 ^b
Limite de escoamento de Casson (Pa)	0,82±0,10 ^a	0,90±0,16 ^a
Teor de umidade (%)	1,29±0,2 ^a	1,43±0,21 ^a
Tamanho máximo de partícula (µm)	22,2±2,0 ^a	22,6±1,9 ^a

Obs: Expoentes com letras diferentes na mesma linha representam diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as médias obtidas, calculadas pelo Teste de Tukey.

IV.3.2. Monitoramento durante o armazenamento

IV.3.2.1. Aspecto visual

Conforme apresentado no Capítulo de Materiais e Métodos, as barras de chocolate foram armazenadas sob duas condições diferentes e parâmetros como a tensão de ruptura, *Índice de Brancura* e observações com o MEV foram monitorados.

As Figuras IV.14 e IV.15 apresentam as fotografias das barras do produto, sem e com *fat bloom*, do chocolate ao leite padrão e com estearina, respectivamente. As imagens dos chocolates

foram obtidas depois de aproximadamente 80 dias de armazenamento, à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C - 32 °C), onde é visível a formação de *fat bloom* em amostras submetidas a um ambiente mais agressivo.

Não foi possível observar nenhuma outra alteração em relação à aparência, do que a cor esbranquiçada. Deste modo, nos itens apresentados a seguir, procura-se quantificar esta (*fat bloom*) e outras prováveis alterações.



(A)



(B)

Figura IV.14. Chocolate ao leite padrão sem (A) e com *fat bloom* (B).



(A)



(B)

Figura IV.15. Chocolate ao leite com estearina sem (A) e com *fat bloom* (B).

IV.3.2.2. Tensão de ruptura

As Figuras IV.16 e IV.17 apresentam a tensão de ruptura, com seus relativos desvios padrão, das barras de chocolate padrão e de chocolate com estearina, respectivamente, determinadas durante o armazenamento à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C - 32 °C).

Observa-se que os dois tipos de chocolates exibiram o mesmo comportamento, isto é, a tensão de ruptura das barras de chocolate submetidas a um armazenamento sob variação cíclica de temperaturas oscila em torno de um valor mais baixo do que a do chocolate que sempre foi mantido a 20 °C.

Ciclos de temperatura tendem a promover a desestruturação de parte da rede cristalina durante a alta temperatura (32 °C) e a recristalização quando a temperatura volta a 20 °C. Esta oscilação de temperatura prejudicou a reestruturação da rede cristalina, favorecendo a migração de gordura para a superfície do chocolate, alterando a resistência mecânica deste produto.

O Teste de Tukey para a tensão de ruptura do chocolate ao leite padrão e com estearina, armazenado sob temperatura constante e sob ciclos de temperaturas apresentaram diferenças significativas, assim como quando comparado os dois tipos de armazenamento. Essa análise estatística pode ser visualizada no Apêndice A.

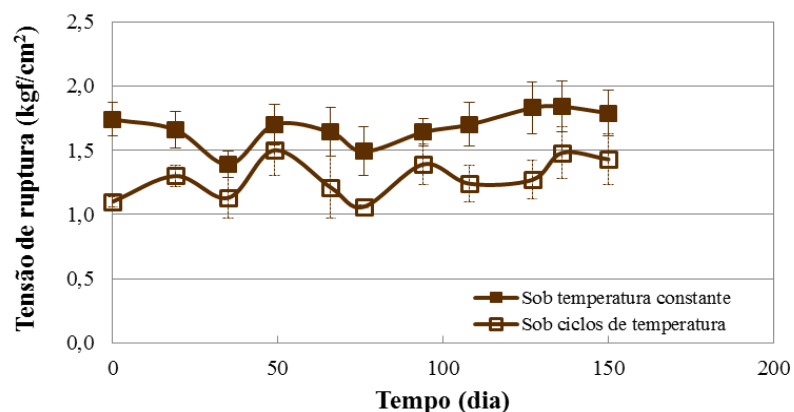


Figura IV.16. Variação da tensão de ruptura, *snap*, de barras de chocolates ao leite padrão armazenadas à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C - 32 °C).

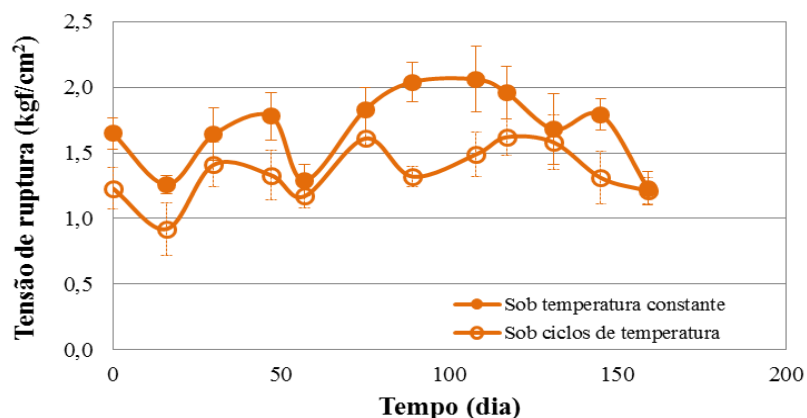


Figura IV.17. Variação da tensão de ruptura, *snap*, de barras de chocolates ao leite contendo estearina armazenadas à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C - 32 °C).

Comparando a tensão de ruptura, e seus respectivos desvios padrão dos dois tipos de chocolates armazenados a temperatura constante, Figura IV.18, e sob ciclos de temperatura, Figura IV.19, observa-se que as curvas se sobrepõem em alguns pontos. O teste de Tukey mostrou que a substituição da gordura de leite pela estearina de gordura de leite modificou a tensão de ruptura dos chocolates quando estes são mantidos a temperatura constante e sob ciclos de temperatura, como pode ser visualizado no Apêndice A.

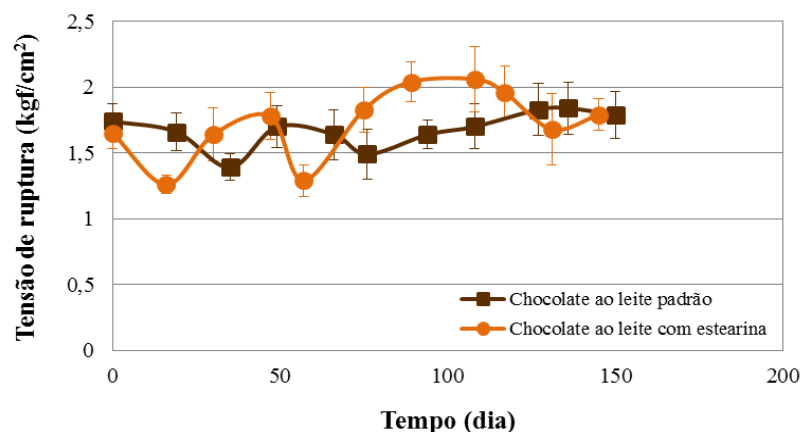


Figura IV.18. Variação da tensão de ruptura, *snap*, de barras de chocolate ao leite padrão e de chocolate contendo estearina armazenadas à temperatura constante (20 °C).

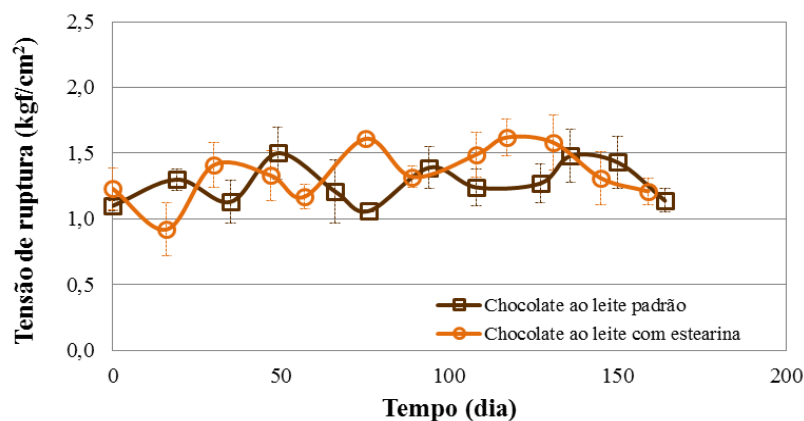


Figura IV.19. Variação da tensão de ruptura, *snap*, de barras de chocolates ao leite padrão e de chocolate contendo estearina armazenadas sob ciclos de temperatura (20 °C - 32 °C).

Na pesquisa de Bystron e Hartel (1994), o diagrama isosólido da mistura manteiga de cacau e fração estearina da gordura de leite obtida por fracionamento a seco apresentou efeito eutético, enquanto que no estudo de Wright e Marangoni (2002), a mistura manteiga de cacau e fração estearina da gordura de leite obtida por fracionamento com solvente não apresentou este fenômeno. Embora o fracionamento térmico tenha suas vantagens, o fracionamento com solvente permite obter uma estearina pura, sem a presença de oleína ocluída como acontece no fracionamento a seco. Neste trabalho, portanto, considerando a porcentagem de estearina na formulação do chocolate, esta fração não foi dura o suficiente para modificar a resistência mecânica do produto.

IV.3.2.3. Índice de Brancura

As Figuras IV.20 e 21 apresentam o resultado do monitoramento do *Índice de Brancura* e seu desvio padrão do chocolate ao leite padrão e do chocolate com estearina, respectivamente, armazenado em diferentes condições.

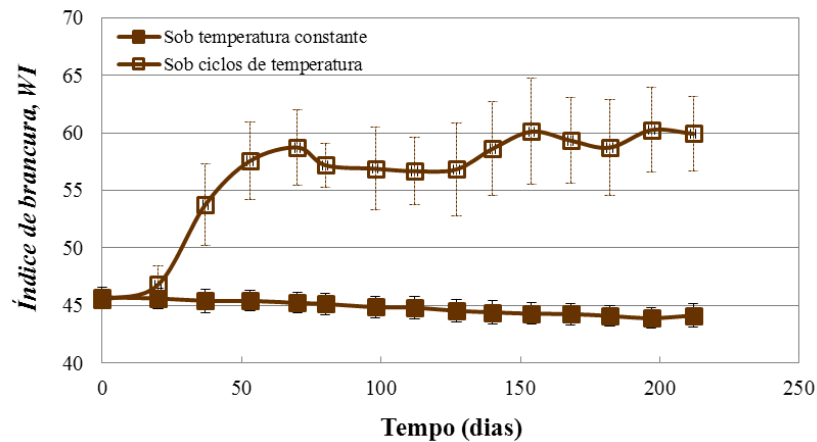


Figura IV.20. Variação do *Índice de Brancura* de barras de chocolate ao leite padrão, condicionadas à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C – 32 °C).

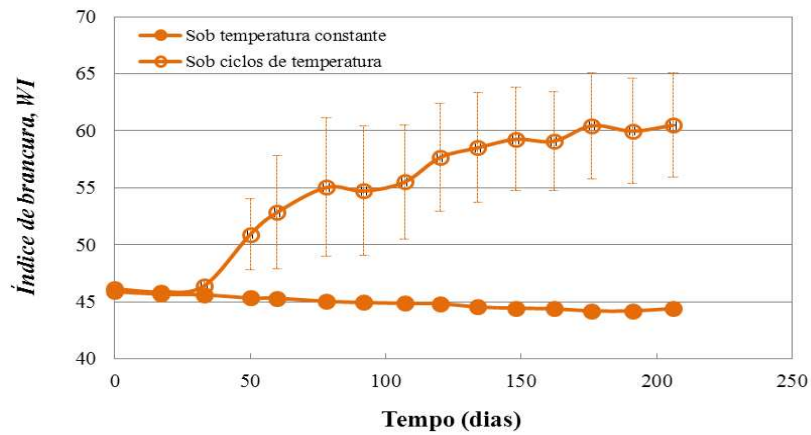


Figura IV.21. Variação do *Índice de Brancura* de barras de chocolate ao leite contendo estearina, condicionadas à temperatura constante (20 °C) e sob ciclos de temperatura (20 °C – 32 °C).

Comparando as curvas das duas figuras, observa-se, que os chocolates armazenados sob ciclos de temperatura mostraram um aumento do índice de brancura, enquanto os chocolates armazenados a temperatura constante chegaram a registrar uma pequena diminuição deste índice. Isto reafirma o fato de que a variação de temperatura promove a formação do *fat bloom* no

chocolate. A formação do *fat bloom* no chocolate ao leite padrão começou após 37 dias do início do monitoramento, enquanto o chocolate ao leite com estearina começou após 50 dias desta data, resultando em uma diferença de 13 dias entre os dois tipos de produto. Esta diferença evidencia a presença de estearina no chocolate ao leite retardou a formação do *fat bloom*.

