



MONISE HELEN MASUCHI

**EFEITO DA ADIÇÃO DE MONOÉSTERES DE SORBITANA E DE
ESTEARINA DA MANTEIGA DE CACAU COMO MODIFICADORES
DE CRISTALIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE CHOCOLATE**

CAMPINAS

2014



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Faculdade de Engenharia Química

MONISE HELEN MASUCHI

**EFEITO DA ADIÇÃO DE MONOÉSTERES DE SORBITANA E DE
ESTEARINA DA MANTEIGA DE CACAU COMO MODIFICADORES DE
CRISTALIZAÇÃO NA PRODUÇÃO DE CHOCOLATE**

Orientador: Prof. Dr. THEO GUENTER KIECKBUSCH

Co-orientador: Dr. RENATO GRIMALDI

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

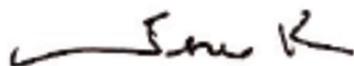
ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA MONISE HELEN MASUCHI, E ORIENTADA PELO PROF. DR. THEO GUENTER KIECKBUSCH.

Assinatura do Orientador

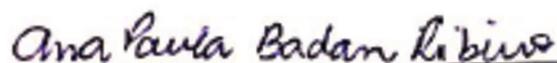
Campinas

2014

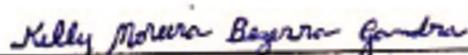
Tese de Doutorado defendida por Monise Helen Masuchi e aprovada em 11 de abril de 2014 pela banca examinadora constituída pelos doutores:



Prof. Dr. Theo Guenter Kieckbusch - Orientador



Profa. Dra. Ana Paula Badan Ribeiro (titular)



Profa. Dra. Kelly Moreira Bezerra Gandra (titular)



Prof. Dr. Lisandro Pavie Cardoso (titular)



Prof. Dr. Luiz Antonio Gioielli (titular)

À minha querida família,
pelo constante amor, ensinamento e suporte.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela força, saúde e bênçãos em minha vida.

À minha querida família (Eric, Inez, Vanderlei, Marcos, Eglê, Marjorie, Fábio e avós) por todo amor, ensinamento e suporte.

Ao Professor Theo Guenter Kieckbusch por toda dedicação e excelente orientação.

Ao Dr. Renato Grimaldi pela valiosa contribuição na minha escolha profissional desde a orientação da iniciação científica e também pela co-orientação do doutorado.

Aos colegas do ChocoLab e do LEPPBio (Amanda, Ana Paula, Andrea, Élide, Eriksen, Glazieli, Katrina, Mariana, Rodrigo e Valter) por toda amizade, paciência e parceria indispensáveis.

Aos colegas e funcionários da Faculdade de Engenharia Química (FEQ-UNICAMP), Cereal Chocotec (Instituto de Tecnologia de Alimentos - ITAL), Laboratório de Óleos e Gorduras (FEA-UNICAMP), Laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF-USP), Laboratório de Preparação e Caracterização de Materiais (Instituto de Física "Gleb Wataghin" - UNICAMP).

A todos alunos, pesquisadores e professores envolvidos no projeto temático FAPESP, do qual este trabalho faz parte.

Aos amigos que me apoiaram e estiveram presentes durante este trabalho.

Às alunas do curso de Nutrição da FCA-UNICAMP (Karina, Larissa, Caroline, Camila, Júlia, Gabriela e Kamila) por todo aprendizado.

À FAPESP pela concessão da bolsa de doutorado.

RESUMO

O comportamento de cristalização da manteiga de cacau (MC) é um importante parâmetro estrutural no desenvolvimento de chocolates com significativa resistência à formação do *fat bloom* – um defeito comum em chocolates, caracterizado pela superfície com aparência esbranquiçada e perda de brilho devido à recristalização lipídica local. Com o objetivo de controlar e estabilizar a formação cristalina da MC em chocolates, neste trabalho avaliou-se a influência da adição de monoésteres de sorbitana (monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato) e de estearina da manteiga de cacau (obtida por fracionamento da MC com solvente) no comportamento de cristalização e consistência, assim como na microestrutura e no polimorfismo da MC. Monoésteres de sorbitana em três diferentes concentrações (0,5; 1,0 e 1,5% m/m) foram adicionados em MC e seus possíveis efeitos como modificadores de cristalização foram avaliados. O monoestearato de sorbitana (SMS) apresentou-se como o estruturante mais efetivo entre todos os emulsificantes testados, cuja atuação foi atribuída a sua solubilidade em meio orgânico e capacidade de auto-montagem. A adição de 0,5% de SMS em MC promoveu aumento relevante na temperatura de início de cristalização da MC (de 19,3 para 21,6°C) e de 60% na consistência a 10°C, e o típico comportamento de cristalização isotérmica da manteiga de cacau na forma de um *plateau* foi atenuado. Em paralelo, o fracionamento da manteiga de cacau realizado a 17°C com adição de acetona (MC:solvente = 1:7) produziu uma estearina rica em triacilgliceróis monoinsaturados simétricos, que foi adicionada à MC em três diferentes proporções (95:5, 90:10 e 80:20, m/m) e seus principais atributos físico-químicos determinados. Comparada à MC pura, a mistura 80:20 apresentou aumento de 67% na consistência à 10°C e taxa de cristalização consideravelmente maior. MC contendo 0,5% de SMS e misturas de 80:20 de MC e sua estearina foram usadas na produção de barras de chocolate amargo. As barras foram caracterizadas por avaliação comparativa visual, teste de ruptura, Índice de Brancura, observações por MEV, comportamento de fusão por DSC e polimorfismo por difração de Raios-X. Após o monitoramento sob duas condições de armazenamento - isotermicamente a 20°C e sob ciclos de 24h entre 20 e 32°C - a formação de *fat bloom* foi significativamente desacelerada em ambas as formulações com uso dos modificadores de cristalização estudados, em comparação com a formulação padrão. A transição polimórfica da Forma V para a Forma VI - que representa o mecanismo mais aceito para a formação do *fat bloom* em chocolates armazenados sob temperaturas abusivas - pode ser correlacionada com o começo do desenvolvimento do *fat bloom* superficial.

Palavras-chave: manteiga de cacau, monoéster de sorbitana, fracionamento, cristalização, chocolate.

ABSTRACT

The crystallization behavior of cocoa butter (CB) is the crucial structuration issue in the development of chocolate products with significant resistance to fat bloom - a common defect in chocolates, characterized by a whitish appearance and loss of surface gloss due to local lipid re-crystallization. To control and strengthening the crystallization patterns of CB in chocolates processing, in this work it was evaluated the influence of the addition of sorbitan monoesters (monolaurate, monopalmitate, monostearate and monooleate) and cocoa butter stearin (obtained by solvent fractionation of CB) in the crystallization and consistency behaviors as well as on the microstructure and polymorphism of CB. Sorbitan monoesters at three different concentrations (0.5, 1.0 and 1.5% w/w) were added to CB samples and their possible functioning as crystallization modifiers were evaluated. Sorbitan monostearate (SMS) pointed out as the most effective structurant among all emulsifiers tested, a performance attributable to its solubility in organic medium and the ability of self-assembling. Adding 0.5% of SMS to cocoa butter promoted a sharp increase in the onset of the crystallization temperature (from 19.3 to 21.6°C) and a 60% increase in the consistency at 10°C, and the classic two-step isothermal crystallization behavior was smoothed out. In parallel, CB fractionation runs conducted at 17°C using acetone (CB:solvent = 1:7) produced a symmetric monounsaturated triacylglycerol-rich stearin that were added to cocoa butter at three proportions of CB:stearin (95:5, 90:10 and 80:20, w/w) and main physical-chemical attributes of these mixtures were determined. Compared to pure cocoa butter, the 80:20 mixture showed an increment of 67% in the consistency at 10°C and considerable higher crystallization rates at 17.5°C were found. CB containing 0.5% of SMS and the 80:20 mixture of cocoa butter and cocoa butter stearin were used in dark chocolate bars production. The bars were characterized by visual comparative ratings, snap test, whiteness index, SEM microstructure observations, DSC melting behavior and polymorphism by X-ray diffraction. Storage tests under normal and accelerated conditions confirmed a considerable deceleration in the fat bloom formation rate in samples containing the crystallization crystallization modifiers. The polymorphic transition from Form V to Form VI - which is the most acceptable mechanism for fat bloom formation in chocolates stored under abusive temperature conditions - could be correlated with the onset of surface bloom.

Keywords: cocoa butter, sorbitan monoester, fractionation, crystallization, chocolate.

Sumário

1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1 Cristalização de óleos e gorduras	3
2.2 Manteiga de cacau	4
2.3 Modificação da cristalização da manteiga de cacau	8
2.3.1 Adição de emulsificantes monoésteres de sorbitana.....	9
2.3.2 Fracionamento por solvente.....	11
2.4 Chocolate amargo	12
2.4.1 Definição	12
2.4.2 Processamento	13
2.5 Fat bloom em chocolates	15
2.5.1 Mecanismos de formação	15
2.5.2 Monitoramento do desenvolvimento do <i>fat bloom</i>	16
3. Materiais e Métodos	20
3.1 Materiais	20
3.2 Métodos	21
3.2.1 Métodos analíticos	21
3.2.2 Processamentos.....	27
3.2.3 Local de realização dos experimentos.....	31
3.2.4 Forma de análise dos resultados	31
4. Resultados e Discussões	32
4.1 Caracterização química da manteiga de cacau pura	32
4.2 Ensaio preliminares para seleção entre os emulsificantes monoésteres de sorbitana	34
4.3 Comparação entre os emulsificantes monoestearato e monooleato de sorbitana	42
4.3.1 Conteúdo de gordura sólida	43
4.3.2 Comportamento térmico.....	44
4.3.3 Isoterma de cristalização.....	45
4.3.4 Consistência.....	49
4.3.5 Microestrutura	51

4.3.6	Polimorfismo.....	53
4.3.7	Sugestão de mecanismo de atuação do SMS em manteiga de cacau.....	59
4.4	Obtenção de estearina de manteiga de cacau através de fracionamento por solvente ..	60
4.5	Cristalização da manteiga de cacau contendo estearina de manteiga de cacau	70
4.6	Produção de chocolate amargo padrão e com adição de modificadores de cristalização selecionados.....	74
4.7	Monitoramento do desenvolvimento do <i>fat bloom</i>	76
4.7.1	Avaliação visual.....	77
4.7.2	Índice de Brancura	79
4.7.3	Tensão de ruptura	81
4.7.4	Microestrutura	83
4.7.5	Comportamento de fusão.....	85
4.7.6	Polimorfismo.....	89
5.	Conclusões	95
5.1	Conclusões gerais	95
5.2	Conclusões específicas.....	95
6.	Sugestões para próximos trabalhos.....	97
7.	Referências Bibliográficas.....	98
	Apêndice A: Conteúdo de gordura sólida	105
	Apêndice B: Isotermas de cristalização	106
	Apêndice C: Difractogramas de Raios-X	107
	Apêndice D: Termogramas de DSC.....	109

NOMENCLATURA

CGC – cromatografia gasosa capilar

CGS – conteúdo de gordura sólida

DRX – difração de Raios-X

DSC – calorimetria diferencial de varredura

HPSEC – cromatografia de exclusão por tamanho

IB – Índice de Brancura

MEV – microscopia eletrônica de varredura

RMN – ressonância magnética nuclear

YV – *yield value*

ABREVIATURA DE COMPOSTOS QUÍMICOS

TAG – triacilglicerol

O – ácido oleico

S – ácido esteárico

P – ácido palmítico

POP – 1-palmitil-2-oleoil-palmitina

POS – 1-palmitil-2-oleoil-estearina

SOS – 1-estearil-2-oleoil-estearina

SUS – triacilglicerol monoinsaturado

SSS – triacilglicerol trissaturado

UUU – triacilglicerol triinsaturado

MC – manteiga de cacau

PGPR – poliglicerol poliricinoleato

SMLa – monolaurato de sorbitana

SMP – monopalmitato de sorbitana

SMS – monoestearato de sorbitana

SMO – monooleato de sorbitana

E – estearina

O – oleina

1. Introdução

O desempenho tecnológico de óleos e gorduras, particularmente quando utilizados na produção de alimentos, está intensamente correlacionado as suas características de cristalização. Dependendo da formação cristalina obtida no produto final, este apresenta estrutura e textura específicas, que devem ser mantidas durante seu transporte e estocagem. A composição da matriz lipídica e das demais matérias-primas que compõem a formulação e as condições de processamento e armazenamento, nas quais o produto é submetido, são os principais fatores que afetam a formação e a estabilidade de diferentes redes cristalinas com específicas propriedades físico-químicas.