A Figura IV.22 exibe a variação do *Índice de Brancura* com desvio padrão da superfície das barras dos dois tipos de chocolate estocadas sob condição ideal (isto é, armazenamento a 20 °C). Pode-se observar que as duas formulações de chocolate exibiram um comportamento semelhante. O chocolate ao leite padrão apresentou um desvio padrão maior, indicando menor reprodutibilidade nas medidas. O chocolate ao leite com estearina exibiu um desvio padrão bem próximo às médias, decorrente de um produto mais estável.

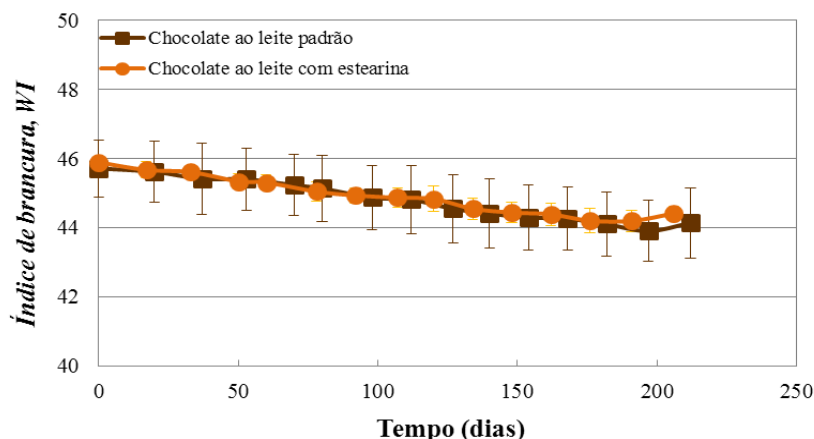


Figura IV.22. Variação do *Índice de Brancura* de barras de chocolate ao leite padrão e de chocolate contendo estearina, condicionadas à temperatura constante (20 °C).

A Figura IV.23, compara o desenvolvimento da cor esbranquiçada em barras de chocolate armazenadas sob ciclos de temperatura.

As duas formulações apresentaram o desenvolvimento da cor branca. Entretanto, o *Índice de Brancura* teve um menor aumento para o chocolate ao leite com estearina do que para o chocolate ao leite padrão, o que confirma uma maior estabilidade deste à formação de *fat boom*. O chocolate ao leite com estearina atingiu o mesmo índice de brancura do chocolate ao leite padrão depois de aproximadamente 60 dias de armazenamento. Esta conclusão, validada

estatisticamente, confirma observações visuais observadas na Secção IV.3.2.1, na qual as barras de chocolate foram fotografadas. Apesar das imagens serem feitas com 80 dias de armazenamentos, os valores de *Índices de Brancura* eram equivalentes.

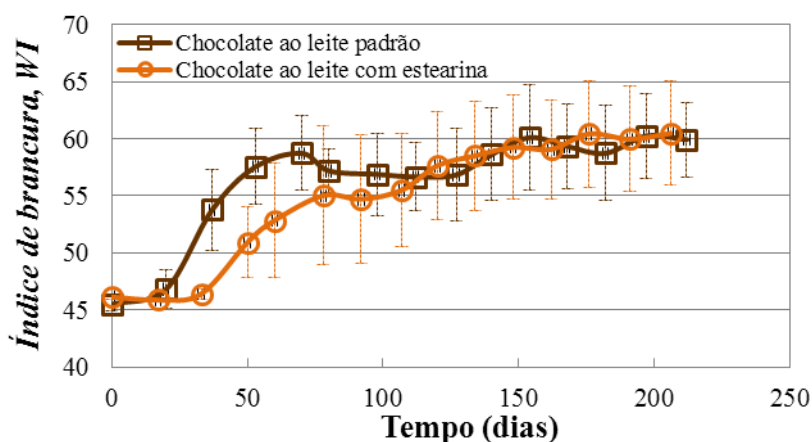


Figura IV.23. Variação do *Índice de Brancura* de barras de chocolate ao leite padrão e de chocolate com estearina, condicionados sob ciclos de temperatura (20 °C – 32 °C).

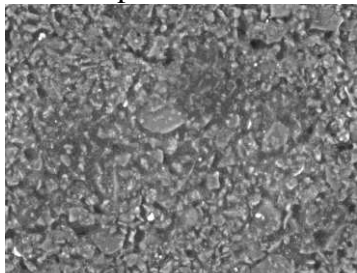
IV.3.2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Imagens captadas ao longo do tempo por microscopia eletrônica de varredura da superfície das barras de chocolate obtidas com o MEV são mostradas na Figura IV.24. As informações visuais observadas através dessas imagens não foram conclusivas quanto à diferença entre as amostras de chocolate com e sem *fat bloom*, assim como entre os chocolates padrão e com estearina. É provável que isto tenha ocorrido pelo fato do campo de visão do microscópio ser muito restrito. A considerável diferença entre a visão macroscópica e as imagens sub-microscópicas é ainda mais surpreendente nas amostras do mês de março (último mês de armazenamento) do chocolate armazenado sob ciclos de temperatura. Devido ao adiantado estágio do *fat bloom*, a cobertura esbranquiçada não permitiu a captação de imagens pelo MEV. O MEV não revelou imagens com diferenças tão contundentes como as das Figuras IV.14 e 15.

Novembro/2011

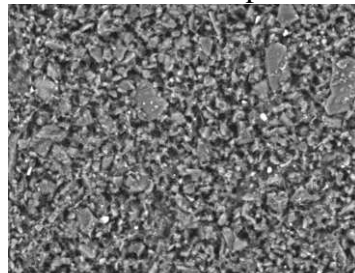
Chocolate ao leite padrão

Sob temperatura constante



LOG_2401_0659 2011-11-03 14:38 AL D5.5 x1.0k 100 um

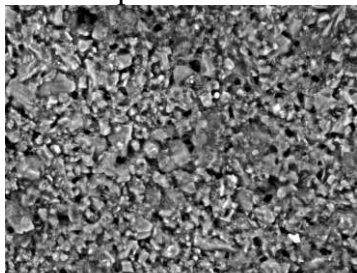
Sob ciclos de temperatura



LOG_2401_0668 2011-11-03 15:02 AL D5.6 x1.0k 100 um

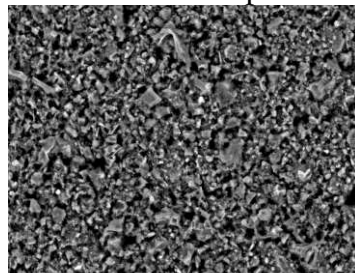
Chocolate ao leite com estearina

Sob temperatura constante



LOG_2401_0663 2011-11-03 14:50 AL D6.1 x1.0k 100 um

Sob ciclos de temperatura

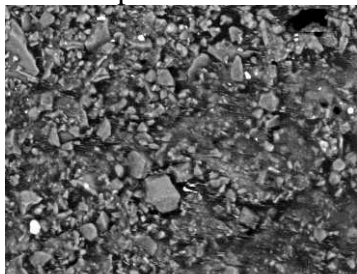


LOG_2401_0672 2011-11-03 15:12 AL D5.3 x1.0k 100 um

Dezembro/2011

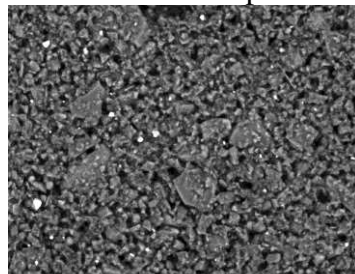
Chocolate ao leite padrão

Sob temperatura constante



LOG_2401_0947 2011-12-12 14:21 AL D9.6 x1.0k 100 um

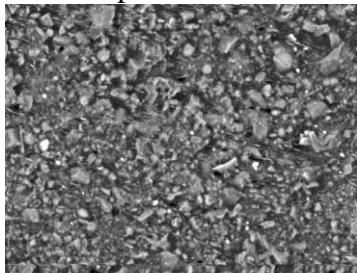
Sob ciclos de temperatura



LOG_2401_0945 2011-12-12 14:13 AL D10.6 x1.0k 100 um

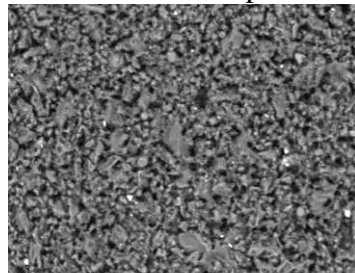
Chocolate ao leite com estearina

Sob temperatura constante



LOG_2401_0949 2011-12-12 14:29 AL D10.7 x1.0k 100 um

Sob ciclos de temperatura



LOG_2401_0951 2011-12-12 14:36 AL D12.7 x1.0k 100 um

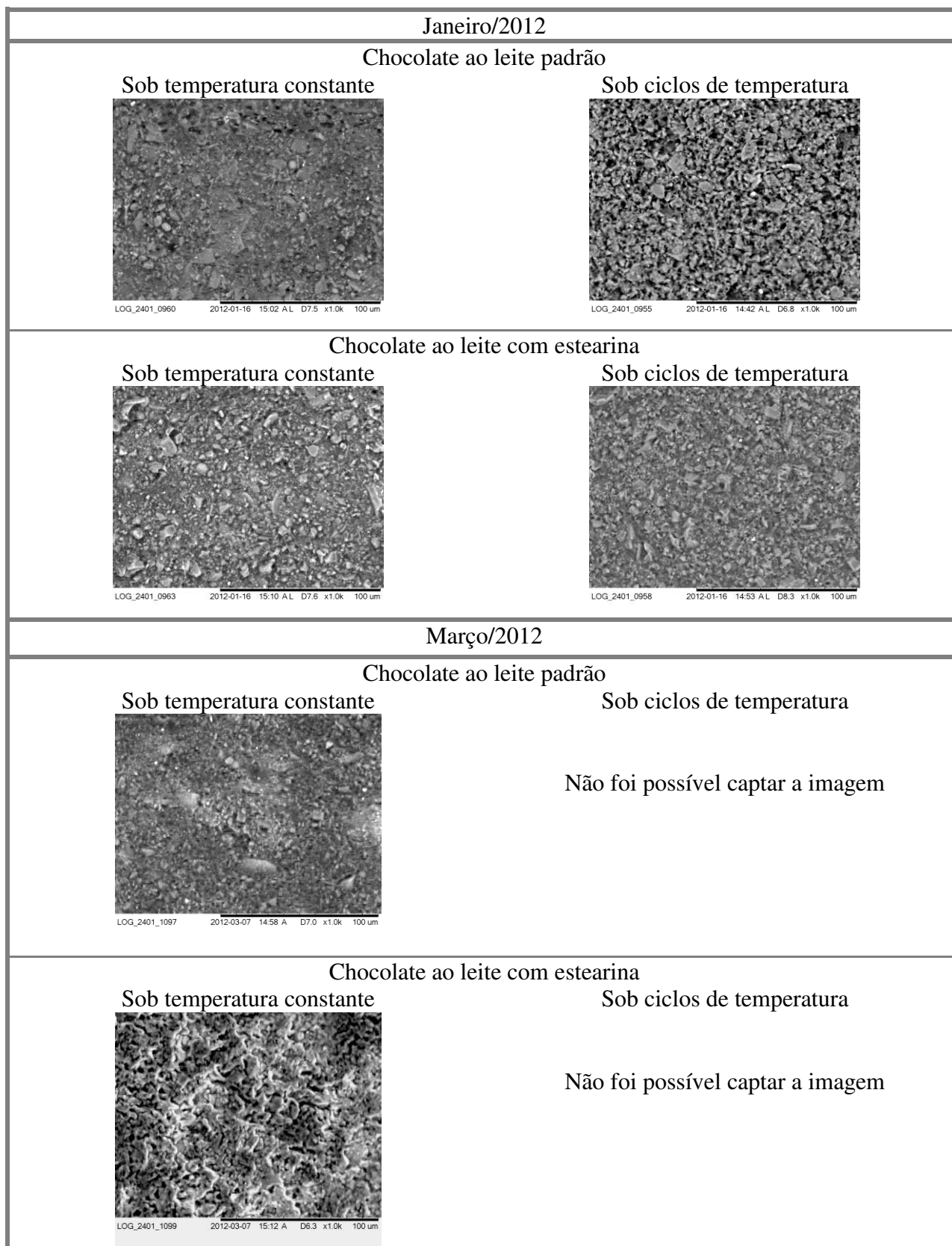


Figura IV.24. Imagens da superfície das barras de chocolate ao leite.

O estudo de Afoakwa *et al.* (2009) indica que a gordura cristalizada na superfície do chocolate amargo foi caracterizada por cristais do tipo agulha. A imagem da Figura IV.25, da superfície do chocolate amargo com *fat bloom* foi obtida pela técnica *Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM)* por James e Smith (2009) e complementa o trabalho daqueles autores. O chocolate amargo possui em sua formulação apenas lipídios da manteiga de cacau, e o *fat bloom* é devido à migração de frações específicas desta gordura na superfície do produto, criando uma estrutura característica.