Manteiga de cacau (gordura extraída de amêndoas de cacau fermentadas), *liquor* de cacau e açúcar são os principais ingredientes utilizados na produção de chocolates. Desta maneira, a massa do chocolate é caracterizada por uma mistura densa de componentes de diferentes polaridades, os quais originam fases lipofílicas e hidrofílicas. A fim de estabilizar esta dispersão, emulsificantes - usualmente lecitina e poliglicerol poliricinoleato - são adicionados na formulação de chocolates.

Um dos principais problemas relacionados ao processo produtivo, à distribuição e ao armazenamento de chocolates é a formação do *fat bloom*. Considerado como um produto com defeito, o que frequentemente induz à sua rejeição pelos consumidores, o chocolate com *fat bloom* apresenta superfície esbranquiçada e sem brilho devido à recristalização da gordura neste local. Os principais fatores associados à formação e ao desenvolvimento do *fat bloom* são: ineficiência no controle dos parâmetros de qualidade no processo produtivo, sobretudo na etapa de temperagem da massa do chocolate; variações abruptas de temperatura (entre $20-30 \pm 2^\circ\text{C}$) durante sua distribuição e/ou estocagem e também devido ao envelhecimento do produto mesmo sob armazenamento a temperaturas amenas ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

Dentro deste contexto e considerando a utilização de boas práticas de fabricação, a modificação da estrutura cristalina e da estabilidade térmica da manteiga de cacau pode ser uma ferramenta promissora para a obtenção de chocolates com desejável resistência à formação e ao desenvolvimento do *fat bloom*.

Para monitorar a formação e o desenvolvimento do *fat bloom* em chocolates, diferentes estratégias e análises experimentais podem ser aplicadas. A estratégia mais empregada, pois acelera o aparecimento do *fat bloom* e, assim, otimiza a avaliação dos processos e produtos investigados, é o armazenamento dos chocolates sob ciclos de temperaturas, uma amena e outra elevada, como por exemplo entre 20 e 32°C , mantendo o produto por 24h em cada condição. Como complemento, pode-se realizar a estocagem de amostras do mesmo processo de fabricação sob temperatura constante e amena ($\sim 20^\circ\text{C}$) para

comparação de resultados (Bonomi, 2013). As análises experimentais que geralmente são realizadas para verificação da formação e desenvolvimento do *fat bloom* em chocolates são: avaliação visual, tensão de ruptura, Índice de Brancura, microestrutura, comportamento de fusão e verificação do hábito polimórfico preferencial.

Diferentes processos podem ser empregados com o objetivo de alterar a estrutura cristalina de óleos e gorduras como por exemplo, hidrogenação total, interesterificação química ou enzimática, fracionamento com ou sem solventes e, também, por misturas com aditivos específicos e/ou outras matrizes lipídicas.

Neste trabalho, foram consideradas duas alternativas para a modificação do comportamento de cristalização da manteiga de cacau: (a) a adição de monoésteres de sorbitana - monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato de sorbitana em manteiga de cacau, separadamente em três diferentes concentrações - 0,5; 1,0 e 1,5% m/m e, paralelamente, (b) a adição de estearina da manteiga de cacau em três diferentes concentrações - 5, 10 e 20% m/m - em manteiga de cacau. Para a obtenção de uma estearina com alto teor de triacilgliceróis monoinsaturados simétricos (SUS, principal grupo de triacilgliceróis encontrado na manteiga de cacau) foi necessário considerar a utilização de outro processo de modificação de óleos e gorduras: o fracionamento da manteiga de cacau pura com utilização de solvente, realizado sob diferentes condições de operação.

Após a avaliação dos diferentes processos utilizados para modificar a estrutura cristalina da manteiga de cacau pura, foram selecionados os dois modificadores que alteraram de maneira mais relevante o comportamento de cristalização da manteiga de cacau e introduzidos separadamente na formulação de chocolate do tipo amargo.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo central avaliar, separadamente, o efeito da adição de emulsificantes do tipo monoésteres de sorbitana e a adição de estearina rica em triacilgliceróis SUS no comportamento de cristalização da manteiga de cacau pura, visando sua aplicação na produção de chocolate amargo, principalmente como promissoras ferramentas para a inibição da formação e desenvolvimento do *fat bloom*.

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Cristalização de óleos e gorduras

O comportamento da cristalização de óleos e gorduras, sobretudo na indústria de alimentos, apresenta-se como fator importante para a obtenção da estrutura, textura e qualidade desejáveis em produtos de base lipídica, durante seu processamento, distribuição e estocagem. Dependendo da composição da matriz lipídica, do meio e das condições de processo ao qual esta é submetida, resultam diferentes redes cristalinas com específicas propriedades físico-químicas (ponto de fusão e velocidade de cristalização, por exemplo) (STAPLEY, HIMAVAN, STAROV, 2006).

Por meio do controle do processo de cristalização de lipídios, a fase cristalina poderá ser estruturada de acordo com os seguintes parâmetros: número de partículas, distribuição de tamanho de partícula, polimorfismo e dispersão. Como exemplo, o processo de temperagem de chocolates é designado para controlar a formação da rede cristalina da manteiga de cacau em grande número de cristais de tamanho pequeno e que estejam estruturados na forma polimórfica desejável (HARTEL, METIN, 2005).

O processo de cristalização se desenvolve em duas etapas: nucleação e crescimento. Na primeira etapa ocorre a formação de núcleos estáveis de cristalização através do resfriamento ou supersaturação do meio. Uma vez formados os núcleos, eles crescem e se desenvolvem em cristais, formando a rede cristalina. Na realidade, nucleação e crescimento de cristais são fenômenos que ocorrem simultaneamente (ULRICH, SZEPE, CHALEEPA, 2010; ROUSSEAU, SONWAI, 2010).

Em seu estado sólido, as gorduras apresentam estrutura organizada tridimensionalmente de maneira repetida. Principalmente devido a diferenças na composição em triacilgliceróis e também em diferentes condições de processamento como velocidade de agitação, taxa de resfriamento e temperatura utilizada, cada gordura pode cristalizar-se com uma estrutura específica (MARANGONI, WESDORP, 2013).

Cristais de gordura de mesma composição química e que apresentam diferentes organizações moleculares obtidas através de condições de cristalização específicas são denominados de polimorfos. Cada uma destas estruturas cristalinas tem grande efeito sobre propriedades físicas das gorduras como consistência e temperatura de fusão, as quais são características relevantes para o processamento e armazenamento de produtos alimentícios. Assim, monitorar e modificar o polimorfismo de gorduras é uma ferramenta importante no desenvolvimento e melhoramento de produtos que contêm em sua formulação determinada matriz lipídica (MARANGONI, WESDORP, 2013).

Cada forma polimórfica pode ser identificada através da técnica de difração de Raios-X devido ao

fato de apresentarem distintos *short spacings* - distância entre grupos acila na molécula do triacilglicerol. Desde estudos publicados por Clarkson e Malkin, em 1934, esta técnica é considerada como decisiva para caracterizar o polimorfismo de triacilgliceróis puros e gorduras (HARTEL, METIN, 2005; MARANGONI, WESDORP, 2013).

2.2 Manteiga de cacau

Como todas as gorduras naturais, a manteiga de cacau é formada em sua maior parte por uma mistura de triacilgliceróis (TAGs). Dependendo do local de origem da manteiga de cacau, sua composição em ácidos graxos é de, aproximadamente, 35% de ácido oléico (O), 34% de ácido esteárico (S) e 26% de ácido palmítico (P). Os TAGs encontrados em maior quantidade na manteiga de cacau são: POP (1-palmitil-2-oleoil-palmitina), SOS (1-estearil-2-oleoil-estearina) e POS (1-palmitil-2-oleoil-estearina), nos quais o ácido oléico ocupa preferencialmente a posição *sn-2* da cadeia do glicerol, formando TAGs simétricos na combinação saturado-insaturado-saturado (SUS, do inglês *saturated-unsaturated-saturated*). A composição triacilglicerólica típica da manteiga de cacau brasileira é de aproximadamente 36%, 25% e 18% de POS, SOS e POP, respectivamente. Devido a sua composição, a manteiga de cacau apresenta características específicas como, por exemplo, ponto de fusão bem definido, entre a temperatura ambiente e a da boca (BECKETT, 2008; AWAD, MARANGONI, 2006; HAMIDI-ESFEHANI *et al.*, 2010; YAMADA, IBUKI, MCBRAYER, 2005).

Quando comparada às variedades produzidas em outros países, a manteiga de cacau brasileira apresenta menores teores de TAGs monoinsaturados (SOS, POP, POS) e maiores teores de TAGs diinsaturados (1-estearil-dioleína - SOO, 1-palmitil-dioleína - POO). Relacionado possivelmente a esta característica, a manteiga de cacau brasileira pode apresentar comportamento de cristalização insatisfatório (LIPP, ANKLAM, 1998). Segundo Foubert *et al.* (2004), a manteiga de cacau brasileira é conhecida por apresentar menor conteúdo do triacilglicerol SOS e exibir consistência mais macia se comparada a manteiga de cacau de outras origens. Devido a este fator, a aplicação desta matéria-prima requer comumente que esta seja previamente misturada com manteiga de cacau mais dura ou mesmo, outras gorduras (RIBEIRO *et al.*, 2012).

A manteiga de cacau possui aproximadamente 20% de TAGs que são líquidos à temperatura próxima à ambiente. Sua composição pode ser determinada por diferentes métodos analíticos, como cromatografia gasosa e líquida (LOVEGREN, GRAY, FEUGE, 1976).

Na Tabela 2.1, são apresentadas as composições típicas em termos dos triacilgliceróis monoinsaturados simétricos (POP, POS e SOS) da manteiga de cacau brasileira e de outras

nacionalidades, cujos valores médios foram obtidos da literatura (SHUKLA, 2005).

Tabela 2.1. Composição (%) em triacilgliceróis principais de manteigas de cacau de diferentes nacionalidades (Adaptado de Shukla, 2005).

TAG (%)	Brasil	Gana	Índia	Costa do Marfim	Malásia	Sri Lanka	Nigéria
POP	13,6	15,3	15,2	15,2	15,1	14,8	15,5
POS	33,7	40,1	39,4	39,0	40,4	40,2	40,5
SOS	23,8	27,5	29,3	27,1	31,0	31,2	28,8
Total	71,1	82,9	83,9	81,3	86,5	86,2	84,8

Quanto ao polimorfismo, a manteiga de cacau apresenta diferentes formas cristalinas, as quais são caracterizadas por diferentes pontos de fusão, estabilidade e calor latente de fusão. De acordo com dados da literatura, esta gordura pode cristalizar-se em seis diferentes formas denominadas pelos números romanos (I, II, III, IV, V e VI), pelas letras gregas (γ , α , β_2' , β_1' , β_2 e β_1) ou ainda pela junção destas duas nomenclaturas (γ , α , β''' , $\beta'IV$, βV e βVI), em ordem crescente de estabilidade (NORBERG, 2006; BAKALIS *et al.*, 2010; ROUSSEAU, SONWAI, 2010). Na Tabela 2.2, são apresentados os valores médios (segundo Wille e Lutton, 1966) e faixas (segundo Beckett, 2008) de temperatura de fusão de cada polimorfo da manteiga de cacau.

Tabela 2.2. Valores médios e faixas de temperatura de fusão (Tf) das seis diferentes formas polimórficas da manteiga de cacau (adaptado de Wille e Lutton, 1966 e Beckett, 2008).

Forma cristalina	Tf média (°C)	Tf faixa (°C)
I	17,3	16-18
II	23,3	22-24
III	25,5	24-26
IV	27,5	26-28
V	33,8	32-34
VI	36,3	34-36

A Forma V é a forma cristalina desejável em chocolates pois, dentre outras características, funde-se a aproximadamente 33°C - temperatura próxima à temperatura corporal - e apresenta propriedades de cor,

brilho e quebra desejáveis para o chocolate de boa qualidade (NORBERG, 2006; BAKALIS *et al.*, 2010; ROUSSEAU, SONWAI, 2010). Além destas propriedades, a Forma V tem grande importância pois apresenta a habilidade de envolver e manter óleo líquido dentro de sua rede cristalina, evitando a migração de triacilgliceróis líquidos para a superfície do chocolate (WINDHAB *et al.*, 2011). A Forma I é considerada a menos estável enquanto que a Forma VI é caracterizada como o polimorfo termodinamicamente mais estável, porém sua formação durante a estocagem pode estar associada ao *fat bloom* - fenômeno caracterizado pelo esbranquiçamento da superfície do chocolate e/ou aparecimento de pontos brancos (KALNIN *et al.*, 2011). A Figura 2.1 de autoria de Schenck e Peschar (2004) apresenta o difratograma típico para 5 diferentes polimorfos da manteiga de cacau, obtido por difração de Raios-X.