Neste estudo com chocolate ao leite, mesmo havendo a comprovação visual da formação do *fat bloom*, como mostram as imagens das Figuras IV.14 e 15 das amostras de chocolates sem (A) e com *fat bloom* (B), e da análise de cor, com a presença marcante da coloração esbranquiçada na superfície, não foi observada a formação de cristais do tipo agulha nas superfícies das amostras pelo MEV.

Comparando as imagens das Figuras IV.24 e 25, pode-se afirmar que a presença da gordura de leite modificou a estrutura cristalina do *fat bloom*. Provavelmente no chocolate ao leite a mistura manteiga de cacau e gordura de leite emergiu a superfície, o que resultou em uma estrutura cristalina diferente da apresentada na superfície do chocolate amargo.

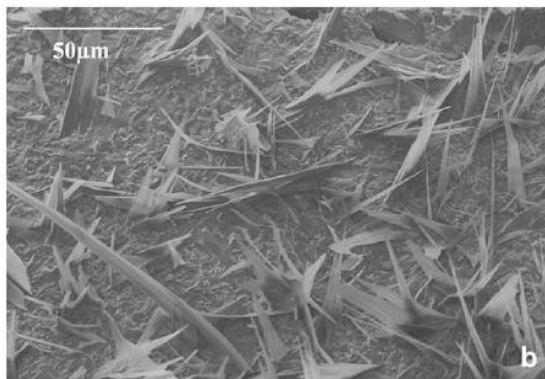


Figura IV.25. Imagem superficial do chocolate amargo com *fat bloom* (James e Smith, 2009).

Os resultados pouco conclusivos da análise morfológica por MEV nesse trabalho podem ser decorrentes de possíveis modificações na aparência dos cristais provocadas pelo aquecimento das superfícies das amostras durante a incidência do laser sobre as mesmas, no momento da

análise, dificultando a obtenção de imagens detalhadas da superfície do produto. Estudos mais específicos quanto ao preparo das amostras (por exemplo, com o uso de nitrogênio líquido para resfriamento da superfície das mesmas no momento da análise) devem ser realizados a fim de se obter esclarecimento sobre o fato e obtenção de melhores resultados. A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica relativamente nova para análise de chocolates, então poucos trabalhos são encontrados sobre o assunto, e em particular, sobre o chocolate ao leite, nenhum artigo foi encontrado prejudicando uma discussão mais aprofundada desses resultados.

IV.4. Fracionamento com adição de estearina da gordura de leite

Como complemento deste trabalho foi avaliado a utilização da técnica de adição de estearina no processo de fracionamento com o objetivo de modular o processo de cristalização e favorecer a formação de cristais mais homogêneos. Diferentes maneiras são propostas para a adição de cristais de alto ponto de fusão no processo de fracionamento, o que pode modificar de forma significativa as variáveis do processo, manuseio do equipamento, tempo de cristalização, além de obter frações com características diferentes.

A tecnologia de adição de cristais de alto ponto de fusão é uma ótima ferramenta para controlar a cristalização polimórfica, ou seja, induz à formação de cristais mais estáveis (Deffense, 2000).

As condições de operação do fracionamento com adição de estearina não foram otimizadas. Seguiu-se os parâmetros definidos no ensaio de fracionamento (F2), qual sejam, temperatura de 27 °C, taxa de resfriamento de 12,5 °C/h e rotação de 20 rpm.

Duas técnicas de adição de cristais foram empregadas neste trabalho, como já informado no Capítulo III. Em um método mais simples, a estearina fundida foi adicionada à massa derretida a 60 °C, com a finalidade de aumentar o ponto de fusão da mistura e, desta forma, facilitar a nucleação quando resfriada até 27 °C. Este método será denominado de formulação. A outra forma se enquadra na clássica técnica da sementeira, isto é, a estearina na temperatura ambiente é adicionada a gordura de leite somente quando a temperatura do processo de cristalização da gordura de leite chegar a 27 °C.

Relembrando que o fracionamento F2 se estabilizou, atingindo máximo conteúdo de gordura sólida depois de 180 minutos de cristalização, obtendo uma massa cristalizada com viscosidade aparente de 250 cP. Assim, para efeito de comparação entre os fracionamentos, a viscosidade de 250 cP foi novamente considerada o ponto de parada do fracionamento térmico com a adição de estearina. Assim, o tempo de cristalização dos dois processos pode ser comparado, uma vez que, supostamente a mesma quantidade de cristais foi formada.

Os tempos de cristalização determinados experimentalmente para atingir esta condição (250 cP) em cada um dos seis ensaios de fracionamento com adição de estearina estão na Tabela IV.23. Observa-se que, independentemente da forma de incorporação da estearina, aumentando a quantidade de estearina adicionada, o tempo de fracionamento diminui de forma bastante expressiva.

A adição de apenas 1% de estearina proporcionou uma redução no tempo de processo em torno de 22% e de 37%, para os métodos formulação e sementeira, respectivamente. Em relação às duas formas de incorporação, nota-se que o tempo de processo necessário foi menor para o caso da sementeira. Portanto, quando cristais de estearina são adicionados, o tempo de fracionamento é bem menor do que quando se adiciona estearina na forma fundida, uma vez que os cristais estáveis atuam imediatamente como nucleadores secundário da massa, acelerando a taxa de cristalização.

Tabela IV.23. Tempo de cristalização necessário para o fracionamento.

Método de adição de estearina	Tempo (min)		
	1%	5%	10%
Formulação	139,5 ± 7,5	50,0 ± 5,0	43,0 ± 3,0
Sementeira	113,0 ± 5,0	29,5 ± 3,5	14,5 ± 1,5

IV.4.1. Composição em ácidos graxos

A gordura de leite anidra natural e a gordura acrescida de 1, 5 e 10% de estearina foram caracterizadas pela composição em ácidos graxos listada na Tabela IV.24. Não foi notada

diferença entre a composição das misturas. A composição triacilglicerólica (Tabela IV.26) oferece dados mais específicos contribuindo para a compreensão dos resultados.

Tabela IV.24. Composição em ácidos graxos da mistura gordura de leite anidra (GL) e estearina.

Ácido Graxo	GL	GL + 1 % est	GL + 5 % est	GL + 10 % est
C6:0	1,49	1,47	1,41	1,34
C8:0	1,10	1,08	1,04	1,02
C10:0	2,57	2,57	2,50	2,46
C12:0	3,18	3,18	3,12	3,10
C14:0	11,34	11,35	11,35	11,40
C15:0	1,27	1,28	1,28	1,27
C16:0	32,44	32,48	32,89	33,07
C16:1	2,05	2,01	1,98	1,94
C17:0	0,91	0,91	0,91	0,91
C18:0	12,53	12,56	12,74	12,90
C18:1	28,21	28,20	27,92	27,44
C18:2	1,97	2,03	2,00	2,31
C18:3	0,53	0,55	0,53	0,50
C20:0	0,23	0,21	0,21	0,21
C20:1	0,17	0,13	0,11	0,13
Σ sat	67,07	67,08	67,46	67,68
Σ insat	32,93	32,92	32,54	32,32
Total	100,00	100,00	100,00	100,00

As frações oleína e estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina também foram caracterizadas pela composição em ácidos graxos, a qual está apresentada na Tabela IV.25. Observa-se que todas as frações oleína obtiveram o somatório de ácidos graxos saturados menor e de insaturados maior do que as frações estearina dos seus respectivos ensaios de fracionamento com inoculação. A comparação com a Tabela IV.24 mostra que a mistura gordura de leite e estearina possuem o somatório de saturados e insaturados entre

os valores das frações de oleína e de estearina do mesmo ensaio, confirmando a separação das frações.

Tabela IV.25. Composição em ácidos graxos das frações oleína e estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina.

Ácido Graxo	Oleína						Estearina					
	Formulação			Semeadura			Formulação			Semeadura		
	1%	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%
C6:0	1,47	1,57	1,58	1,57	1,53	1,47	1,18	1,17	1,28	1,15	1,20	1,18
C8:0	1,11	1,13	1,12	1,13	1,10	1,15	0,88	0,89	0,94	0,85	0,88	0,89
C10:0	2,61	2,61	2,61	2,62	2,56	2,68	2,24	2,26	2,30	2,18	2,23	2,25
C12:0	3,18	3,17	3,18	3,17	3,12	3,24	3,02	3,01	3,02	2,97	2,98	3,01
C14:0	11,18	11,23	11,29	11,14	11,06	11,36	11,71	11,60	11,50	11,62	11,55	11,64
C15:0	1,25	1,26	1,27	1,25	1,23	1,28	1,36	1,34	1,33	1,35	1,33	1,34
C16:0	31,43	31,88	32,10	31,39	31,36	32,04	35,73	35,28	35,00	35,75	35,27	35,32
C16:1	2,18	2,11	2,07	2,16	2,06	2,09	1,62	1,68	1,69	1,61	1,67	1,67
C17:0	0,88	0,83	0,89	0,87	0,81	0,89	0,95	0,94	0,93	0,95	0,94	0,97
C18:0	11,57	11,96	12,16	11,57	11,67	11,82	15,22	14,94	14,83	15,30	14,88	14,84
C18:1	30,18	29,36	28,78	30,10	29,05	28,95	23,60	24,19	24,47	23,72	24,47	24,25
C18:2	2,17	2,06	2,07	2,15	3,59	2,10	1,74	1,78	1,86	1,75	1,77	1,75
C18:3	0,51	0,50	0,51	0,54	0,57	0,58	0,41	0,45	0,43	0,44	0,46	0,44
C20:0	0,18	0,19	0,19	0,18	0,18	0,19	0,28	0,27	0,26	0,28	0,27	0,33
C20:1	0,13	0,12	0,16	0,17	0,12	0,18	0,08	0,18	0,15	0,09	0,10	0,12
Σ sat	64,85	65,84	66,41	64,89	64,61	66,10	72,55	71,71	71,39	72,39	71,53	71,77
Σ insat	35,15	34,16	33,59	35,11	35,39	33,90	27,45	28,29	28,61	27,61	28,47	28,23
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

Pode-se afirmar em relação à composição em ácidos graxos das estearinas, que houve uma pequena diferença no somatório de saturados e insaturados quando se analisa a porcentagem de estearina inoculada para um mesmo método de inoculação. A estearina obtida nos fracionamentos com inoculação de 1% de estearina, continha maior quantidade de saturados e menor quantidade de insaturados, o que caracteriza um bom fracionamento.

IV.4.2. Composição triacilglicerólica

A Tabela IV.26 apresenta a composição triacilglicerólica da gordura de leite anidra acrescida de estearina.

Tabela IV.26. Composição triacilglicerólica da gordura de leite anidra acrescida de estearina.

Nº de carbono	GL	GL + 1% est	GL + 5% est	GL + 10% est
C 26	0,54	0,57	0,56	0,53
C 28	0,48	0,46	0,51	0,42
C 30	0,86	0,81	0,77	0,79
C 32	2,25	2,27	2,24	2,10
C 34	5,46	5,52	5,35	5,19
C 36	14,09	14,33	14,00	13,33
C 38	17,00	17,02	16,44	16,67
C 40	13,73	12,83	13,33	13,02
C 42	7,93	7,57	7,75	8,22
C 44	5,44	5,99	5,73	5,84
C 46	5,11	5,98	5,91	5,64
C 48	7,66	7,62	7,42	7,82
C 50	9,85	9,79	10,14	10,35
C 52	7,37	6,96	7,37	8,13
C 54	2,23	2,28	2,51	1,94
Σ C26 - C34	9,59	9,62	9,42	9,04
Σ C36 - C40	44,82	44,18	43,76	43,02
Σ C42 - C54	45,59	46,20	46,82	47,94
Total	100	100	100	100

A quantidade de TAGs de cadeia longa aumenta com o acréscimo de estearina na gordura de leite, enquanto a de TAGs de cadeia curta e média diminui. Como a composição da estearina é rica em TAGs de cadeia longa, a adição desta inevitavelmente aumentaria este grupo de TAGs.

A Tabela IV.27 apresenta a composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina obtidas em cada ensaio de fracionamento térmico com adição de estearina.

Tabela IV.27. Composição triacilglicerólica das frações oleína e estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina.