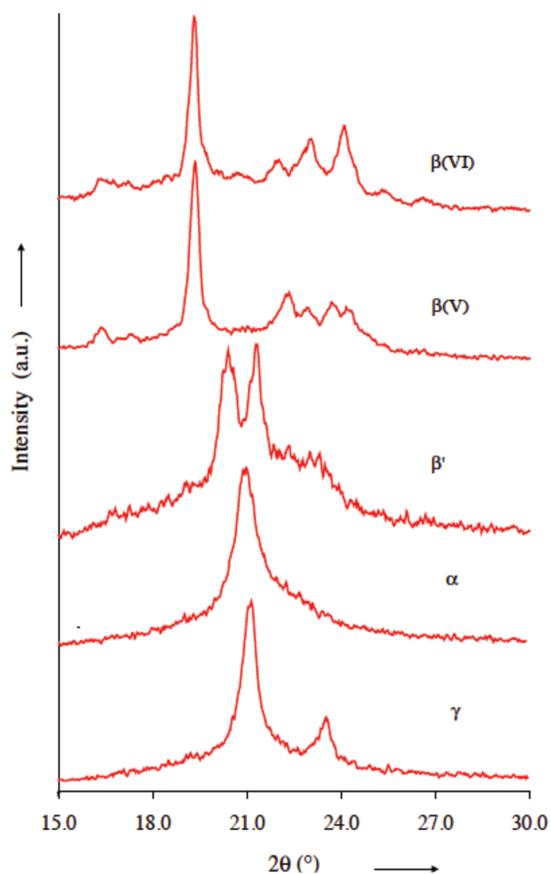


Figura 2.1. Difratogramas de Raio-X obtidos para os padrões das diferentes formas cristalinas da manteiga de cacau (Fonte: SCHENCK, PESCHAR, 2004).

Para determinar o polimorfismo predominante em amostras de manteiga de cacau pode-se considerar os valores de *short spacing* (distância interplanar) específicos para cada forma cristalina, além do perfil típico apresentado no difratograma padrão da Figura 2.1. As Formas V e VI da manteiga de cacau

apresentam os seguintes *short spacing* característicos: 4,58; 3,98; 3,87; 3,73; 3,65 Å e 4,53; 4,01; 3,84; 3,67 Å, respectivamente. Estas formas podem ser identificadas através destes valores e das intensidades de cada um desses picos (CHAPMAN, AKEHURST, WRIGHT, 1971).

Tendo em vista a necessidade de obter cristais de manteiga de cacau em sua forma mais desejável (V), dentre as seis formas possíveis, produzir chocolates requer um cuidadoso controle de seu processo de cristalização, denominado de temperagem. Assim, por exemplo, atributos de brilho e dureza do produto são estabelecidos de acordo com as características sensoriais desejáveis pelo consumidor (BECKETT, 2008; KALNIN *et al.*, 2011; AWAD, MARANGONI, 2006). O processo de temperagem de chocolates é realizado por meio de um programa de temperaturas definido, sob agitação, formando assim uma pequena porção (1 a 3% em volume) de sementes de cristalização. Neste processo, a gordura líquida restante solidifica-se ao redor dos núcleos, que irão induzir a forma polimórfica desejável (WINDHAB *et al.*, 2011).

Devido à alta complexidade no controle da temperatura, do tempo de nucleação e do crescimento dos cristais, envolvida nas operações industriais para a cristalização adequada da manteiga de cacau, com a própria variação da composição da matéria-prima e também durante o armazenamento do produto final, o chocolate pode desenvolver certos defeitos como o *fat bloom*. Na Figura 2.2 pode-se observar a aparência visual da superfície de chocolate amargo com e sem o desenvolvimento de *fat bloom*.

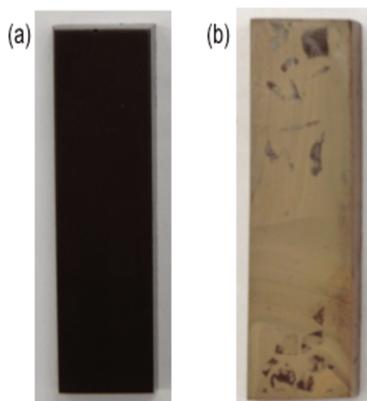


Figura 2.2. Imagem da superfície de chocolate amargo (a) sem e (b) com desenvolvimento de *fat bloom*.

Mesmo sendo estudado extensivamente, o mecanismo envolvido na formação do *fat bloom* não está totalmente elucidado. A causa mais aceita é atribuída ao mecanismo envolvendo migração de lipídios de baixo peso molecular do interior do chocolate para sua superfície, combinada ou não com transições polimórficas dos cristais de manteiga de cacau da Forma V para a VI, através de uma transformação no estado sólido, após longo tempo de estocagem e variações de temperatura (KALNIN *et al.*, 2011). Como

possível modificação para retardar a formação de *fat bloom*, tem-se a substituição parcial da manteiga de cacau pela gordura do leite pois, dentre outros motivos, esta diminui a transição da Forma V para VI, observada em produtos com *fat bloom* (ROUSSEAU, SONWAI, 2010). Outro estudo relata que determinados emulsificantes como lecitinas e triésteres de sorbitana também podem agir como inibidores do *fat bloom* em chocolates (LONCHAMPT, HARTEL, 2004).

2.3 Modificação da cristalização da manteiga de cacau

Diversos óleos e gorduras têm suas propriedades físicas como temperatura de fusão, comportamento de cristalização, polimorfismo e microestrutura frequentemente modificadas através de processos como hidrogenação total ou parcial, interesterificação química e/ou enzimática, fracionamento a seco e/ou com solvente orgânico e por meio de misturas com aditivos específicos a fim de apresentarem determinada aplicabilidade tecnológica para diferentes processamentos e produtos (DIJKSTRA, 2007).

A complexidade existente na cristalização da manteiga de cacau e de outras gorduras pode ser associada a diversos fatores como composição química da matéria-prima, condições de processamento e também de armazenamento. Com relação a sua composição química, a presença de diferentes componentes minoritários no sistema de uma gordura, como por exemplo, alguns lipídios polares, pode alterar sua cristalização e, conseqüentemente, sua estabilidade durante o período de estocagem (WINDHAB, JEELANI, PADAR, 2008). Desta maneira, pode-se avaliar os efeitos da presença de lipídios minoritários em uma gordura comparando as características da fração concentrada em seus triacilgliceróis majoritários com as da matéria-prima original, após a aplicação da técnica de fracionamento de gorduras.

Por outro lado, a fim de alterar a cinética de cristalização e polimorfismo da manteiga de cacau, pode-se também adicionar a esta gordura compostos como monoacilgliceróis, diacilgliceróis, triacilgliceróis e emulsificantes específicos. Ulrich, Szepes e Chaleepa (2010) avaliaram os efeitos da adição de emulsificantes ésteres de sacarose na cristalização de óleo de coco. Seus resultados revelaram que a inibição da cristalização do óleo ocorreu devido à dissimilaridade molecular entre o óleo e o aditivo empregado. Segundo Windhab *et al.* (2011), através das técnicas de calorimetria diferencial de varredura e microscopia confocal de varredura a *laser*, verificou-se que o emulsificante lecitina tem impacto relevante na cinética de cristalização da manteiga de cacau, reduzindo seu tempo de indução.

Neste aspecto, estudos acerca da cinética de cristalização, polimorfismo, microestrutura e comportamento térmico da manteiga de cacau sob a influência de determinados emulsificantes e também lipídios minoritários, são ferramentas promissoras para o desenvolvimento de produtos a base desta gordura com melhores propriedades sensoriais e de estabilidade, almejando aumentar sua aceitação pelo

consumidor. No caso específico de chocolates, os conhecimentos adquiridos através da adição de emulsificantes específicos na manteiga de cacau e também através do uso do fracionamento da manteiga de cacau podem auxiliar na melhoria de sua qualidade amenizando ou mesmo evitando problemas comuns a estes produtos como exsudação de óleo, transições polimórficas e desenvolvimento de *fat bloom*.

2.3.1 Adição de emulsificantes monoésteres de sorbitana

Emulsificantes são agentes ativos nas interfaces, geralmente adicionados em sistemas originalmente imiscíveis, que apresentam uma fase lipofílica e outra hidrofílica. No caso de chocolates, o emulsificante atua na dispersão da fase sólida (açúcar, sólidos de cacau) na fase contínua lipídica (manteiga de cacau), inibindo a aglomeração da gordura e diminuindo a viscosidade (BECKETT, 2008; ARAÚJO, 2006; LONCHAMPT, HARTEL, 2004).

Em adição as suas funções conhecidas de emulsificação e estabilização de emulsões, os emulsificantes podem também modificar o comportamento da fase contínua de um produto alimentício, conferindo-lhe benefícios específicos. Em produtos ricos em lipídios, os emulsificantes podem ser utilizados para controlar ou modificar as propriedades de cristalização da fase gordurosa. O estudo dos efeitos de emulsificantes em sistemas lipídicos é de grande interesse para o melhoramento de bases industriais, particularmente em relação às gorduras para uso em chocolates, confeitaria e panificação. Porém, o papel destes como modificadores de cristalização em gorduras tem sido pouco explorado na literatura (HASENHUETTL, 2008).

Utilizados em diferentes produtos alimentícios, os emulsificantes podem ser ésteres parciais de ácidos graxos de origem animal ou vegetal e álcoois polivalentes, como o glicerol, propileno glicol, sorbitol e sacarose. Eles podem estar também esterificados com ácidos orgânicos, como ácido tartárico, láctico, succínico, cítrico, entre outros (ARAÚJO, 2006).

Lecitina é o emulsificante mais utilizado em chocolates, geralmente em conjunto com outro emulsificante denominado PGPR - poliglicerol poliricinoleato. Ambos atuam em sinergismo alterando a viscosidade plástica e o limite de escoamento de chocolates (BECKETT, 2008).

Outros emulsificantes, como ésteres de sorbitana, são também frequentemente aplicados na fabricação de chocolates. São considerados menos efetivos em reduzir o limite de escoamento ou a viscosidade plástica se comparados com misturas de lecitina e PGPR; mas alteram características como o brilho, melhoram a palatabilidade e, especialmente, a vida de prateleira de chocolates, evitando a formação de *fat bloom* (BECKETT, 2008). Estes compostos promovem alterações nas propriedades de superfície dos lipídios, resultando em mudanças relativas ao tamanho e morfologia dos cristais e à densidade

cristalina (GARTI, 2002).

Os ésteres de sorbitana são obtidos pela esterificação de ácidos graxos com sorbitol desidratado. No caso dos monoésteres de sorbitana, há apenas a esterificação por uma molécula de ácido graxo no sorbitol (ARAÚJO, 2006). Como exemplo de monoésteres de sorbitana tem-se o monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato de sorbitana. A estrutura química geral de um monoéster de sorbitana pode ser observada na Figura 2.3, na qual a letra R representa a cadeia carbônica proveniente de diferentes ácidos graxos.

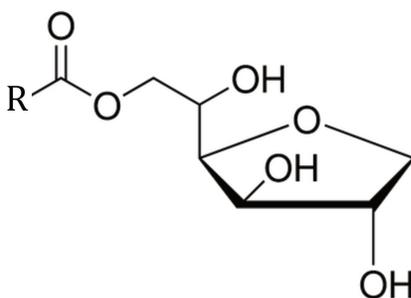


Figura 2.3. Estrutura química geral de um monoéster de sorbitana (adaptado de Sigma-Aldrich, 2014).

De maneira geral, os ésteres de sorbitana mostram-se também efetivos na estabilização do Polimorfo β' em margarinas e na modificação do conteúdo de gordura sólida de gorduras em geral, para levar a perfis de fusão adequados à temperatura corporal (O'BRIEN, 2004).

A fim de interpretar os efeitos do uso de emulsificantes na cristalização de gorduras, dois diferentes mecanismos têm sido reportados na literatura. O primeiro deles refere-se à atuação destes aditivos como hetero-núcleos, acelerando a cristalização pela ação catalítica direta como impurezas. Durante o crescimento cristalino, os emulsificantes seriam adsorvidos na superfície dos cristais e, conseqüentemente, modificariam a taxa de incorporação dos TAGs e a morfologia cristalina. O segundo mecanismo, de maior consenso entre vários autores, considera que os TAGs e emulsificantes seriam passíveis de co-cristalizar devido à similaridade entre suas estruturas químicas. Assim, a dissimilaridade estrutural também acarretaria atrasos na nucleação e possível inibição do crescimento cristalino (CERDEIRA *et al.*, 2003; GARTI, 2002).

Estudos específicos sobre a ação do emulsificante monoestearato de sorbitana demonstram que este é capaz de formar gel em solventes orgânicos e em óleos vegetais, após ser disperso e/ou dissolvido a temperaturas elevadas ($\sim 60^{\circ}\text{C}$). Considerado como um surfactante, com o resfriamento do meio,

desestabiliza-se no meio no qual foi dissolvido devido a diferença de afinidade polar e se auto molda em vesículas tubulares que se associam formando uma rede tridimensional (MURDAN, GREGORIADIS, FLORENCE, 1999; CO, MARANGONI, 2012).

2.3.2 Fracionamento por solvente

O fracionamento de gorduras pode ser baseado em diferenças de solidificação e de solubilidade de diferentes compostos. Através do fracionamento, os triacilgliceróis de um óleo ou gordura são separados de maneira a se obter uma fração com baixo ponto de fusão (oleína) e outra com alto ponto de fusão (estearina). O fracionamento pode ser realizado de maneira convencional a seco ou também através da adição de solvente (ILLINGWORTH, 2002).

O fracionamento a seco requer um rígido controle da taxa de resfriamento para a formação dos cristais (estearina). Posteriormente, há a separação dos cristais do meio líquido (oleína). Geralmente o processo de fracionamento a seco é utilizado para sistemas lipídicos nos quais o ponto de fusão dos triacilgliceróis presentes é suficientemente diferente para propiciar a separação apenas por uso de temperatura (ILLINGWORTH, 2002).

No caso do fracionamento por solvente, este é adicionado à gordura e uma solução diluída é formada. Acetona e hexano - solventes mais comumente utilizados em fracionamento de óleos e gorduras - consistem em moléculas menores do que a dos triacilgliceróis. Os solventes apresentam também baixo ponto de fusão e assim são improváveis de se cristalizar na solução com lipídios. A adição do solvente ao óleo ou gordura reduz a viscosidade da miscela formada, permitindo o aumento da mobilidade das moléculas de triacilgliceróis. Conseqüentemente, os TAGs tornam-se mais susceptíveis a acoplar-se na configuração da superfície de um cristal de TAGs semelhantes em crescimento. Isto resulta em cristais de tamanho maiores e com menor tendência à formação de mistura de diferentes cristais. Assim, devido à alta diluição do sistema e formação de cristais grandes, o fracionamento com solvente é caracterizado por cristalização rápida e de fácil filtrabilidade. Sua principal vantagem frente aos demais processos de separação é a alta eficiência de separação, obtendo frações com pureza elevada. Quanto as desvantagens, pode-se citar o alto custo de produção, o alto investimento e também o perigo de incêndio (KELLENS *et al.*, 2007; ILLINGWORTH, 2002).

A escolha do solvente para cada tipo de fracionamento requer certa avaliação a fim de selecionar aquele que propicia a obtenção de frações oleína e estearina de interesse. O hexano apresenta a vantagem de ser mais solúvel em sistemas lipídicos do que a acetona e, portanto, a razão de solvente para sistema lipídico é menor do que com o uso de acetona. Por outro lado, a acetona apresenta maior

seletividade aos triacilgliceróis do que o hexano. Assim, no fracionamento com acetona, os triacilgliceróis monoinsaturados simétricos tendem a cristalizar-se em maior quantidade do que os monoinsaturados assimétricos, sendo então este solvente importante na obtenção da fração rica em SUS da manteiga de cacau (ILLINGWORTH, 2002; HASHIMOTO *et al.*, 2001).

No fracionamento da manteiga de cacau, utilizando 9% de solução de manteiga de cacau em acetona a 0°C, foram obtidas frações de manteiga de cacau com alto e com baixo ponto de fusão, apresentando rendimento de 80,2 e 19,8%, respectivamente. Os triacilgliceróis majoritariamente presentes na fração com alto ponto de fusão da manteiga de cacau foram: POS, SOS e POP. Esta fração apresentou ponto de fusão maior do que a manteiga de cacau não fracionada, sendo este valor de 38°C e 34°C, respectivamente, com menor faixa de temperatura de fusão (LOVEGREN, GRAY, FEUGE, 1976).

O uso da fração com alto ponto de fusão obtida do fracionamento da manteiga de cacau tem sido estudado devido ao seu efeito redutor de *fat bloom* em chocolates. Esta fração é caracterizada por apresentar alta concentração de SUS, aproximadamente 3% de triacilgliceróis trissaturados (SSS) e uma baixa concentração de TAGs diinsaturados (SUU). Sabe-se que sua adição em formulação de chocolates promove um aumento da resistência ao calor, porém a literatura carece de estudos aprofundados neste tema, tanto em relação a aplicação da estearina de manteiga de cacau no produto final, quanto sua obtenção por fracionamento via solvente (LONCHAMPT, HARTEL, 2004).

2.4 Chocolate amargo

2.4.1 Definição

O chocolate amargo é composto basicamente por uma mistura de açúcar, sólidos de cacau e manteiga de cacau. Segundo Resolução RDC nº 264, de 22 de setembro de 2005 ("Regulamento Técnico para chocolate e produtos *de cacau*"), o chocolate é definido como todo produto formado por pelo menos 25% (g/100 g) de sólidos totais de cacau (*Theobroma cacao L.*) (ANVISA, 2014).

A partir de uma perspectiva científica, pode-se definir o chocolate como uma dispersão de partículas sólidas - açúcar, sólidos de cacau e leite em pó (no caso do chocolate ao leite) - em uma matriz lipídica (manteiga de cacau e outras gorduras quando utilizadas). A fim de estabilizar essa dispersão de partículas sólidas polares em um meio contínuo lipofílico, faz-se uso de emulsificantes, geralmente lecitina e PGPR. As propriedades físico-químicas e sensoriais dos chocolates são fortemente influenciadas pela formação da rede cristalina da fase gordurosa e pela distribuição e tamanho de partículas dos constituintes sólidos presentes (BAKALIS *et al.*, 2010; KALNIN *et al.*, 2011).

2.4.2 Processamento

A cadeia produtiva completa para o processamento de chocolates requer etapas desde o plantio e colheita do fruto do cacau até a embalagem do chocolate moldado que contém *liquor* de cacau, manteiga de cacau, açúcar e emulsificantes - dentre outras matérias-primas para produtos específicos como, por exemplo, a gordura do leite para fabricação do chocolate ao leite. As etapas envolvidas na produção do *liquor* de cacau, manteiga de cacau e chocolate podem ser observadas de maneira simplificada na Figura 2.4.

O processamento do chocolate amargo a partir das matérias-primas manteiga de cacau, *liquor* de cacau, açúcar e emulsificantes pode ser dividido nas seguintes etapas, segundo descrito em Beckett (2008) e Belitz, Grosch e Schieberle (2009):

- 1) Mistura: as matérias-primas *liquor* de cacau, parte da manteiga de cacau e açúcar refinado são misturadas em equipamento encamisado com agitação e aquecimento ($\sim 45^{\circ}\text{C}$) até formação de uma pasta homogênea.
- 2) Refino: realizado em moinho de rolos, esferas ou pás, para que as partículas da pasta de chocolate sejam fragmentadas em tamanhos menores. Após o refino, o tamanho das partículas presentes na massa refinada deve ser entre 20 a $25\mu\text{m}$. Nesta etapa, o conteúdo de gordura deve estar entre 23-28% para facilitar o processo e permitir a obtenção de partículas com tamanho adequado.
- 3) Conchagem: a massa de chocolate refinada é submetida à agitação sob aquecimento constante. Nesta etapa, a temperatura e tempo de operação variam de acordo com cada processo e formulação, sendo que estas condições podem variar de 45 a 75°C e de 2 a 72h. É considerada uma etapa importante no processamento de chocolates, uma vez que a viscosidade e o sabor/aroma da massa são alterados, favorecendo a qualidade do produto final. Nas etapas de fermentação e torrefação do pré-processamento das amêndoas do cacau, há a produção de aromas que causam a sensação agradável no consumo do chocolate, porém também são formados ácidos orgânicos, que são indesejáveis e devem ser eliminados pela conchagem. A mudança na viscosidade da massa propiciada pela conchagem é obtida através do processo de constante recobrimento das partículas sólidas com a gordura presente na massa. Antes do final da conchagem (entre 1h ou até 3h antes do tempo total desta etapa), os emulsificantes considerados na formulação - geralmente lecitina e PGPR - devem ser adicionados.

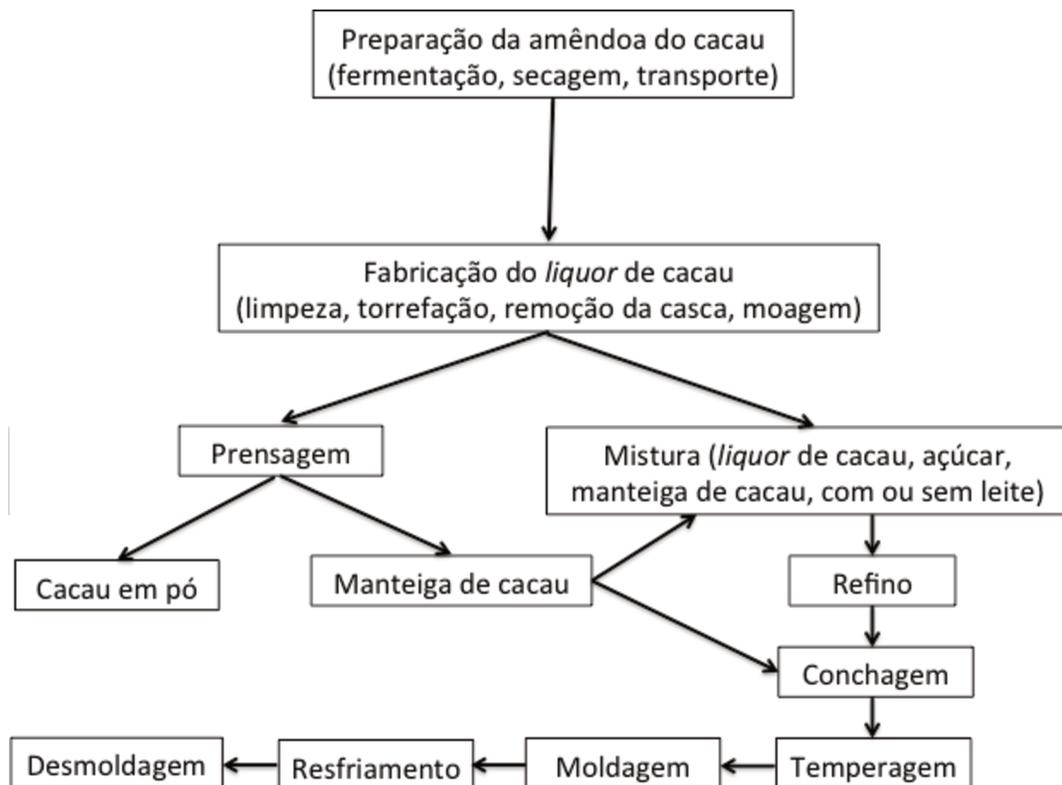


Figura 2.4. Diagrama esquemático das etapas da produção de *liquor* de cacau, manteiga de cacau e chocolate (adaptado de Beckett, 2008).

- 4) Temperagem: a massa após a conchagem deve ser temperada antes da moldagem. Na temperagem - etapa também chamada de pré-cristalização - há a formação inicial, de maneira controlada, dos cristais na Forma V. Como este processo é delicado e complexo pois depende de diversas variáveis, como composição das matérias-primas utilizadas, condições anteriores do processamento e específicas de cada equipamento de temperagem, cada massa com formulação específica de chocolate deve ser temperada em condições de temperatura de temperagem, taxa de resfriamento e de aquecimento específicas a fim de se obter cristais estáveis e desejáveis dispersos em uma massa fluida capaz de ser moldada. De maneira geral, primeiramente, a temperatura da massa de chocolate após a conchagem é estabilizada em aproximadamente 40-50°C sob agitação constante e por determinado tempo para garantir a fusão completa dos cristais de gordura que possam estar presentes. A temperatura da massa aquecida e completamente fundida é então abaixada até a temperatura de temperagem (aproximadamente 29-30°C, dependendo da formulação), sob taxa de resfriamento constante, geralmente 2°C/min. A temperatura de temperagem é mantida por alguns minutos (tempo de temperagem) e então, a

massa é reauecida a temperatura de aproximadamente 31°C para garantir que apenas os cristais de manteiga de cacau em formas indesejáveis sejam fundidos. A temperagem é monitorada com o auxílio de um temperímetro. Este equipamento fornece valores de Índice de Temperagem (*temperindex*), e se este valor for próximo de 5,0 indica que a massa de chocolate está adequadamente pré-cristalizada e, portanto, pode seguir para as próximas etapas até a obtenção do produto final.