Nº de carbono	Oleína						Estearina					
	Formulação			Semeadura			Formulação			Semeadura		
	1%	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%	1%	5%	10%
C 26	0,56	0,59	0,55	0,58	0,56	0,56	0,41	0,43	0,41	0,39	0,42	0,41
C 28	0,68	0,59	0,68	0,67	0,48	0,55	0,36	0,42	0,45	0,36	0,46	0,40
C 30	1,10	1,05	0,79	0,97	0,85	0,94	0,62	0,65	0,73	0,67	0,78	0,66
C 32	2,57	2,47	2,45	2,42	2,21	2,19	1,79	1,73	1,75	1,63	1,70	1,66
C 34	6,32	5,83	5,72	5,97	5,94	5,75	4,05	4,33	4,43	4,16	4,50	4,34
C 36	16,52	14,51	14,54	15,18	14,73	14,42	10,52	11,12	11,38	10,89	11,52	11,31
C 38	20,00	18,44	17,79	18,95	18,60	18,05	13,69	13,98	14,17	13,67	14,14	14,02
C 40	14,19	13,58	13,27	13,41	13,21	13,79	10,08	11,54	10,50	10,80	10,64	10,23
C 42	7,83	7,75	7,70	7,48	7,75	7,92	7,65	7,29	7,60	7,43	7,64	7,73
C 44	5,99	5,56	5,68	5,09	5,57	5,52	6,79	6,78	6,90	7,06	6,57	6,82
C 46	4,52	5,55	5,54	5,04	5,12	5,56	8,22	8,18	7,68	8,57	7,72	8,14
C 48	5,78	6,83	6,79	6,36	6,63	7,04	11,18	10,68	10,70	10,97	10,29	10,44
C 50	7,69	9,34	9,47	9,23	8,87	9,20	13,68	12,82	13,19	13,56	12,90	12,90
C 52	4,87	6,11	6,91	6,46	7,40	6,75	8,34	8,07	8,37	8,42	7,97	8,55
C 54	1,40	1,80	2,13	2,20	2,08	1,79	2,62	1,98	1,75	1,43	2,77	2,39
Σ C26 - C34	11,23	10,53	10,19	10,62	10,04	9,98	7,23	7,56	7,77	7,21	7,85	7,48
Σ C36 - C40	50,71	46,53	45,60	47,54	46,55	46,26	34,29	36,64	36,05	35,36	36,30	35,56
Σ C42 - C54	38,06	42,95	44,21	41,84	43,41	43,76	58,48	55,81	56,19	57,43	55,85	56,96
Total	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

A oleína foi enriquecida com triacilgliceróis de cadeia curta e média, e houve uma diminuição dos triacilgliceróis de cadeia longa. A fração estearina mostrou comportamento complementar ao da oleína, ou seja, diminuição da quantidade de triacilgliceróis de cadeia curta e média e aumento dos triacilgliceróis de cadeia longa, em relação à respectiva gordura de leite que foi fracionada.

Os fracionamentos com inoculação de 1% de estearina pelas técnicas da formulação e com semeadura permitiram a obtenção de estearina com maior quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa, e menor quantidade de triacilgliceróis de cadeia média e curta. Em relação à fração oleína destes mesmos ensaios, o comportamento foi inverso.

Avaliando os fracionamentos com inoculação de 5 e 10% de estearina por formulação e sementeira, são observáveis apenas pequenas diferenças na quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa, média e curta para fração estearina.

IV.4.3. Curva de sólidos

IV.4.3.1. Gordura de leite

A curva de sólidos obtida com amostras de gordura de leite com 1, 5 e 10% de estearina é mostrada na Figura IV.26. Observa-se uma diferença muito pequena, mas coerente entre as amostras, e o aumento da quantidade de estearina adicionada promoveu um aumento do teor de sólidos. Este é um fato esperado, pois o aumento do teor de sólidos está associado com o aumento de triacilgliceróis de cadeia longa originários da estearina.

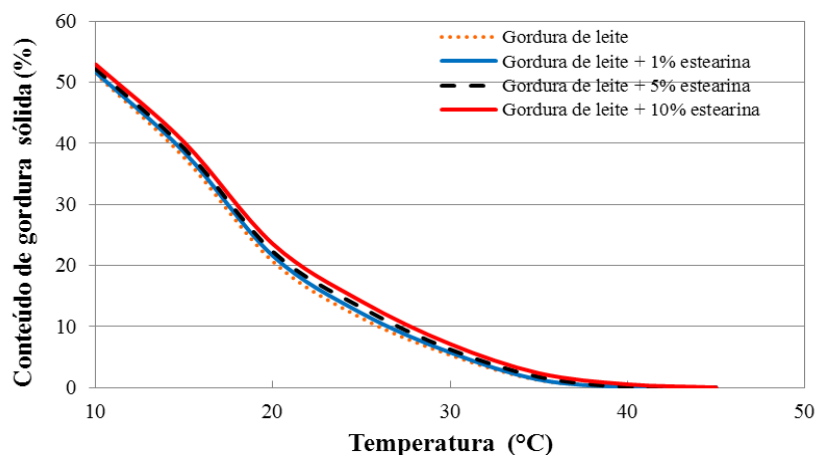


Figura IV.26. Curva de sólidos das amostras de gordura de leite com 1, 5 e 10% de estearina em função da temperatura.

IV.4.3.2. Frações oleína e estearina, obtidas através dos fracionamentos com adição de estearina

As Figuras IV.27 e 28 apresentam as curvas de sólidos das frações oleína e de estearina, respectivamente, obtidas nos ensaios de fracionamento com inoculação e no ensaio de fracionamento F2. O posicionamento das frações oleína indica que os ensaios de fracionamento

com inoculação de 1% de estearina (tanto na formulação como na sementeira) formaram oleína de consistência mais macia e semelhante à oleína O2 (obtida no fracionamento F2), visto que o teor de gordura sólida é mais baixo.

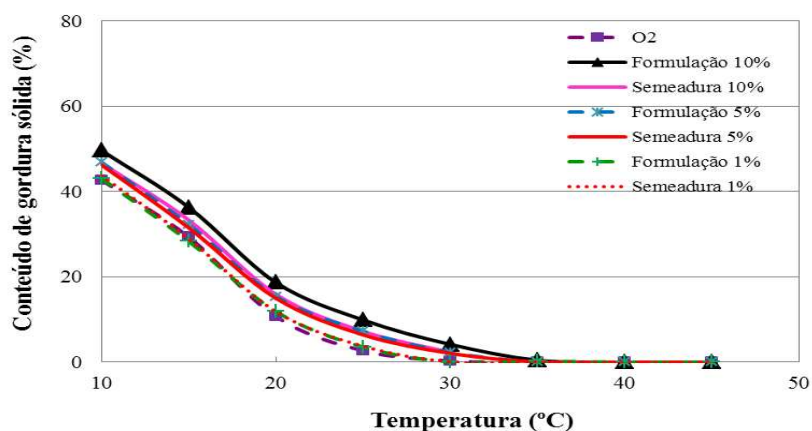


Figura IV.27. Curva de sólidos da fração oleína obtida nos ensaios de fracionamento com adição de estearina, nas mesmas condições operacionais do Ensaio F2 e da fração oleína do Ensaio F2.

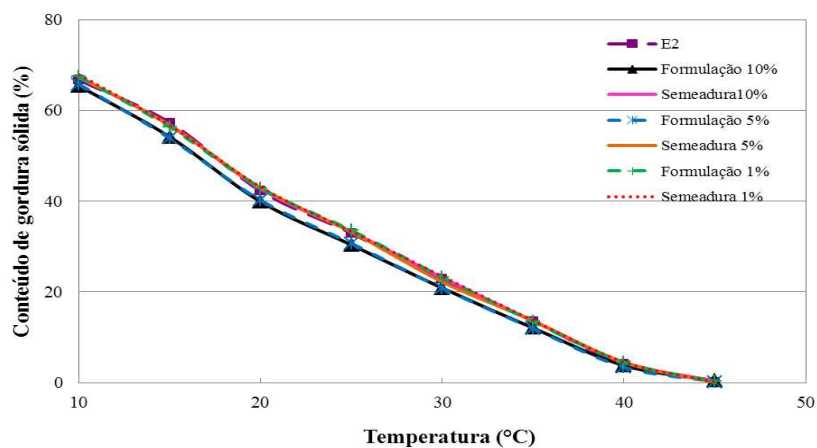


Figura IV.28. Curva de sólidos da fração estearina obtida nos ensaios de fracionamento com adição de estearina, nas mesmas condições operacionais do Ensaio F2 e da fração estearina do Ensaio F2.

As frações estearina com maior conteúdo de gordura sólida foram obtidas com 1% de estearina (tanto por formulação como na sementeira) e na sementeira de 5% e 10% de estearina (Figura IV.28). Os ensaios com 1% de estearina (formulação e sementeira) conseguiram produzir uma oleína de consistência mais macia e uma estearina de consistência mais dura, ou seja, atingiram o objetivo do processo.

As estearinas obtidas com a adição de 5 e 10% de estearina (formulação), não conseguiram alcançar um alto conteúdo de gordura sólida porque o tempo de processo não foi suficiente para o desenvolvimento de cristais maiores. Esta constatação será discutida na Secção IV.4.4.

Para uma melhor visualização das diferenças no comportamento, as Figuras IV.29, 30 e 31 rerepresentam as curvas de sólidos das frações oleína e estearina, obtidas através dos ensaios de inoculação pelos dois métodos, com 1, 5 e 10% de estearina, respectivamente. É possível confirmar nestas figuras que a curva de sólidos da gordura de leite com estearina se situa entre as curvas de sólidos das frações estearina e oleína.

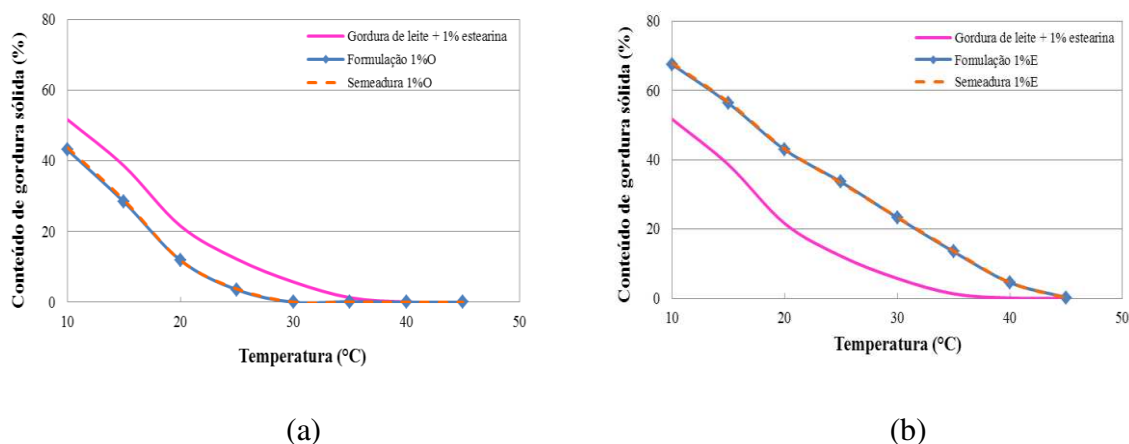


Figura IV.29. Curva de sólidos das frações (a) oleína e (b) estearina obtidas nos ensaios de inoculação com gordura de leite acrescido de 1% de estearina.

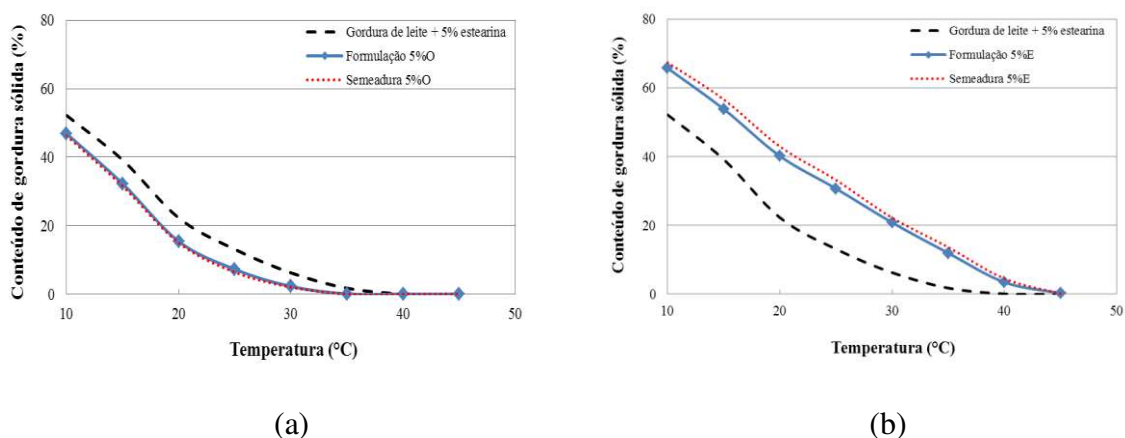


Figura IV.30. Curva de sólidos das frações (a) oleína e (b) estearina obtidas nos ensaios de inoculação com gordura de leite acrescido de 5% de estearina.

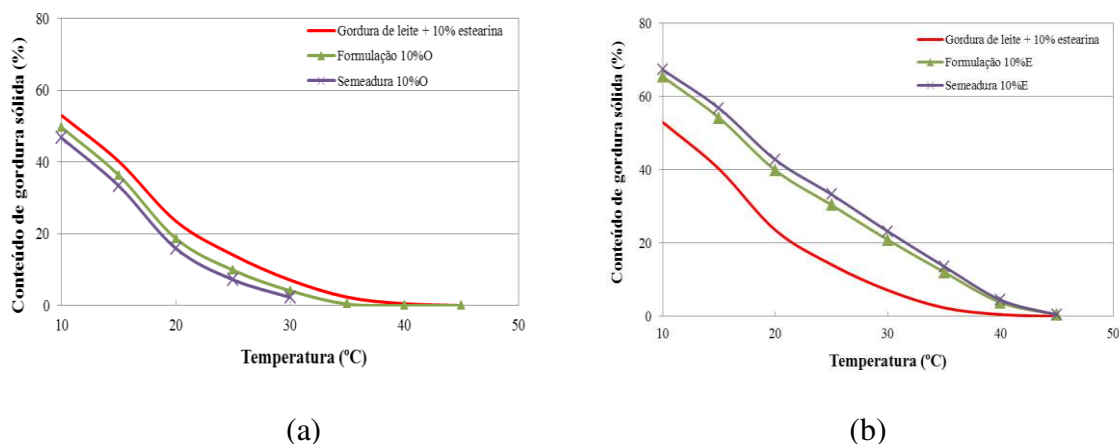


Figura IV.31. Curva de sólidos das frações (a) oleína e (b) estearina obtidas nos ensaios de inoculação com gordura de leite acrescido de 10% de estearina.

As Figuras IV.30a e 31a revelam que a curva de sólidos da fração oleína do fracionamento com adição de estearina pela técnica da formulação, está acima da curva de sólidos da fração oleína obtida por semeadura, enquanto que em relação à fração estearina, Figura IV.30b e 31b, o comportamento é inverso. Conclui-se que o fracionamento com inoculação por semeadura é mais eficiente do que a simples alteração do perfil de TAGs (formulação), pois estearinas de consistência mais dura e oleínas mais macias foram obtidas.

Esta diferença entre os dois métodos de fracionamento não foi observada nos fracionamentos com inoculação de 1% de estearina. Os dois modos apresentaram a mesma eficiência.

A Tabela IV.28 apresenta o teor de sólidos das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com inoculação, a 25 °C (S_{25}) e 35 °C (S_{35}) e a diferença entre estes índices, ΔS_{25-35} . Nota-se na que pela técnica da formulação, a diminuição da porcentagem de estearina inoculada aumenta os valores de S_{25} , S_{35} e ΔS_{25-35} nas frações estearina obtidas. No caso da inoculação por semeadura, não houve diferenças. Comparando os dois métodos, observa-se que com a inoculação de 5 e 10% surgiram diferenças entre os valores, enquanto que para 1% não teve alteração.

Conforme já apresentado na Tabela IV.11, no ensaio de fracionamento F2 a estearina alcançou os valores de 33,0; 19,4 e 13,6 para S_{25} , ΔS_{25-35} e S_{35} , respectivamente. As frações estearina obtidas por fracionamento com inoculação de 1% de estearina (formulação e semeadura) e 5% e 10% de estearina (semeadura) obtiveram valores semelhantes obtendo-se, portanto uma estearina equivalente à obtida pelo fracionamento térmico tradicional, mas com menor tempo de processo.

Tabela IV.28. Teor de sólidos das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento térmico com inoculação a 25 °C, 35 °C e ΔS_{25-35} .

Inoculação		Teor de sólidos		
		$S_{25^{\circ}\text{C}}$	$\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$	$S_{35^{\circ}\text{C}}$
Formulação	1%	33,6	20,1	13,4
	5%	30,7	18,8	11,9
	10%	30,4	18,3	12,1
Semeadura	1%	33,3	19,6	13,7
	5%	33,2	19,6	13,6
	10%	33,2	19,6	13,6

IV.4.4. Isoterma de cristalização

IV.4.4.1. Gordura de leite com estearina

A Figura IV.32 apresenta as isotermas de cristalização a 15 °C da gordura de leite acrescida das diferentes quantidades de estearina.

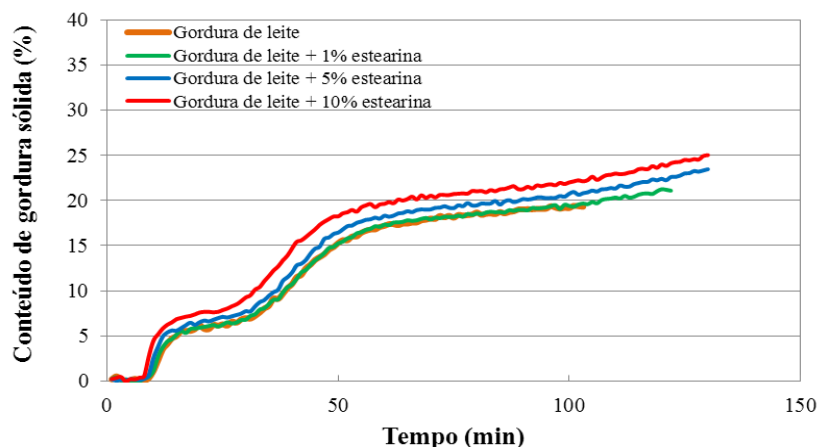


Figura IV.32. Isoterma de cristalização a 15 °C da gordura de leite contendo estearina.

Nesta temperatura, o tempo de indução é o mesmo para todas as amostras, ou seja, a adição de triacilgliceróis de cadeia longa não interferiu no tempo necessário para começar a formação de núcleos estáveis de cristais. O teor máximo de sólidos aumenta com o aumento da quantidade de estearina, devido à presença de uma maior quantidade de triacilgliceróis de alto ponto de fusão. No caso da curva de gordura de leite sem estearina e com 1% de estearina, o comportamento das curvas de sólidos foi coincidente, pois a porcentagem de estearina acrescentada é muito baixa.

As isotermas da gordura de leite acrescida das diferentes porcentagens de estearina levantadas a 27 °C (que corresponde à temperatura do ensaio de fracionamento E2 e que também foi usada nos ensaios com adição de estearina) são apresentadas na Figura IV.33.

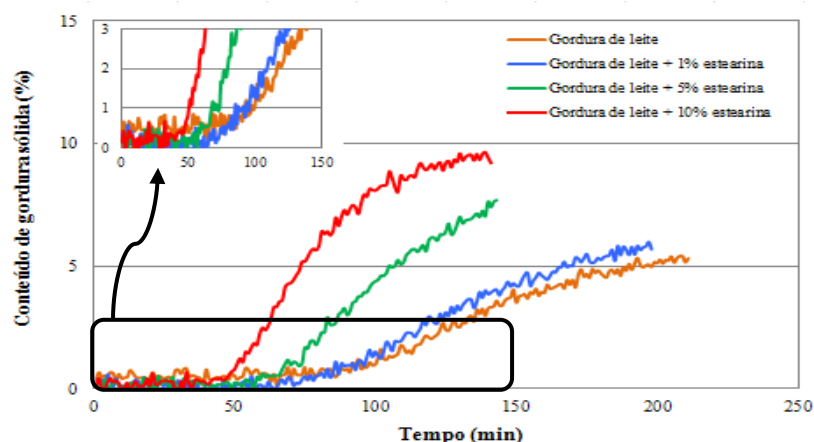


Figura IV.33. Isoterma de cristalização a 27 °C da gordura de leite contendo estearina.

Os valores de tempo de indução e do teor máximo de sólidos interpretados do gráfico estão listados na Tabela IV.29. Os tempos de indução foram 100, 97, 74 e 51 min, e o teor máximo de sólido foi cerca de 4,8; 5,4; 6,9 e 9,0% para as curvas de gordura de leite pura e gordura de leite com 1, 5 e 10% de estearina, respectivamente. A adição de TAGs de alto ponto de fusão fez com que o tempo de indução diminuísse e o teor máximo de sólidos aumentasse.

Tabela IV.29. Tempo de indução, τ , teor máximo de sólidos, CGS (∞), e tempo de estabilização da curva, t_{estab} , a 27 °C das amostras de gordura de leite contendo estearina.

Amostras	τ (min)	CGS (∞)	t_{estab} (min)
Gordura de leite	100	4,8	180
Gordura de leite + 1% estearina	97	5,4	180
Gordura de leite + 5% estearina	74	6,9	134
Gordura de leite + 10% estearina	51	9,0	113

O conhecimento dos tempos de indução à 27 °C permite uma avaliação mais crítica dos resultados do processo de fracionamento com adição de estearina. No fracionamento convencional, o tempo de cristalização (antes da separação por filtração) foi pré-definido como o tempo extraído das isotermas que correspondia ao patamar de máximo do conteúdo de sólidos e a

viscosidade da massa nesta situação de processo era uma consequência. No caso da adição de estearina, ficou estabelecido que a viscosidade definiria o fim da cristalização e o tempo determinado pelos ensaios para atingir esta viscosidade seria uma consequência e está indicado na Tabela IV.23.

No caso da adição de apenas 1% de estearina, o tempo de cristalização necessário para a massa cristalizada atingir 250 cP foi de 140 min (formulação) e 113 min (semeadura). Esses tempos são superiores ao necessário para a nucleação (97 min para a gordura de leite com 1% de estearina), assim os núcleos são formados e desenvolvidos.

Quando se adicionou 5% de estearina, entretanto, o tempo de cristalização para atingir 250 cP foi de 50 min (formulação) e 30 min (semeadura), ou seja, abaixo do tempo de indução (74 min).

Esta falta de correspondência se repete nos ensaios de fracionamento de gordura de leite com 10% de estearina. Nestes ensaios, o tempo de cristalização foi de 43 min e 15 min, com a técnica de formulação e de semeadura, respectivamente, sendo que o tempo de nucleação foi 52 min (Tabela IV.29).

Essa diferença de tempos indica que ao assumir a viscosidade de 250 cP como ponto de parada, houve prejuízo no rendimento e na eficiência de separação ao se adicionar 5 ou 10% de estearina no processo de fracionamento. Uma comparação com a curva de isoterma sugere que o máximo conteúdo de gordura sólida não foi atingido já que seria necessário alcançar o tempo de estabilização, no caso 134 min para gordura de leite com 5% de estearina e 113 min para gordura de leite com 10% de estearina.

Desta maneira não houve tempo suficiente para o crescimento dos cristais e provavelmente os cristais ainda eram pequenos, o que desfavoreceu a etapa de filtração, produzindo uma fração estearina de consistência mais macia.

Esta influência pode ser determinante no fracionamento com adição de estearina pela técnica de formulação, pois a estearina estava fundida. Na técnica semeadura a isoterma não revelará o tempo de indução e de estabilização corretos, uma vez que o modulador já consiste em cristais de estearinas.

IV.4.4.2. Oleína e estearina, obtidas nos fracionamentos com inoculação de cristais.

A isoterma de cristalização das frações oleína e estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina foi determinada a 27 °C. O resultado mostrou que nenhum sólido foi encontrado nas frações oleína.

As Figuras IV.34 e 35 apresentam as isotermas das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com inoculação por formulação e por sementeira, respectivamente.

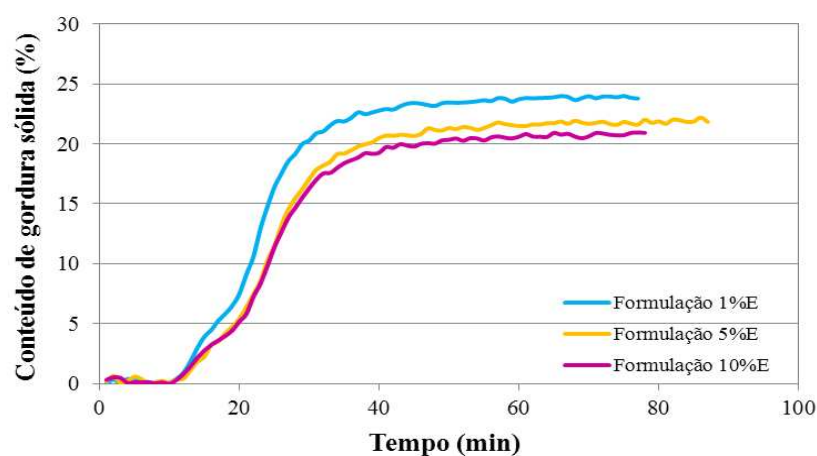


Figura IV.34. Isoterma de cristalização, a 27 °C, das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina por formulação.