- 5) Moldagem: após a temperagem a massa é imediatamente transferida para moldes (pré-aquecidos) de acordo com a forma do produto desejado (barra, bombons *etc.*). Posteriormente, os moldes com a massa de chocolate são colocados em mesa vibratória para a eliminação de bolhas de ar a fim de se obter um produto final com menos defeitos em sua estrutura e superfície.
- 6) Resfriamento: o chocolate moldado é então resfriado, geralmente em túnel com controle de temperatura a aproximadamente 15°C durante 12 min. Nesta etapa, o chocolate pré-cristalizado desenvolve sua estrutura sólida através do processo de cristalização da massa ao redor dos cristais estáveis já formados na etapa da temperagem. Chocolate com resistência térmica e brilho característicos são finalmente obtidos após o resfriamento.
- 7) Desmoldagem: o chocolate estruturado é desmoldado facilmente após a cristalização, se realizada de forma correta, há a contração da estrutura da gordura.

2.5 Fat bloom em chocolates

O *fat bloom* é considerado um dos principais defeitos que pode ser encontrado em chocolates. Ele provoca alteração na aparência e na estrutura do chocolate fazendo com que seja preterido pelo consumidor que espera um produto com cor característica - superfície com brilho, não esbranquiçada e/ou com pontos brancos - assim como com textura e derretimento adequados (ROUSSEAU, 2007).

2.5.1 Mecanismos de formação

Segundo Rousseau (2007) e Beckett (2008), quatro tipos possíveis de mecanismos podem ser considerados como responsáveis pela formação do *fat bloom* em chocolates:

Mecanismo I: durante a etapa de temperagem pode haver transição polimórfica da Forma IV para a Forma V de maneira não controlada. Sabendo-se que polimorfos mais estáveis possuem estrutura mais densa, haverá a contração da massa durante esta transição. Como nesta etapa do processamento parte da manteiga de cacau da massa do chocolate ainda está na fase líquida, ocorrerá a migração desta para a superfície devido à contração ocasionada pela estrutura sólida. Com a posterior solidificação de toda a

mistura sem controle adequado de pré-cristalização, cristais grandes de gordura serão formados principalmente na superfície, originando o *fat bloom*. Este tipo de *bloom* é raramente observado em processos industriais e pode ser evitado utilizando-se um rígido controle do processo de temperagem com etapa de reaquecimento para a destruição de cristais menos estáveis da manteiga de cacau, como a Forma IV;

Mecanismo II: o *fat bloom* pode também ser resultado de uma transição polimórfica no estado sólido da Forma V para a VI, como mencionado no Item 2.2. De maneira similar ao Mecanismo I, o *fat bloom* poderá ser formado devido à ocorrência de contração estrutural, diferenças de densidade de compactação dos polimorfos e migração. Este tipo de *bloom* pode ocorrer em chocolates adequadamente temperados e depende intensamente das condições de temperatura *versus* tempo de armazenamento do produto. Considerando este mecanismo, pode-se levar meses ou até anos para a formação do *fat bloom*;

Mecanismo III: se submetido a mudanças de temperatura, mesmo com pequena variação (por exemplo, ± 2 a 3°C), os cristais menores ou com menor ponto de fusão da gordura do chocolate podem derreter-se e recristalizar-se de maneira descontrolada, dando origem ao *fat bloom*. Este mecanismo caracteriza-se por uma transformação do tipo sólido-líquido. Já sob oscilações maiores de temperatura, um chocolate adequadamente temperado também pode apresentar transição polimórfica da Forma V para a VI. Neste caso, cristais na Forma V derretem rapidamente e se recristalizam originando cristais na Forma VI. Este processo de formação de *bloom* ocorre normalmente após sua fabricação quando o produto já está na etapa de transporte ou armazenamento;

Mecanismo IV: este processo refere-se a chocolates recheados nos quais a composição e propriedade de derretimento da fase gordurosa da cobertura e do recheio diferem substancialmente. Um exemplo deste tipo de produto são os chocolates recheados com castanhas. Nestes produtos, o *fat bloom* pode ocorrer rapidamente devido a grande diferença na composição em triacilgliceróis entre o chocolate da cobertura e as nozes, as quais apresentam grande quantidade de ácidos graxos insaturados e líquidos na temperatura ambiente. Como as fases gordurosas tendem a alcançar o equilíbrio entre suas composições, a diferença existente entre os triacilgliceróis do interior e da superfície ocasiona uma troca de material entre estas camadas e, posteriormente, o *fat bloom*.

2.5.2 Monitoramento do desenvolvimento do *fat bloom*

A presença e o desenvolvimento do *fat bloom* ocasionam mudanças na microestrutura e na aparência do chocolate, sendo estas alterações possíveis de serem investigadas tanto em escala macroscópica, microscópica e também, nanométrica. Assim, diferentes métodos podem ser utilizados para monitorar o

surgimento e desenvolvimento do *fat bloom* em chocolates, desde subjetivas metodologias visuais até técnicas elaboradas como a difração de Raios-X. Por ser um fenômeno ainda não completamente elucidado, é aconselhável que o estudo do *fat bloom* em chocolates seja realizado de maneira ampla, aplicando-se diferentes técnicas.

Dependendo da abordagem de cada pesquisa, o monitoramento do *fat bloom* pode ser realizado variando-se condições específicas de formulação, processamento ou armazenamento, de maneira a acelerar ou retardar sua formação e desenvolvimento. Em relação à temperagem, sabe-se que um chocolate sub-temperado ou sobre-temperado tem sua estrutura final alterada de maneira espontânea, favorecendo a formação do *bloom* (KINTA, HARTEL, 2010; GRAEF *et al.*, 2005). Um chocolate bem temperado apresenta características de estruturação adequadas para resistir por vários meses à formação de *fat bloom* se for armazenado sob temperatura constante e inferior a 20°C. Mesmo nestes casos haverá a possibilidade de ocorrência do *fat bloom* em velocidade reduzida, após 12 meses de sua fabricação. Porém, se a temperatura de estocagem for maior do que 20°C, situação típica em muitos países tropicais, o surgimento do *fat bloom* será antecipado. Desta maneira, com a finalidade de acelerar pesquisas envolvendo o desenvolvimento do *fat bloom* em chocolates faz-se uso de variações cíclicas da temperatura de estocagem entre uma temperatura branda (20°C, por exemplo) e outra abusiva, próxima a faixa de temperatura de fusão da manteiga de cacau pura (BONOMI, 2013; ALI *et al.*, 2001; BRICKNELL, HARTEL, 1998; HACHIYA, KOYANO, SATO, 1989).

Algumas técnicas utilizadas para o monitoramento do *fat bloom* em chocolates são:

- *Avaliação visual.* A formação do *fat bloom*, dependendo do seu estágio de desenvolvimento, pode ser observada visualmente, sem utilização de aparatos instrumentais. Segundo Graef *et al.* (2005), um painel profissional pode avaliar visualmente o desenvolvimento do *fat bloom* por comparação entre diferentes amostras com um padrão bem definido e utilizando uma escala numérica para a quantificação. Nesta escala numérica, o valor 0 (zero) é atribuído para amostras de chocolate que apresentem características de superfície iguais aquelas verificadas no produto inicial. Já o valor 5 (cinco) é dado para amostras as quais se apresentam completamente esbranquiçadas, como na Figura 2.2 (b).
- *Tensão de ruptura.* Com o surgimento do *fat bloom*, pode ocorrer a transição de cristais da Forma V para a VI. Esta transformação ocasiona alterações como a formação de rede cristalina com maior compactação e aumento da temperatura de fusão do chocolate. Assim, a estrutura cristalina do chocolate é modificada tornando-se arenosa e quebradiça, e de difícil derretimento na

temperatura corporal durante seu consumo (AWAD, MARANGONI, 2006). Estas alterações estruturais podem ser quantificadas indiretamente a partir da avaliação da resistência mecânica da amostra através da tensão de ruptura. Esta técnica pode ser realizada em um analisador de textura com o auxílio de um *probe* do tipo *three point bend*, que quantifica a força máxima necessária para romper a barra de chocolate. O valor de tensão obtido, além de diminuir em amostras com *fat bloom*, também varia de acordo com a formulação e dimensões do produto (principalmente, espessura) (BECKETT, 2008). Segundo o estudo de Bonomi (2013), o chocolate ao leite armazenado a temperatura de 20°C apresenta valores de tensão de ruptura entre 1,5 e 2,0 kgf/cm², enquanto que amostras semelhantes armazenadas sob ciclos de 24h entre as temperaturas 20 e 32°C, apresentam valores entre 1,0 e 1,5 kgf/cm². Essa diminuição da resistência pode ser atribuída a uma desestruturação consequente do *fat bloom*. Outro estudo utilizando formulação de chocolate do tipo amargo obteve valor de tensão de ruptura em torno de 3,0 kgf/cm² (GRUNENVALDT, 2009). Ao se comparar os chocolates ao leite e amargo pode-se notar que o primeiro apresenta estrutura mais macia do que o segundo, devido a presença da gordura do leite em sua formulação.

- *Índice de Brancura*. Com o surgimento do *fat bloom* na superfície, esta geralmente torna-se esbranquiçada. Quanto maior o desenvolvimento do *fat bloom*, mais esbranquiçada a coloração da superfície. Assim, através do uso de um colorímetro ou espectrofotômetro, pode-se determinar o Índice de Brancura de uma amostra de chocolate e relacionar este valor com o grau de desenvolvimento do *fat bloom*. Este índice pode ser obtido de acordo com a metodologia descrita por Lohman e Hartel (1994). A falta de brilho e a aparência esbranquiçada da superfície ocorre devido a reflexão difusa da luz ao incidir em conjuntos de cristais grandes de aproximadamente 5µm ou maiores, que cobrem a superfície de chocolates com *bloom* (TIMMS, 1984).
- *Microestrutura*. Devido a recristalização descontrolada da manteiga de cacau, o *fat bloom* resulta em aglomerados de cristais com morfologia alterada, geralmente em forma de agulha na superfície do chocolate (ROUSSEAU, 2007). Assim, a obtenção de imagens ampliadas da estrutura na superfície de chocolates utilizando a microscopia eletrônica de varredura é um procedimento que possibilita a observação e correlação destas características com o desenvolvimento do *fat bloom*.
- *Comportamento de fusão*. O desenvolvimento do *fat bloom* está geralmente associado à transição de formas polimórficas menos estáveis para as mais estáveis, como já relatado na conceituação dos mecanismos I, II e III, assumidos como causas deste evento (Item 2.5.1). Com a transição da

Forma V para a Forma VI, ocorre um aumento na temperatura de fusão do chocolate (ver Tabela 2.2) e portanto, por meio da avaliação do comportamento de fusão de chocolates, tem-se um indicativo do polimorfo dominante. Amostras com ocorrência de *fat bloom* normalmente apresentam faixa de fusão superior a de amostras recém-processadas (AFOAKWA *et al.*, 2008).

- *Polimorfismo*. A determinação direta do hábito polimórfico preferencial presente na estrutura cristalina lipídica utilizando a difração de Raios-X pode complementar e confirmar o resultado obtido com o estudo do comportamento térmico, conforme discutido no sub-item anterior. Para isto, a amostra deve ser previamente tratada a fim de retirar a maior parte possível de partículas de açúcar para assegurar que não ocorra interferência dessas estruturas cristalinas na determinação analítica (CEBULA, ZIEGLEDER, 1993).

3. Materiais e Métodos

Este trabalho foi dividido, basicamente, em três etapas experimentais: investigação e seleção dos possíveis modificadores de cristalização da manteiga de cacau, aplicação dos moduladores de cristalização selecionados na produção de chocolate amargo e, por fim, avaliação da formação e desenvolvimento do *fat bloom* no chocolate. A Figura 3.1 apresenta o fluxograma simplificado com a estratégia geral de realização desta pesquisa, exibindo etapas e respectivas descrições de maneira cronológica, delineando-se ao objetivo central.