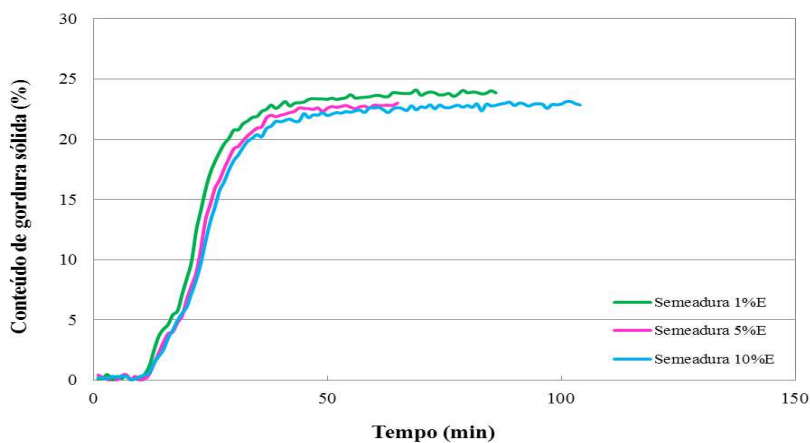


Figura IV.35. Isoterma de cristalização, a 27 °C, das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de estearina por sementeira.

Nos dois métodos de inoculação pode-se observar que todas as frações estearina obtiveram o mesmo tempo de indução de 13 min e que a diminuição da quantidade de estearina inoculada aumenta o teor máximo de sólidos, como mostra a Tabela IV.30. Esta tendência deve ser considerada como um artefato tendo em vista as observações do item anterior. É provável que com um maior tempo de cristalização, o conteúdo de gordura sólida aumente com o aumento da porcentagem de estearina adicionada.

As frações estearina obtidas através do fracionamento com adição de 1% de estearina foram as que atingiram maior conteúdo máximo de gordura sólida (23,8%), nos dois métodos de adição, seguida do fracionamento com adição de 5 e 10% de estearina.

Tabela IV.30. Tempo de indução, τ , e teor máximo, CGS (∞), de sólidos das frações estearina a 27 °C.

Fracionamento	% de estearina	Parâmetros	
		τ (min)	CGS (∞)
Formulação	1%	13	23,8
	5%	13	21,7
	10%	13	20,9
Semeadura	1%	13	23,8
	5%	13	23,5
	10%	13	22,6

Para melhor comparar os dois métodos de inoculação, as isotermas das frações estearina obtidas pela mesma quantidade de estearina inoculada são apresentadas nas Figuras IV.36A, B e C. Pode-se notar que nos casos com adição de 5 e 10%, a estearina obtida através da adição de estearina por semeadura apresentou teor máximo de sólidos de 23,5 e 22,6, respectivamente. Esses valores são maiores do que os obtidos pela adição de estearina por formulação (21,7 e 20,9, respectivamente). Isto confirma que os ensaios de fracionamento com adição de estearina por semeadura, no qual o cristal já formado é adicionado, tem melhor desempenho produzindo estearinas mais duras do que nos ensaios de fracionamento por formulação.

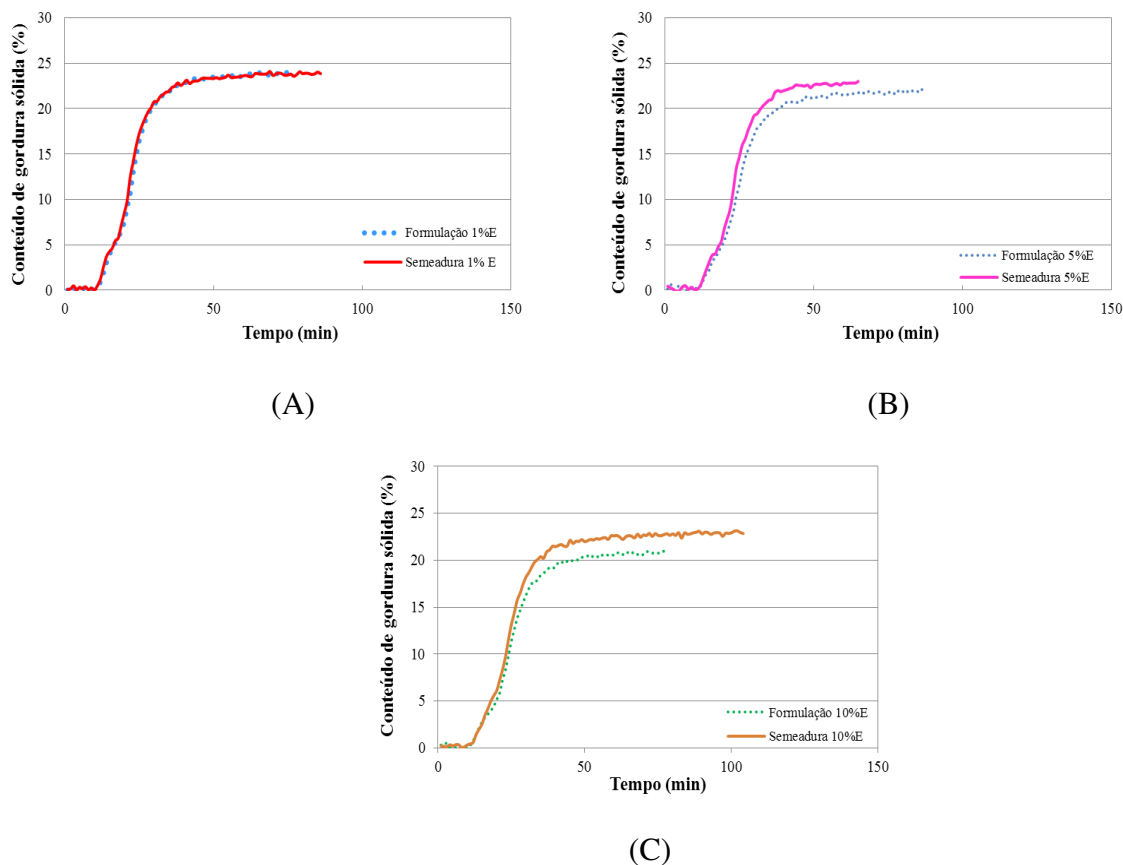


Figura IV.36. Isoterma de cristalização, a 27 °C, das frações estearina obtidas nos ensaios de fracionamento com adição de (A) 1%, (B) 5% e (C) 10% de estearina.

A Figura IV.37 compara as isotermas das frações estearina obtidas nos ensaios de inoculação de gordura de leite com estearina e no ensaio F2. O tempo de indução da fração estearina obtida no ensaio de fracionamento sem inoculação de cristais foi de 16 min, ou seja, maior que o das frações estearinas obtidas por inoculação, que é de 13 min. Observa-se que o teor de gordura sólida máximo dos fracionamentos com adição de 1% de estearina por semeadura e formulação estão acima do obtido pelo ensaio de fracionamento F2 (21,2%) confirmando que estes tipos de fracionamentos permitem a obtenção de uma estearina mais dura que o fracionamento sem inoculação.

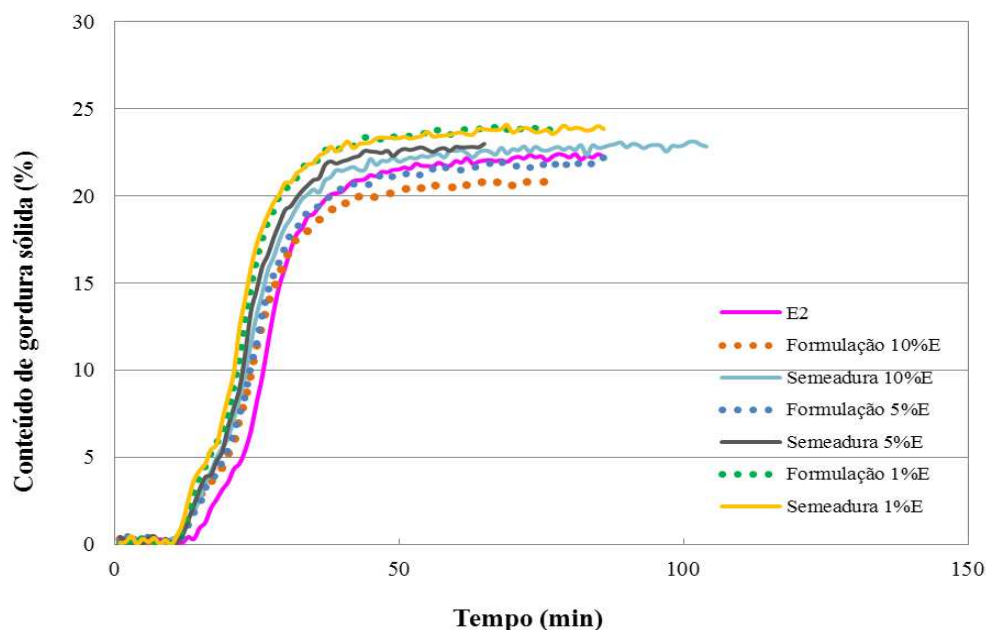


Figura IV.37. Isoterma de cristalização, a 27 °C, das estearinas obtidas nos ensaios de gordura de leite inoculada com estearina e no ensaio F2.

IV.4.5. Rendimento

Os rendimentos das frações estearina (massa de estearina obtida em relação à massa total de gordura de leite processada) estão apresentados na Tabela IV.31. Na adição de estearina por formulação nota-se que o aumento da porcentagem de estearina inoculada diminui o rendimento das frações. Esta diminuição pode ser atribuída ao fato da gordura de leite fracionada ter sido filtrada assim que a viscosidade atingiu 250 cP. Conforme argumentado em IV.4.4.1, na adição de 5 e 10% de estearina o processo de cristalização foi interrompido sem atingir o seu máximo teor de sólidos. Quanto maior a quantidade de estearina inoculada, maior é o tempo de cristalização necessário para estes núcleos se formarem e se desenvolverem. A filtração ocorreu, provavelmente, quando os cristais ainda estavam pequenos e muitos não foram retidos pelo filtro.

Para o método da sementeira, quando se adicionou 5 e 10% de estearina no fracionamento, também não houve tempo para a cristalização se desenvolver, ou seja, também não se atingiu o equilíbrio, mas como os cristais adicionados já estavam formados conseguiram ativar a nucleação de outros cristais.

A adição de 1% de estearina no fracionamento, usando os dois métodos, foi a que resultou em uma estearina mais dura. Isto ocorreu porque houve tempo suficiente para a formação dos núcleos e o desenvolvimento dos cristais. Quando a estearina é adicionada ao processo consegue-se a formação de cristais mais homogêneos, e uma diminuição da oclusão de óleo em sua estrutura.

Tabela IV.31. Rendimento das frações estearina.

Incorporação de estearina	Rendimento (%)		
	1%	5%	10%
Formulação	27,2	26,2	24,0
Semeadura	26,1	29,5	35,0

O rendimento da fração estearina do Ensaio F2 foi de 32%, ou seja, maior do que os valores de rendimentos encontrados para os ensaios de fracionamento com inoculação de estearina, exceto para a inoculação por semeadura com 10% de estearina.

O rendimento quando 1% de estearina foi adicionada foi menor do que no fracionamento F2 (fracionamento tradicional). A estearina produzida, entretanto, tem maior consistência e o tempo de cristalização diminuiu.

Esses resultados são animadores e mostram que existe um grande potencial nesta técnica, que precisa ser otimizada, sobretudo em relação ao término da etapa de cristalização para garantir uma melhor seletividade mantendo um adequado rendimento.

CAPÍTULO V. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

V.1. Conclusões

Esta pesquisa científica foi capaz de esclarecer e aprimorar técnicas para a obtenção de produtos com excelente qualidade para a proposta em questão.

A. Com relação ao fracionamento térmico simples da gordura de leite

A.1 – A análise de isoterma de cristalização da gordura de leite realizada nas mesmas temperaturas de cristalização que as do fracionamento fornece o tempo necessário para se atingir a estabilização do sistema e alcançar o teor máximo de sólido possível.

A.2 – Por meio do planejamento experimental desenvolvido foi possível encontrar uma temperatura de cristalização e a taxa de resfriamento ideal no fracionamento para se obter uma estearina com características adequadas para a produção de chocolate ao leite.

A.3 – Em todos os ensaios de fracionamento térmico é possível distinguir claramente a separação da oleína e estearina. As frações oleína obtidas no fracionamento térmico apresentam uma diminuição da concentração de ácidos graxos saturados e um aumento da concentração de ácidos graxos insaturados em relação à gordura de leite. A estearina tem o comportamento inverso ao da oleína, exceto para as frações obtidas nos fracionamentos com menor temperatura (21 °C) e com as maiores taxas (20 °C/h e 17,8 °C/h).

A.4 – A composição triacilglicerólica das frações oleína mostra um aumento da concentração de triacilgliceróis de cadeia média e uma diminuição de triacilgliceróis de cadeia longa, enquanto as frações estearina têm uma diminuição dos triacilgliceróis de cadeia curta e média, e um aumento bastante acentuado da quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa em relação à composição da gordura de leite anidra.

A.5 – Os ensaios de fracionamento realizados em uma mesma taxa de resfriamento mostraram que o conteúdo de gordura sólida aumenta com o aumento da temperatura de cristalização.

A.6 – Os ensaios realizados com a temperatura de cristalização mais alta obtém a fração estearina com maior conteúdo de gordura sólida, maior teor máximo de sólido, viscosidade baixa e menor rendimento.

A.7 – A superfície de resposta do teor de sólidos a 25 °C indica que a temperatura de cristalização tem um efeito positivo enquanto a taxa de resfriamento tem um efeito negativo sobre o $S_{25^{\circ}\text{C}}$.

A.8 – Proceder um fracionamento com alta temperatura de cristalização e baixa taxa de resfriamento aumenta o teor de sólidos a 25 °C ($S_{25^{\circ}\text{C}}$) e eleva o perfil de derretimento ($\Delta S_{25^{\circ}\text{C}-35^{\circ}\text{C}}$).

B. Com relação à inoculação de estearina

B.1 – A técnica de adição de cristais no fracionamento térmico levou a uma diminuição do tempo de processo em relação ao fracionamento térmico tradicional.

B.2 – Quando os cristais formados são semeados, o tempo de fracionamento é bem menor do que quando se adiciona estearina fundida.

B.3 – O fracionamento com semeadura de estearina (5 e 10%) permitiu a obtenção de uma estearina mais dura e uma oleína de consistência mais macia que a do fracionamento com uma formulação contendo estearina.

B.4 – Quando se adiciona 1% de estearina, os dois processos tem a mesma eficiência, com a obtenção de uma estearina mais dura e com rendimento menor quando comparado com a adição de 5 e 10% de estearina.

B.5 – A técnica de adição de triacilgliceróis de alto ponto de fusão na forma cristalina foi capaz de acelerar e otimizar o processo de fracionamento térmico de gordura de leite, além de apresentar resultados inerentes para o aperfeiçoamento da técnica e aplicação do processo em gorduras complexas.

C. Com relação ao chocolate produzido

C.1 – A viscosidade do chocolate com estearina foi maior que a do chocolate padrão, o que pode ser um indício do efeito do mais alto teor de gordura sólida da estearina presente.

C.2 – Os chocolates ao leite padrão e com estearina tiveram o mesmo comportamento em relação ao *snap*.

C.3 – O aspecto visual das barras de chocolates exibiu claramente a formação de *fat bloom* tanto para o chocolate elaborado com gordura de leite como com estearina.

C.4 – A análise de índice de brancura mostrou que o chocolate ao leite com estearina é capaz de retardar a formação do *fat bloom*.

C.5 – O chocolate produzido com estearina apresenta um bom comportamento em relação a estabilidade ao *fat bloom*.

C.6 – A microscopia eletrônica de varredura mostrou que a estrutura cristalina na superfície do chocolate ao leite é diferente da do chocolate amargo.

V.2. Recomendações para futuras pesquisas

- Avaliar o fracionamento térmico em dois estágios para obter uma estearina com maior teor de sólidos a 25 °C, com maior diferença de teor de sólidos entre 25 °C e 35 °C e alto rendimento.
- Otimizar o tempo de cristalização no fracionamento térmico com inoculação por semeadura de 1, 5 e 10% de estearina.
- Estudar o processo de fracionamento térmico com inoculação de cristais por semeadura em proporções menores que 1%.
- Fazer ensaios de fracionamento térmico com inoculação de cristais avaliando a proporção de estearina inoculada e a forma de inoculação.
- Utilizar a gordura de leite anidra totalmente hidrogenada como *hardfat* no processo de fracionamento térmico da gordura de leite.

- Produzir chocolate ao leite com uma estearina mais dura, aumentando a resistência térmica, tomando os devidos cuidados para não apresentar residual ceroso.
- Fazer a análise sensorial dos chocolates produzidos.
- Pesquisar sobre a microestrutura do chocolate.
- Investigar usos das oleínas obtidas no processamento de alimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABICAB – Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e derivados. Acesso em janeiro de 2013 através do site: www.abicab.org.br/upload/graficos/portugues/arquivo_54.pdf.
- AFOAKWA, E. O., PATERSON, A., FOWLER, M., Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 18: 290 – 298, 2007.
- AFOAKWA, E. O., PATERSON, A., FOWLER, M., VIEIRA, J., Influence of tempering and fat crystallization behaviours on microstructural and melting properties in dark chocolate systems. *Food Research International*. Ontario, 42: 200 – 209, 2009.
- AGUILERA, J. M., MICHEL, M., MAYOR, G., Fat migration in chocolate: diffusion or capillary flow in a particulate solid? - A hypothesis paper. *Journal of Food Science and Technology*, 69: 167 – 174, 2004.
- ALANDER, J., ANDERSSON, A. C., BAGGE, C., BRINGSARVE, K., HJORTH, M., JOHANSSON, M., GRANROTH, B., NORBERG, S., PEDERSEN, M., PERSSON, M., WENNERMARK, B., WENNERMARK, M., *Handbook of Vegetable Oils and Fats*. Lidefelt, Jan-Olof (Ed), AAK Aarhus Karlshamn, 2º edição, Suécia, 2007.
- ALI, A. R. M. D., DIMICK, P. S., Melting and solidification characteristics of confectionary fats: anhydrous milk fat, cocoa butter and palm kernel stearin blends. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71: 803 – 806. 1994.
- ANTONIOSI FILHO, N., MENDES, O. L., LANÇAS, F. M., Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. *Chromatographia*, 40 (9): 557 - 562, 1995.
- AOCS – American Oil Chemists' Society. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society*, 5º edição, Champaign, 2004.
- BARNA, C. M., HARTEL, R. W., METIN, S., Incorporation of milkfat fractions into milk chocolate. *The Manufacturing Confectioner*, 72 (6): 107, 1992.
- BECKETT, S. T., *The Science of Chocolate*. The Royal Society of Chemistry, London, 2000.
- BECKETT, S. T., *Industrial Chocolate Manufacture and Use*. The Royal Society of Chemistry, London, 2009.

- BIGALLI, G., Practical aspects of the eutectic effect on confectionery fats and their mixtures. *The Manufacturing Confectioner*, 68: 65 - 80, 1988.
- BOISTELLE, R., Fundamentals of nucleation and crystal growth. In: *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*. Ed. GARTI, N., SATO, K., Marcel Dekker, New York, p.189 - 226, 1988.
- BOOTELLO, M. A., GARCE'S, R., MARTI'NEZ-FORCE, E., SALAS, J. J., Dry fractionation and crystallization kinetics of high-oleic high-stearic sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88 (12): 1511 – 1519, 2011.
- BRUTTEL, P., SCHLINK, R., *Water Determination by Karl Fischer Titration*. Metrohm Ltd., CH-9101 Herisau, Switzerland, 2003.
- BYSTROM, C. E., HARTEL, R. W., Evaluation of milk fat fractionation and modification for creating cocoa butter replacers. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 27: 142 – 150, 1994.
- CALLIAUW, G., FREDRICK, E., GIBON, V., DE GREYT, W., WOUTERS, J., FOUBERT, I., DEWETTINCK, K., On the fractional crystallization of palm olein: Solid solutions and eutectic solidification. *Food Research International*, 43: 972 - 981, 2010.
- CAMPBELL, L. B., ANDERSON, D. A., KEELY, P.G., Hydrogenated milk fat as an inhibitor of the fat bloom defect in dark chocolate. *Journal of Dairy Science*, 52: 976 - 979, 1969.
- CAMPOS, R. Experimental Methodology. In: *Fat Crystal Networks*. Ed. MARANGONI, A.J. Marcel Dekker, New York, p. 267 - 349, 2005.
- CHAPMAN D., Infrared spectra and the polymorphism of glycerides. *Journal of the Chemical Society*; 55 - 60, 1957.
- CHEN, H., SCHWARTZ, S. J., SPANOS, G. A., Fractionation of butteroil by supercritical carbon dioxide. *Journal of Dairy Science*, 75: 2659 – 2669, 1992.
- CHEVALLEY, J., Rheology of Chocolate. *Journal of Texture Studies*, 6 (2): 177 - 196, 1975.
- DAHLENBORG, H., MILLQVIST-FUREBY, A., BERGENSTÅHL, B., KALNIN, D. J. E., Investigation of Chocolate Surfaces Using Profilometry and Low Vacuum Scanning Electron Microscopy. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88: 773 – 783, 2011.
- DE MAN, J. M., Physical properties of milk fat. I. Influence of chemical modification. *Journal of Dairy Research*, 28: 81 - 86, 1961.
- DEFFENSE, E., Milk fat fractionation today: A review. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70 (12): 1193 – 1201, 1993.

- DEFENSE, E., Dry fractionation technology in 2000. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 102 (3): 234 - 236, 2000.
- DUCK, W., The measurement of unstable fat in finished chocolate. *The Manufacturing Confectioner*, 35 (6): 67 - 72, 1964.
- FATOUH, A. E., SINGH, R. K., KOEHLER, P. E., MAHRAN, G. A., EL-GHANDOUR, M. A., METWALLY, A. E., Chemical and thermal characteristics of buffalo butter oil fractions obtained by multi-step dry fractionation. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 36: 483 – 496, 2003.
- GRAEF, V. D., FOUBERT, I., AGACHE, E., BERNAERT, H., LANDUYT, A., VANROLLEGHEM, P. A., DEWETTINCK, K., Prediction of migration fat bloom on chocolate. *European Journal of Lipid Science & Technology*, 107: 297 – 306, 2005.
- GRALL, D. S., HARTEL, R. W., Kinetics of butterfat crystallization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 69: 741 – 747, 1992.
- HARTEL, R. W., Chocolate: fat bloom during storage. The influence of structural elements. *The Manufacturing Confectioner*, 79 (5): 89 – 99, 1999.
- HARTEL, R. W., *Crystallization in Foods*. An Aspen Publication, Inc. Gaithersburg, Maryland, 2001.
- HARTEL R.W.; BAOMIN L.; YUPING S., inventores, Wisconsin Alumni Research Foundation, cessionário. Continuous crystallization system with controlled nucleation for milk fat fractionation. United States Patent US 6383456. 7 de maio de 2002.
- HARTMAN, L., LAGO, R., Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, 22: 475 - 476, 1973.
- ICCO – International Cocoa Organization. Acesso em agosto de 2012 através do site: www.icco.org/statistics/production.aspx.
- JAMES, B. J., SMITH, B. G., Surface structure and composition of fresh and bloomed chocolate analysed using X-ray photoelectron spectroscopy, cryo-scanning electron microscopy and environmental scanning electron microscopy. *Food Science and Technology*, 42: 929 – 937, 2009.
- JORGE, M. C., RODRIGUEZ, I., HOMBRE, R., Evaluation of an instrumental method of texture analysis for quality control of chocolate bars. *Alimentaria*, 36 (305): 73 - 76, 1999.

- KARABULUT, I., TURAN, S., ERGIN, G., Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*, 218: 224 - 229, 2004.
- KAYLEGIAN, K. E., HARTEL, R. W., LINDSAY, R. C., Applications of modified milk fat in food products. *Journal of Dairy Science*, 76 (6): 1782 – 1796, 1993.
- KLEYN, D. H., Textural aspects of butter. *Food Technology*, 46: 118 – 121, 1992.
- KINTA, Y., HATTA, T., Composition, structure, and color of fat bloom due to the partial liquefaction of fat in dark chocolate. *Journal of American Oil Chemists' Society*. Champaign, 84: 107 - 115, 2007.
- LEISSNER, R., HOGENBIRK, G., NILSSON, F., PETERSSON, B., ALANDER, F., HELMBRING, G., STENMYR, C., LINGHEDE, M., GUNNERDAL, F., *Cocoa Butter Alternatives: Handbook Karlshamns Oils & Fats Academy*, vol. 3, 1991.
- LOHMAN, M., HARTEL, R., Effect of milk fat fractions on fat bloom in dark chocolate. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 3: 267 - 276, 1994.
- LOISEL, C., KELLER, G., FORTE, L., ANDRIEUX, K., DAHIM, M., OLLIVON, M., BOURGAUX, C., LESIEUR, P., Phase transitions and polymorphism of cocoa butter. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75 (4): 425 – 439, 1998.
- LONCHAMPT, P., HARTEL, R. W., Fat bloom in chocolate and compound coatings. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106: 241 – 274, 2004.
- LONCHAMPT, P., HARTEL, R. W., Surface bloom on improperly tempered chocolate. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108: 159 – 168, 2006.
- LOPEZ, C., LAVIGNE, F., LESIEUR, P., BOURGAUX, C., OLLIVON, M., Thermal and structural behavior of milk fat. 1. Unstable species of anhydrous milk fat. *Journal of Dairy Science*, 84: 756 - 766, 2001.
- LOPEZ, C., BOURGAUX, C., LESIEUR, P., RIAUBLANC, A., OLLIVON, M., Milk fat and primary fractions obtained by dry fractionation 1. Chemical composition and crystallisation properties. *Chemistry and Physics of Lipids*, 144: 17 – 33, 2006.
- LUCCAS, V., *Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate*. Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Tese (Doutorado), 2001.