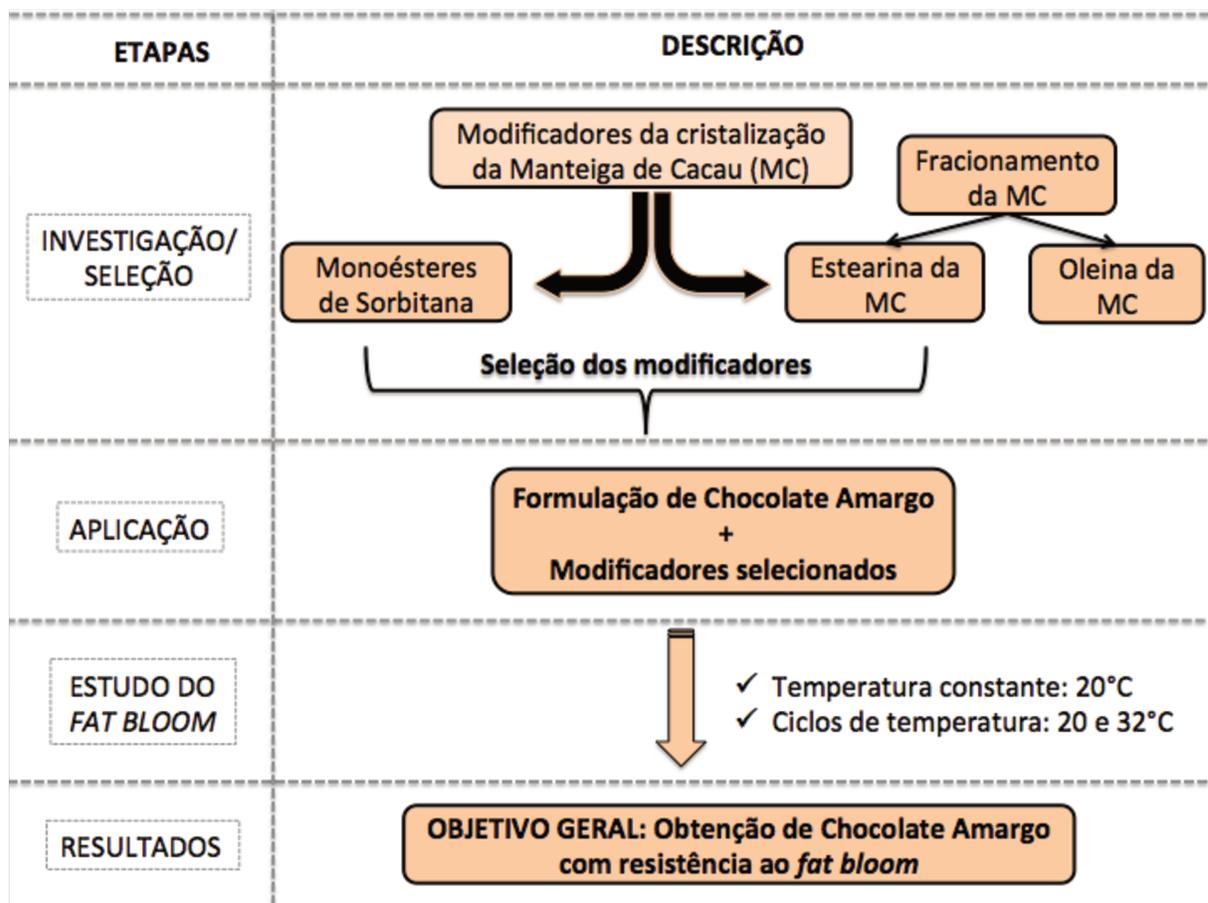


Figura 3.1 Delineamento da pesquisa.

3.1 Materiais

Os seguintes materiais foram utilizados:

- Manteiga de cacau desodorizada composta de amêndoas de várias origens, fornecida pela Cargill Agrícola S.A. (BRA);
- Monolaurato (44% de pureza), monopalmitato (60-65% de pureza), monoestearato (45-55% de

pureza) e monooleato (60% de pureza) de sorbitana, adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA);

- *Liquor* de cacau, produzido pela Barry Callebaut S.A. (BRA);

- Lecitina de soja Solec tipo CH, fornecida pela Solae do Brasil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda (BRA);

- Poliglicerol poliricinoleato (PGPR) 90 Grindsted, fornecido pela DuPont (BRA);

- Açúcar cristal, produzido pela Usina Colombo S.A. (BRA);

- Acetona (grau HPLC), produzida por Mallinckrodt Baker, Inc. (EUA).

A manteiga de cacau foi apropriadamente homogeneizada, acondicionada em frascos de vidro e armazenada sob temperatura ambiente (20-25°C) até o momento do uso. Os demais materiais foram acondicionados segundo recomendações específicas de cada fabricante.

O açúcar cristal foi refinado em moinho de facas com peneira de 3,2 mm antes de ser usado na fabricação de chocolate.

3.2 Métodos

A metodologia analítica para a avaliação da manteiga de cacau, emulsificantes, misturas, barras de chocolate amargo, estearinas e oleínas de manteiga de cacau estão descritas no Item 3.2.1. As condições de operação e os equipamentos utilizados no fracionamento da manteiga de cacau e na produção do chocolate amargo estão especificados no Item 3.2.2 (Processamentos).

3.2.1 Métodos analíticos

3.2.1.1 Caracterização da manteiga de cacau pura (sem adição dos modificadores)

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

b) *Índice de Iodo e Índice de Saponificação*. Esses índices foram calculados a partir da composição em ácidos graxos segundo os métodos AOCS Cd 1c-85 e Cd 31-94 (AOCS, 2009), respectivamente.

c) *Classes de lipídios*. As classes de lipídios foi determinada por cromatografia de exclusão por tamanho (HPSEC), em cromatógrafo líquido Perkin Elmer 250; detector de índice de refração Sicon Analytic; Coluna 1: Jordi Gel dvb 300 x 7,8 mm, 500 Å; Coluna 2: Jordi Gel dvb 300 x 7,8 mm, 100 Å. Condições de análise: fase móvel: tetrahydrofurano; fluxo: 1 mL/min; volume injetado: 20,0 µL.

3.2.1.2 Caracterização da manteiga de cacau pura e frações estearina e oleina da manteiga de cacau

a) *Composição em triacilgliceróis*. A composição em TAGs foi determinada em cromatógrafo gasoso capilar CGC Agilent 6850 Series GC System (EUA). Foi utilizada coluna capilar DB-17HT Agilent (EUA) Catalog 122-1811 (50%-fenilmetilpolisiloxano), com 15 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,15 µm de filme. Condições de análise: injeção *split*, razão de 1:100; temperatura da coluna: 250°C, programada até 350°C à razão de 5°C/min; gás de arraste: hélio, em vazão de 1,0 mL/min; temperatura do injetor: 360°C; temperatura do detector: 375°C; volume injetado: 1,0 µL; concentração da amostra: 100 mg/5 mL de tetrahydrofurano. A identificação dos grupos de TAGs foi realizada através da comparação dos tempos de retenção, segundo os procedimentos de Antoniosi Filho, Mendes e Lanças (1995).

3.2.1.3 Caracterização da manteiga de cacau pura, frações estearina e oleina da manteiga de cacau e amostras de manteiga de cacau adicionadas de emulsificantes e de estearina

a) *Conteúdo de gordura sólida (CGS)*. O CGS foi determinado utilizando Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de baixa resolução Bruker pc120 Minispec (Alemanha) com auxílio de banhos secos de alta precisão (0 – 70°C) Tcon 2000 (Duratech, EUA) para acondicionamento das amostras nas temperaturas de leitura. Método AOCS Cd 16b-93: método direto, leitura das amostras em série, com temperagem para manteiga de cacau (AOCS, 2009). A temperagem das amostras foi realizada conforme a sequência: fusão em banho de água quente ou por micro-ondas, 5 min à 60°C, 90 ± 5 min à 0°C, 40 ± 5 h à 26°C, 90 ± 5 min à 0°C e posteriormente 60 ± 5 min à cada temperatura de leitura (10, 15, 20, 25, 30, 35, 40°C ou até fusão completa da amostra).

b) *Ponto de fusão*. O ponto de fusão foi determinado através do cálculo da temperatura correspondente ao teor de sólidos igual a 4% obtido na equação polinomial ajustada à curva de sólidos determinada por RMN (KARABULUT, TURAN, ERGIN, 2004; RIBEIRO *et al.*, 2009).

c) *Isoterma de cristalização*. As amostras foram fundidas a 60°C por 15 min e mantidas em banho seco de alta precisão a 50°C durante 1h para completa destruição de seu histórico cristalino. O aumento do conteúdo de gordura sólida em função do tempo de cristalização foi monitorado por Espectrômetro de

Ressonância Magnética Nuclear (RMN) Bruker pc120 Minispec, com compartimento de leitura estabilizado à temperatura constante de 15°C ou 17,5°C, conforme pré-estabelecido em cada etapa. A aquisição de dados foi automática, com medidas tomadas a cada minuto, durante pelo menos 100 minutos. A caracterização da cinética de cristalização foi baseada no período de indução (τ_{SFC}), no teor máximo de sólidos ($SFC_{m\acute{a}x}$) e no tempo de estabilização da cristalização (t_{ec}). A equação de Avrami ajustada aos dados experimentais fornece uma indicação da natureza do processo de crescimento dos cristais:

$$\frac{SFC(t)}{SFC_{m\acute{a}x}} = 1 - e^{-kt^n} \quad (3.1)$$

onde: $SFC(t)$ descreve o conteúdo de gordura sólida (%) como função do tempo (t), $SFC_{m\acute{a}x}$ é o limite do conteúdo de gordura sólida quando o tempo tende ao infinito, k é a constante de Avrami (min^{-n}), que leva em consideração tanto a nucleação quanto a taxa de crescimento dos cristais e n é o expoente de Avrami, que indica o mecanismo de crescimento dos cristais (WRIGHT, NARINE, MARANGONI, 2000). Esta equação foi empregada no estudo da cristalização isotérmica, sendo linearizada e aplicada aos resultados obtidos para determinação dos valores de k e n (CAMPOS, 2005).

d) Morfologia e dimensões cristalinas. A microestrutura (morfologia e dimensões cristalinas) de amostras selecionadas foi avaliada por microscopia sob luz polarizada. As amostras foram fundidas à temperatura de 100°C em estufa. Com o auxílio de um tubo capilar, uma gota de amostra foi colocada sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida (a temperatura semelhante à temperatura utilizada para fusão dos cristais), que foi coberta com uma lamínula. As lâminas foram mantidas em estufa por 24 h a 17,5°C. A morfologia dos cristais foi avaliada com o uso de microscópio de luz polarizada (Olympus, modelo BX51, EUA) acoplado a câmara de vídeo digital (Media Cybernetics, EUA). As lâminas foram colocadas sobre o suporte da placa de aquecimento, mantida à mesma temperatura de cristalização (17,5°C). As imagens foram capturadas pelo aplicativo Image Pro-Plus (Media Cybernetics, EUA), utilizando luz polarizada e com ampliação de 100 vezes. Para cada lâmina - sendo uma para cada amostra - foram focalizados cinco campos visuais, dos quais três foram escolhidos para avaliação das dimensões cristalinas. Os parâmetros de avaliação selecionados para a análise quantitativa das imagens foram o diâmetro médio dos cristais e porcentagem de área cristalizada (GAMBOA, GIOIELLI, 2006).

e) Comportamento térmico. As análises térmicas das amostras foram realizadas por calorimetria diferencial de varredura, no equipamento DSC Q2000 (TA Instruments, EUA) com calibração por Lítio, conforme o método AOCS Cj 1-94 (AOCS, 2009) com a taxa de resfriamento modificada para adequação da análise. As condições de análise foram: massa da amostra: ~ 10 mg; programação da temperatura:

80°C por 5 min, 80°C a -40°C (2°C/ min), -40°C por 5 min. Foram utilizados os seguintes parâmetros na avaliação dos resultados: temperatura *onset* de cristalização (T_{oc}), temperatura de pico de cristalização (T_{pc}), entalpia de cristalização (ΔH_c), temperatura final de cristalização (T_{fc}) e intensidade ou altura do pico (I) (BILIADERIS, 1983).

f) *Polimorfismo*. A forma polimórfica dos cristais de gordura das amostras foi determinada por difração de Raios-X (DRX), segundo o método AOCS Cj 2-95 (AOCS, 2009). As análises foram realizadas em difratômetro Philips (PW 1710, Almelo, Holanda), utilizando a geometria Bragg-Brentano ($\theta:2\theta$) com radiação de Cu- α ($\lambda = 1.5418\text{\AA}$, tensão de 40 KV e corrente de 30 mA). As medidas foram obtidas com passos de 0,03° em 2θ e tempo de aquisição de 2 segundos, com varreduras de 15 a 30° (escala 2θ). As amostras foram primeiramente fundidas a aproximadamente 60°C e estabilizadas a 25°C por 24 horas ou tempo necessário para formação de estrutura cristalina. A identificação das formas polimórficas foi realizada a partir da observação dos difratogramas característicos de Raios-X (intensidade *versus* 2θ) de cada amostra (AOCS, 2009; YAP, deMAN, deMAN, 1989; SCHENCK, PESCHAR, 2004).

g) *Consistência*. O *yield value* foi determinado utilizando o equipamento analisador de textura TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), controlado por microcomputador. As amostras foram aquecidas a 60°C, para a fusão completa dos cristais, e acondicionadas em béqueres de 50mL. O condicionamento das amostras foi efetuado em incubadora, por 24 horas a 5°C para a cristalização da manteiga de cacau e posteriormente por 24 horas nas temperaturas de teste: 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C. Foram utilizados os *probes de cone* de acrílico truncados de ângulos de 40°, 45° e 60°. As determinações foram realizadas em quadruplicata para cada amostra nas seguintes condições: distância inicial de 10 mm; velocidade de 2 mm/s; tempo de 5 s (RODRIGUES, GIOIELLI, ANTON, 2003). A partir destas condições, foi obtida a força de compressão em (g_f). Os dados de penetração foram convertidos em *yield value*, conforme Haighton (1959);

$$YV = \frac{K \times W}{p^{1,6}} \quad (3.2)$$

onde: *YV* = *yield value*, em g_f/cm²; *K* = fator dependente do ângulo do cone (igual a 5840, 4700 e 2815 para os cones de 40°, 45° e 60°, respectivamente); *W* = força de compressão (g_f); *p* = profundidade de penetração, em 0,1 mm.

3.2.1.4. Monitoramento das amostras de chocolate amargo

As amostras de chocolate confeccionadas foram avaliadas com relação aos seguintes parâmetros e metodologias, durante ou após sua produção:

a) *Tamanho máximo de partículas*. A granulometria na etapa de refino (20 a 25 μm) foi monitorada através de micrômetro digital (marca Mitutuyo, Japão), com escala de 0 a 25 mm. As amostras foram dispersas em óleo mineral puro até apresentarem uma consistência homogênea (LUCCAS, 2001).

b) *Propriedades reológicas*. A viscosidade plástica e o limite de escoamento foram determinados através de um reômetro digital (marca Brookfield, modelo TC500, EUA), com a amostra de chocolate fundida em micro-ondas e estabilizada à temperatura de 40°C (VISSOTTO *et al.*, 1997). Foram utilizados adaptador para pequena quantidade de amostra e *spline* cilíndrico (especificação S15).

c) *Índice de Temperagem (Temperindex)*. Foram utilizados dois temperímetros a fim de otimizar a obtenção do valor de Índice de Temperagem (Temperímetro 1: SOLLICH, Alemanha, modelo E3; Temperímetro 2: Aasted-Mikroverk, Dinamarca, modelo TM, versão 3.0) para o controle do processo de temperagem dos chocolates produzidos.

d) *Avaliação visual*. Um painel com 3 avaliadores treinados avaliaram subjetivamente o desenvolvimento do *fat bloom* através da seguinte escala numérica de 0 a 4, adaptada do método de Graef *et al.* (2005):

0. O produto não apresenta diferença com referência ao produto original;
1. O produto não possui mais o brilho original, mas ainda não apresenta pontos esbranquiçados ou superfície acinzentada;
2. O produto começa a apresentar pontos esbranquiçados e/ou superfície acinzentada;
3. O produto mostra claramente pontos esbranquiçados e superfície acinzentada;
4. O produto apresenta-se completamente esbranquiçado em toda sua superfície.

O treinamento dos avaliadores ocorreu através da observação de exemplares de barras de chocolates em diferentes estágios de desenvolvimento de *fat bloom* já associadas à escala numérica de 0 a 4.

O resultado geral de cada formulação de chocolate avaliada em três barras de cada amostra e em cada condição de estocagem foi expresso pelo valor médio das avaliações. A Figura 3.2 mostra fotografias de barras de chocolate em diferentes estágios de desenvolvimento do *fat bloom*, utilizadas como referência para a avaliação visual na escala numérica mencionada.

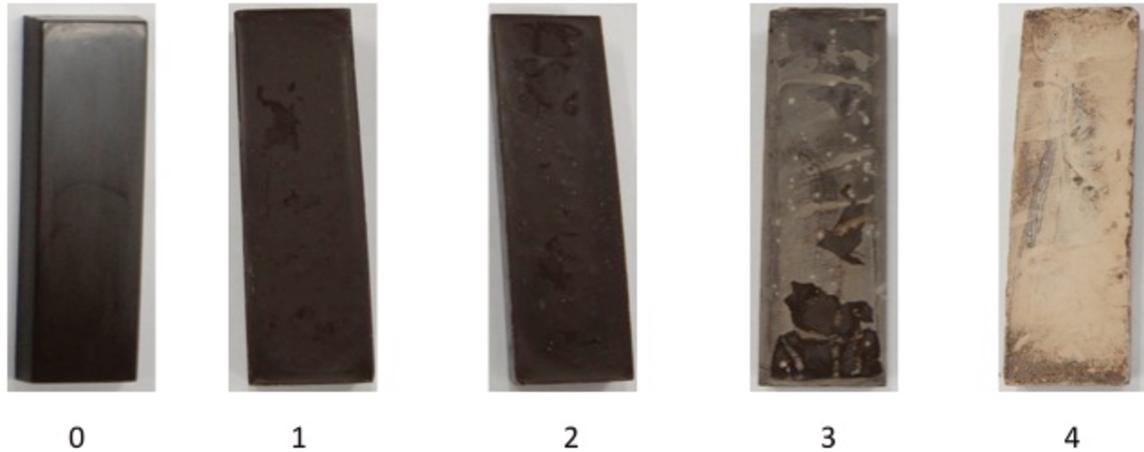


Figura 3.2. Barras de chocolate utilizadas como referência para avaliação do aspecto visual quanto ao desenvolvimento do *fat bloom* na escala numérica de 0 a 4.

e) *Índice de Brancura*. O Índice de Brancura (IB) foi determinado através de espectrofotômetro HUNTERLAB/ COLORQUEST II (EUA), com as leituras realizadas em sistema CIELAB (L^* , a^* e b^*), de acordo com Lohman e Hartel (1994). A equação utilizada para o cálculo do Índice de Brancura (IB) foi:

$$IB = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{0,5} \quad (3.3)$$

onde: IB = Índice de Brancura; L^* , a^* e b^* = valores de escala de cor.

f) *Tensão de ruptura (snap test)*. A tensão de ruptura foi determinada através de texturômetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems, Inglaterra), com o probe HDP/3PB – *Three point bend rig*, seguindo metodologia descrita por Jorge, Rodriguez e Hombre (1999).

g) *Microestrutura*. A visualização da estrutura da superfície da rede cristalina foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), em microscópio do tipo de mesa, Hitachi High Technologies America, Inc., modelo TM-3000 (Japão), conforme metodologia descrita por Miyasaki (2014). As amostras foram seccionadas nas dimensões de 20 X 20 mm. A rede cristalina foi observada a 5 kV ou no modo *Analy*, com aumento de 1000 vezes.

h) *Comportamento de fusão*. O comportamento de fusão das amostras de chocolate amargo foi determinado por calorimetria diferencial de varredura (DSC), conforme Afoakwa *et al.* (2008). Aproximadamente 5 mg de amostra de chocolate amargo foi colocada na temperatura de 15°C no equipamento e a temperatura foi elevada até 55°C com taxa de aquecimento de 5°C/min. Como

parâmetros de avaliação dos resultados utilizou-se temperatura *onset* de fusão (T_{of}), temperatura de pico de fusão (T_{pf}), entalpia de fusão (ΔH_f), temperatura final de fusão (T_{ff}) e intensidade de pico (I). O Índice de Fusão (I_f) foi calculado através da subtração da temperatura final de fusão e da temperatura *onset* de fusão, conforme descrito por Vasanthan e Bhatta (1996).

i) *Polimorfismo*. A verificação da forma polimórfica foi realizada conforme mencionado anteriormente no Item 3.2.1.3. f. Para eliminar a interferência cristalina do açúcar presente nas amostras de chocolate, estas foram previamente lavadas de acordo com metodologia adaptada de Cebula e Ziegleder (1993). Por este método, a amostra de chocolate em barra foi cortada em partículas de aproximadamente 1mm e então lavada com uma mistura de água destilada gelada e gelo, sob agitação constante para dissolver o açúcar. Foram feitas 3 lavagens sucessivas para cada barra de chocolate avaliada. A identificação da forma polimórfica foi realizada a partir do *short spacing* característico dos cristais da manteiga de cacau (CHAPMAN, AKEHURST, WRIGHT, 1971).

j) *Resistência ao fat bloom*. Para avaliar a resistência à formação do *fat bloom* das formulações de chocolate amargo processadas, as barras de chocolate produzidas foram embaladas em papel alumínio e armazenadas em duas estufas incubadoras tipo BOD, das marcas: Nova Técnica e Eletrolab (BRA), durante aproximadamente 90 dias nas duas condições detalhadas a seguir, de acordo com Bonomi, 2013:

- Temperatura constante: barras de chocolate acondicionadas à temperatura constante de 20°C;

- Temperatura variável: barras de chocolate submetidas a ciclos de 24h entre as temperaturas de 20 e 32°C.

As amostras foram monitoradas quanto aos seguintes parâmetros: avaliação visual (Item 3.2.1.4. d), tensão de ruptura (Item 3.2.1.4. e), Índice de Brancura (Item 3.2.1.4. f), microestrutura (Item 3.2.1.4. g), comportamento de fusão (Item 3.2.1.4. h) e polimorfismo (Item 3.2.1.4. i), conforme metodologias citadas anteriormente.

3.2.2 Processamentos

Fracionamento da manteiga de cacau com solvente

Uma fração rica em triacilgliceróis monoinsaturados simétricos (SUS) foi obtida por fracionamento da manteiga de cacau usando acetona como solvente. Essa fração estearina foi posteriormente utilizada na formulação de chocolate. Em cada ensaio de fracionamento, realizado nas temperaturas de cristalização de 17, 18, 20 e 22°C, foram adicionados 50 gramas de manteiga de cacau em quantidade definida em volume de acetona. A quantidade de acetona utilizada foi de 250 mL ou 350 mL, sendo esta relação representada pela fração 1:5 ou 1:7 m/v, respectivamente, para massa de manteiga de cacau por volume

de acetona adicionado. As variáveis do processo - temperatura de cristalização e volume de acetona adicionada em cada ensaio - foram previamente selecionadas a partir de ensaios preliminares. Uma imagem do conjunto de equipamentos utilizados para o fracionamento via solvente pode ser observada na Figura 3.3.



Figura 3.3. Conjunto de equipamentos para o fracionamento via solvente.

Primeiramente as amostras de manteiga de cacau foram fundidas a aproximadamente 40°C durante 30 minutos. Logo após, a quantidade de acetona pré-especificada foi adicionada e homogeneizada no recipiente contendo a manteiga de cacau fundida. Esta mistura homogênea, líquida e translúcida, foi vertida em um reator encamisado com capacidade para 500 mL (Marconi, BRA), ligado a banho termostaticado (Lauda, Alemanha) estabilizado à temperatura de cristalização específica para cada ensaio. O processo de cristalização foi realizado sob agitação constante de aproximadamente 20 rpm, com o agitador acionado pneumaticamente e a pá de agitação (diâmetro de 7,5 cm) constituída por duas palas verticais com um orifício central de 1,0 cm de diâmetro em cada uma das partes. A mistura de manteiga de cacau e solvente foi mantida na temperatura de cristalização durante 24 horas para favorecer a formação e o crescimento dos cristais. Os precipitados foram removidos através de filtragem simples com uso de filtro de papel (com abertura média dos poros de 14 μm) em temperatura controlada de aproximadamente 20°C, para impedir a fusão dos cristais já formados. O solvente contido nas frações foi posteriormente removido

pelo uso de rotaevaporadores (Büchi, Suíça) e evaporação por aplicação direta de gás nitrogênio. As frações estearina e oleína da manteiga de cacau foram armazenadas à temperatura ambiente para posterior avaliação.

Incorporação dos modificadores de cristalização em manteiga de cacau

Os monoésteres de sorbitana e estearina da manteiga de cacau foram incorporados em amostra de manteiga de cacau pura após serem previamente homogeneizadas e fundidas separadamente. Após a adição de quantidade específica de cada modificador na amostra de manteiga de cacau pura, a mistura foi submetida à agitação constante com aquecimento a temperatura de 60°C, aproximadamente, por 10 minutos para completa homogeneização. Após a incorporação dos modificadores, as misturas foram acondicionadas em frascos de vidro com tampa, sob temperatura ambiente.

Obtenção de chocolate amargo

A formulação básica do chocolate amargo foi baseada em Stroppa (2011) e Bonomi (2013). Para estudo comparativo do efeito da adição dos dois tipos de moduladores de cristalização foram utilizadas 3 formulações, denominadas:

- Formulação 1: chocolate amargo padrão (sem a adição de monoésteres de sorbitana ou estearina da manteiga de cacau);
- Formulação 2: chocolate amargo com adição de estearina da manteiga de cacau, obtida via fracionamento com solvente;
- Formulação 3: chocolate amargo adicionado com o emulsificante selecionado (monoestearato de sorbitana).