- MAES P,J,A., DIJKSTRA A.J., inventores, N. V. Vandemoortele International, cessionário. Method for dry fractionation of fatty substances. European patent application EP 93117664. 27 de outubro de 1994.
- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 de 07 de março de 1996. Acesso em janeiro de 2013 através do site: http://www.agais.com/normas/leite/gordura_anidra.htm.
- MARANGONI, A. G., The functionality of milkfat fractions in confectionery and plastic fats. IN: *Engineering and Food for the 21st Century*, Welti-Chanes, J., Barbosa-Cánovas, G. V., Aguilera, J. M. (Ed), CRC Press, 2002.
- MARANGONI, A. G., *Fat Crystal Networks*. CRC Press, 2005.
- MARTINI, S., AWAD, T., MARANGONI, A. G., Structure and properties of fat crystals networks. In *Modifying Lipids for Use in Foods*, Gunstone (Ed), CRC Press, New York, 2006.
- McGAULEY, S. E., MARANGONI, A. G., Static crystallization behavior of cocoa butter and its relationship to network microstructure. IN: *Physical Properties of Lipids*. Marangoni, A.G.; Narine, S.S. (Eds), C.C. CRC Press, Boca Raton, p. 85 - 123, 2002.
- METIN, S.; HARTEL, R. W., Thermal analysis of isothermal crystallization kinetics in blends of cocoa butter with milk fat or milk fat fractions. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 75: 1617 - 1624, 1998.
- MIQUEL, M. E., CARLI, S., COUZENS, P. J., WILLE, H. J., HALL, L. D., Kinetics of the migration of lipids in composite chocolate measured by magnetic resonance imaging. *Food Research International*, 34: 773 – 781, 2001.
- NORBERG, S., Chocolate and confectionery fats. In: *Modifying Lipids for Use in Food*, Gunstone, F. D. (Ed), Woodhead Publishing, 2006.
- PAJIM, B., JOVANOVIC, O., Influence of high-melting milk fat fraction on quality and fat bloom stability of chocolate. *Journal European Food Research and Technology*, 220: 389 – 394, 2005.
- O'BRIEN, R.D., Fats and oils analysis. In: *Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications*. Ed. O'BRIEN, R.D. 2º edição, ed. CRC Press, New York, 2004.
- O'BRIEN, R.D., Fats and Oils Formulation. In: *Fats and Oils Formulation*. Ed. O'BRIEN, R.D. 3º edição, ed. CRC Press, New York, 2008.

- REDDY, S. Y., FULL, N., DIMICK, P. S., ZIEGLER, G.R., Tempering method for chocolate containing milk-fat fractions. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 73: 723 - 727, 1996.
- RIBEIRO, A.P.B., GRIMALDI, R., GIOIELLI, L. A., GONÇALVES, L. A. G., Zero trans fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physico-chemical properties and food applications. *Food Research International*, 42: 401 - 410, 2009.
- RIBEIRO, A. P. B., SILVA, R. C, GIOIELLI, L. A., GONÇALVES, M. I. de A., GRIMALDI, R., GONÇALVES, L. A. G. e KIECKBUSCH, T. G., Physico-chemical properties of Brazilian cocoa butter and industrial blends. Part I - Chemical composition, solid fat content and consistency. *Grasas y Aceites*, 63 (1): 79 – 88, 2012.
- RUSCHEINSKY, N. *Estudo da cristalização e fracionamento térmico a seco da gordura de Cupuaçu (Theobroma grandiflorum Schumann)*. Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas. Dissertação (Mestrado), 2005.
- SATO, K., Crystallization behavior of fat and lipids – a review. *Chemical Engineering Science*, 56: 2255 – 2265, 2001.
- SHI, Y., SMITH, C. M., HARTEL, R. W., Compositional effects on milk fat crystallization. *Journal of Dairy Science*, 84: 2392 - 2401, 2001.
- SHUKLA, V. K. S., Cocoa butter, Cocoa butter equivalents and cocoa butter substitutes. In: *Handbook of Functional Lipids*. Akoh C. C. (Ed), Taylor and Francis, vol. 7, Boca Raton, 2006.
- TALBOT, G., Chocolate temper. In: *Industrial Chocolate: Manufacture and Use*, Beckett, S. T. (Ed), Blackwell Science, Oxford, 1999.
- TANABE, N. A., HOFBERGER, R., Chocolate. In: *Handbook of Food Science, Technology and Engineering*, Hui, Y. H. (Ed), Taylor and Francis, vol. 4, 2006.
- TEN GROTENHUIS, E., VAN AKEN, G. A., VAN MALSSSEN, K. F., SCHENK, H., Polymorphism of milk fat studied by differential scanning calorimetry and real-time X-ray powder diffraction. *Journal of American Oil Chemists' Society*. 76: 1031 - 1039, 1999.
- TIMMS, R. E., The phase behaviour of mixtures of cocoa butter and milk fat. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 13: 61 - 65, London, 1980.
- TIMMS, R. E., The phase behaviour and polymorphism of milk fat, milk fat fractions, and fully hardened milk fat. *Australian Journal of Dairy Technology*, 35: 47 – 53, 1980a.
- TIMMS, R. E., *Confectionery Fats Handbook – Properties, Production and Application*. The Oil Press and Lipid Technology, England, 2003.

- VAN AKEN, G.A., TEN GROTENHUIS, E., VAN LANGEVELDE, A. J., SCHENK, H., Composition and crystallisation of milk fat fractions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 1323 – 1331, 1999.
- VANHOUTTE, B., DEWETTINCK, K., VANLERBERGHE, B., HUYGHEBAERT, A., Monitoring milk fat fractionation: effect of agitation, temperature, and residence time on physical properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79 (12): 1169 – 1176, 2002.
- VANHOUTTE, B., DEWETTINCK, K., VANLERBERGHE, B., HUYGHEBAERT, A., Monitoring milk fat fractionation: filtration properties and crystallization kinetics. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80 (3): 213 – 218, 2003.
- VASISHTHA, A. K.; LEEDER, J. G.; CHANG, S. S. Trace hydrogenation of butteroil at low temperatures. *Journal of Food Science*, 35: 395 - 397, 1970.
- VISSOTTO, F. Z., LUCCAS, V., BRAGAGNOLO, N., TURATTI, J. M., GRIMALDI, R., FIGUEIREDO, M. S., Caracterização físico-química e reológica de chocolates comerciais tipo cobertura elaborados com gorduras alternativas. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2: 139 - 148, 1999.
- WALSTRA, P., JENNESS, R., Outline of milk composition and structure. *In: Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley & Sons, New York, 1984.
- WRIGHT, A.J., MARANGONI, A.G., The effect of minor components on milkfat crystallization, microstructure, and rheological properties. *IN: Physical Properties of Lipids*. Marangoni, A.G.; Narine, S.S. (Eds).. C.C. CRC Press, Boca Raton, 2002.

APÊNDICE A

Para melhor compreensão dos resultados de tensão de ruptura (*snap*) dos chocolates, foi realizado o Teste de Tukey para o chocolate ao leite padrão e com estearina, armazenado sob temperatura constante, sob ciclos de temperaturas e comparação dos dois tipos de armazenamento, apresentado na Tabela A.1 e A.2, respectivamente.

Tabela A.1. Teste de Tukey para a tensão de ruptura do chocolate ao leite padrão

Tempo (dia)	Força (kgf/cm ²)		
	Sob temperatura constante	Sob ciclos de temperatura	Comparação dos dois tipos de armazenamentos
0	1,74 ^{a,b}	1,10 ^a	1,42 ^{a,b}
19	1,66 ^{a,b}	1,30 ^{a,b,c,d}	1,48 ^{a,b}
35	1,39 ^b	1,13 ^{a,b}	1,25 ^a
49	1,70 ^{a,b}	1,50 ^d	1,60 ^{a,b}
66	1,64 ^{a,b}	1,21 ^{a,b,c}	1,43 ^{a,b}
76	1,49 ^{a,b}	1,06 ^a	1,27 ^a
94	1,64 ^{a,b}	1,39 ^{b,c,d}	1,51 ^{a,b}
108	1,70 ^{a,b}	1,24 ^{a,b,c,d}	1,47 ^{a,b}
127	1,83 ^a	1,27 ^{a,b,c,d}	1,55 ^{a,b}
136	1,84 ^a	1,48 ^{c,d}	1,66 ^b
150	1,79 ^a	1,43 ^{c,d}	1,61 ^{a,b}

Obs: Expoentes com letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as médias obtidas, calculadas pelo Teste de Tukey.

Em geral, para os dois tipos de chocolates, o Teste de Tukey mostrou que houve diferença significativa a 95% de confiança, entre as médias dos valores de tensão de ruptura quando o chocolate é armazenado sob temperatura constante e sob ciclos de temperatura. Esta

análise estatística foi novamente aplicada para comparação das médias para cada chocolate nos dois tipos de armazenamento que também apresentou diferenças significativas.

Tabela A.2. Teste de Tukey para a tensão de ruptura do chocolate ao leite com estearina

Tempo (dia)	Força (kgf/cm ²)		
	Sob temperatura constante	Sob ciclos de temperatura	Comparação dos dois tipos de armazenamentos
0	1,65 ^a	1,23 ^{a,b}	1,44 ^{a,c}
16	1,26 ^c	0,92 ^e	1,09 ^d
30	1,64 ^a	1,41 ^{a,b,c,d}	1,52 ^{a,b,c}
47	1,78 ^{a,b}	1,33 ^{a,b,c,d}	1,56 ^{a,b,c}
57	1,29 ^c	1,17 ^{a,e}	1,23 ^{c,d}
75	1,83 ^{a,b}	1,61 ^{c,d}	1,72 ^{a,b}
89	2,04 ^b	1,32 ^{a,b,c,d}	1,68 ^{a,b}
108	2,06 ^b	1,49 ^{b,c,d}	1,78 ^{a,b}
117	1,96 ^{a,b}	1,62 ^d	1,79 ^b
131	1,68 ^a	1,58 ^{c,d}	1,63 ^{a,b}
145	1,79 ^{a,b}	1,31 ^{a,b,c}	1,55 ^{a,b,c}
159	1,23 ^c	1,21 ^{a,b,e}	1,22 ^{c,d}

Obs: Expoentes com letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as médias obtidas, calculadas pelo Teste de Tukey.

O Teste de Tukey foi realizado para o armazenamento a temperatura constante e com ciclos de temperatura comparando o comportamento do chocolate ao leite padrão com o chocolate ao leite com estearina, conforme apresentado na Tabela A.3. A análise estatística mostrou que a comparação da tensão de ruptura dos chocolates ao leite padrão e com estearina armazenados a temperatura constante apresentaram diferenças significativas. E quando estes chocolates são armazenados sob ciclos de temperatura, a 95% de confiança, a diferença significativa foi ainda maior.

Tabela A.3. Teste de Tukey para a tensão de ruptura do chocolate ao leite com estearina

Tempo (dia)	Força (kgf/cm²)	
	Sob temperatura constante	Sob ciclos de temperatura
0	1,70 ^{a,b}	1,16 ^{a,b}
18	1,46 ^a	1,11 ^a
33	1,51 ^a	1,27 ^{a,b,c}
48	1,74 ^{a,b}	1,42 ^{b,c}
62	1,47 ^a	1,19 ^{a,b}
76	1,66 ^{a,b}	1,34 ^{a,b,c}
92	1,84 ^b	1,35 ^{a,b,c}
108	1,88 ^b	1,37 ^{a,b,c}
122	1,90 ^b	1,55 ^{c,d}
134	1,76 ^{a,b}	1,80 ^d
148	1,51 ^a	1,37 ^{a,c,b}
162		1,17 ^{a,b}

Obs: Expoentes com letras diferentes na mesma coluna representam diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as médias obtidas, calculadas pelo Teste de Tukey.