A composição e quantidade de cada ingrediente utilizado nas três formulações podem ser observadas na Tabela 3.1.

Foram preparados 5kg de cada uma das três diferentes formulações de chocolate amargo contendo 30% de gordura total, referente à soma do teor de gordura presente no *liquor* de cacau (~52% de fase lipídica) e na manteiga de cacau (100% de fase lipídica) da formulação.

As etapas de processamento das formulações de chocolate foram:

1) Mistura: os ingredientes açúcar e parte do *liquor* de cacau e da manteiga de cacau foram misturados de maneira a obter uma massa com 20% de gordura total. Esta etapa foi realizada em misturador encamisado (Inco, Alemanha) com aquecimento a aproximadamente 45°C;

2) Refino: a mistura foi refinada em refinador Draiswerk GmbH (Alemanha) constituído por três rolos de aço carbono, resfriados internamente com água fria (~15°C). A massa de chocolate foi refinada até alcançar tamanho máximo de partícula de 20 a 25 µm, monitorado por um micrômetro digital (Mitutoyo, Japão);

Tabela 3.1. Composição (%) das formulações de chocolate amargo padrão (Formulação 1), adicionado de estearina de manteiga de cacau (Formulação 2) e adicionado de monoestearato de sorbitana (Formulação 3).

Composição (%)	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3
Açúcar	49,20	49,20	49,05
Liquor de cacau	42,30	42,30	42,30
Manteiga de cacau	8,00	2,00	8,00
Lecitina	0,30	0,30	0,30
PGPR	0,20	0,20	0,20
Estearina da manteiga de cacau	-	6,00	-
Monoestearato de sorbitana	-	-	0,15

3) Conchagem: o restante do *liquor* e manteiga de cacau foi adicionado à massa refinada e esta mistura foi conchada em tacho encamisado (Inco, Alemanha) aquecido com água a 70°C e sob agitação constante durante 24h. Os emulsificantes lecitina e PGPR foram adicionados 1h antes do final da conchagem. Observação: antes da conchagem, juntamente com a adição do *liquor* e manteiga de cacau restantes, adicionou-se a estearina da manteiga de cacau no caso da Formulação 2 e o monoestearato de sorbitana dissolvido na própria manteiga de cacau na Formulação 3;

4) Temperagem: foi realizada em temperadeira semi-industrial da marca JAF Inox (Brasil), com capacidade para 8kg. Primeiramente, elevou-se a temperatura da massa até aproximadamente 40°C, que foi mantida por 30 minutos para completa fusão dos cristais de gordura. Em seguida, a massa foi resfriada sob uma taxa de aproximadamente 2°C/min, até atingir a temperatura de temperagem, sendo mantida nestas condições por 8 min. Posteriormente, foi realizado o reaquecimento da massa com incremento da temperatura de ~1,0°C acima da temperatura de temperagem de cada formulação com o intuito de destruir cristais instáveis formados. As temperaturas de temperagem e de reaquecimento foram definidas em ensaios preliminares com cada formulação de maneira a obter um Índice de Temperagem médio de 5,0;

5) Moldagem: após a pré-cristalização, a massa de chocolate foi vertida em moldes de policarbonato e submetida à vibração em mesa vibratória (JAF Inox, Brasil) para eliminação de bolhas de ar. Em seguida, os moldes preenchidos foram resfriados durante 15 min em túnel de resfriamento de 8m de extensão (SIAHT - modelo TRS, Brasil), com a temperatura do ar de 18°C nas extremidades e 12°C no centro. Após este período, as amostras foram desmoldadas, mantidas durante 24h a 20°C, embaladas em papel alumínio e armazenadas pelo período de 7 dias a 20°C para a estabilização da estrutura cristalina. Posteriormente, as amostras foram armazenadas nas duas condições de estudo (Item 3.2.1.4. j). No monitoramento da formação do *fat bloom* o tempo zero corresponde ao início do armazenamento para a estabilização da estrutura cristalina, isto é, todas as amostras armazenadas sob ciclos de temperatura permaneceram os 7 primeiros dias à temperatura de 20°C.

3.2.3 Local de realização dos experimentos

O fracionamento da manteiga de cacau foi realizado no LEPPBio (Laboratório de Engenharia de Produtos e Processos em Biorrecursos, Faculdade de Engenharia Química, UNICAMP), assim como as determinações de textura, índice de brancura, avaliação visual e microestrutura. A produção do chocolate amargo foi realizada na planta piloto do Cereal Chocotec no Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL, Campinas). As determinações de teor de sólidos por RMN, comportamento de cristalização e fusão por DSC e análise de composição em ácidos graxos, triacilgliceróis e acilgliceróis parciais foram realizadas no Laboratório de Óleos e Gorduras (Faculdade de Engenharia de Alimentos, UNICAMP). No Laboratório de Preparação e Caracterização de Materiais (Instituto de Física “Gleb Wataghin” - UNICAMP) foram obtidos os difratogramas pela técnica de difração de Raios-X e no Laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (USP) foi utilizado o microscópio de luz polarizada para avaliação da microestrutura das amostras.

3.2.4 Forma de análise dos resultados

Os resultados das determinações mencionadas no Item 3.2 deste projeto foram avaliados e comparados qualitativa e quantitativamente em relação aos efeitos testados, através de valores da literatura e estatisticamente, quando obtidos em um número maior ou igual a três repetições. Para avaliações realizadas em duplicata, considerou-se o valor médio entre as replicatas. As análises estatísticas foram realizadas pelo software *STATISTICA*, versão 8 (StatSoft Inc., EUA), utilizando do teste de ANOVA (*one-way analysis of variance*) e o teste de Tukey para comparação das médias, ao nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados e Discussões

4.1 Caracterização química da manteiga de cacau pura

A composição em ácidos graxos da manteiga de cacau pura está apresentada na Tabela 4.1. Os ácidos graxos majoritariamente encontrados foram C16:0 (palmítico), C18:0 (esteárico) e C18:1 (oléico), com 25,6; 34,6 e 34,6%, respectivamente.

De acordo com a metodologia da AOCS (2009), pode-se calcular o Índice de Iodo e o Índice de Saponificação de uma amostra a partir de sua composição em ácidos graxos. Estes índices são considerados parâmetros indiretos relacionados à composição em ácidos graxos de óleos e gorduras. O primeiro refere-se ao número médio de duplas ligações, ou seja, o grau de insaturação das amostras lipídicas enquanto que o segundo é uma medida da quantidade de KOH, em mg, necessário para saponificar 1 g de óleo ou gordura. Para a amostra de manteiga de cacau avaliada, obteve-se os valores de 36,0 g I₂/100 g e 193,7 mg KOH/g para o Índice de Iodo e o Índice de Saponificação, respectivamente.

Tabela 4.1 Composição em ácidos graxos da manteiga de cacau pura, em %.

Ácido Graxo	% (*)
C16:0	25,6
C16:1	0,2
C17:0	0,2
C18:0	34,6
C18:1	34,6
C18:2	3,2
C18:3	0,2
C20:0	1,1
C22:0	0,2
C24:0	0,1

(*) Quantificação realizada por normalização de área com resultados apresentados em % mássica de cada ácido graxo sobre o total.

A composição em triacilgliceróis (TAGs) da manteiga de cacau varia de acordo com sua origem e sazonalidade. POP (1-palmitil-2-oleoil-palmitina), SOS (1-estearil-2-oleoil-estearina) e POS (1-palmitil-2-oleoil-estearina) são os TAGs encontrados em maior quantidade na manteiga de cacau, nos quais o ácido oléico ocupa preferencialmente a posição *sn*-2 da cadeia do glicerol, formando TAGs simétricos em

referência à saturado-insaturado-saturado - SUS - totalizando aproximadamente 80% dos TAGs da manteiga de cacau (BECKETT, 2008). A Tabela 4.2 apresenta a composição em triacilgliceróis determinada na amostra de manteiga de cacau utilizada neste projeto.

Através da Tabela 4.2, pode-se observar que a amostra em questão apresenta um teor de aproximadamente 20, 40 e 23% em triacilgliceróis POP, POS e SOS, respectivamente, sendo assim composta por 83% destes triacilgliceróis simétricos.

Embora os triacilgliceróis sejam os principais constituintes da fase cristalina de uma gordura, a presença de componentes minoritários como diacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos livres pode alterar significativamente o processo de cristalização (HARTEL, METIN, 2005). Devido a essa característica, deve-se também considerar como fator relevante na análise da cristalização da manteiga de cacau o teor presente de compostos minoritários na matéria-prima. A análise cromatográfica de classes de lipídios na manteiga de cacau pura indicou teores de 95,4; 2,7 e 1,9%, respectivamente, de triacilgliceróis, diacilgliceróis e ácidos graxos livres.

Tabela 4.2. Composição em triacilgliceróis da amostra de manteiga de cacau, em %.

Triacilglicerol	% (*)
PPS/PSP	0,7
POP	19,6
PLP/PPL	2,0
PSS/SPS	0,5
POS	40,3
POO	4,2
PLS/PLO	3,5
SOS	22,7
SOO	4,1
OOO/SLO	1,7
SOA	0,9

P – palmitato, S – estearato, O – oleato, L – linoleato, A – araquidato

(*) Quantificação realizada por normalização de área com resultados apresentados em % mássica de cada triacilglicerol sobre o total.

Comparando-se a soma dos triacilgliceróis do tipo SUS da manteiga de cacau deste estudo, aproximadamente 82,6%, com a manteiga de cacau brasileira, 71,1% de SUS, cujos valores foram

apresentados na Tabela 2.1 (Item 2.2), nota-se que a MC utilizada neste trabalho apresenta 11,5% a mais destes TAGs. Porém, em comparação com as variedades de outras nacionalidades - Índia, Malásia, Sri Lanka e Nigéria - a manteiga de cacau em estudo apresenta menor teor de TAGs monoinsaturados simétricos (SHUKLA, 2005).

4.2 Ensaios preliminares para seleção entre os emulsificantes monoésteres de sorbitana

Dentre os emulsificantes monoésteres de sorbitana, apenas o monoestearato de sorbitana está regulamentado no Brasil para ser adicionado em produtos com a denominação de chocolate e com a função específica de emulsificante, na proporção máxima de 1,0 g deste aditivo para cada 100 g de produto final, de acordo com Resolução nº 387, de 05 de agosto de 1999 ("Regulamento Técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 5: balas, confeitos, bombons, chocolates e similares") (ANVISA, 2014). Os demais emulsificantes avaliados nesta pesquisa têm sua adição liberada em outros produtos como balas e confeitos de acordo com a categoria de alimentos 5 da ANVISA (2014). Assim, neste trabalho, além do monoestearato de sorbitana, também foram considerados para estudo inicial estes outros três monoésteres de sorbitana - que também são aditivos permitidos para uso em alimentos - com a finalidade principal de avaliá-los como modeladores de cristalização da manteiga de cacau.

Os quatro emulsificantes inicialmente selecionados foram adicionados e posteriormente homogeneizados na manteiga de cacau previamente fundida a 60°C em quantidades de 0,5; 1,0 e 1,5% m/m de cada emulsificante. As amostras foram nomeadas conforme consta na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Abreviação das amostras dos emulsificantes e de misturas dos emulsificantes com manteiga de cacau.

Identificação	Amostra	Identificação	Amostra
MC	Manteiga de cacau		
SMLa	Monolaurato de sorbitana	MCSMLa	MC adicionada de SMLa
SMP	Monopalmitato de sorbitana	MCSMP	MC adicionada de SMP
SMS	Monoestearato de sorbitana	MCSMS	MC adicionada de SMS
SMO	Monooleato de sorbitana	MCSMO	MC adicionada de SMO

A fim de obter subsídios sobre a funcionalidade destes aditivos na estruturação de manteiga de cacau, as amostras contendo 0,5; 1,0 e 1,5% m/m foram submetidas às seguintes determinações:

conteúdo de gordura sólida, ponto de fusão, cristalização isotérmica por RMN e comportamento de cristalização por DSC.

O conteúdo de gordura sólida foi determinado na manteiga de cacau pura e nas amostras de manteiga de cacau adicionadas de emulsificantes. A Tabela 4.4 apresenta o teor de sólidos determinado por RMN para cada amostra.

Tabela 4.4. Conteúdo de gordura sólida, em %, da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de emulsificantes monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato de sorbitana nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5% m/m.

Amostra	Temperatura (°C)					
	10	15	20	25	30	35
MC	76,4	71,9	65,5	54,8	27,9	0,6
MCSMLa 0,5%	78,6	72,4	65,1	54,1	25,8	0,2
MCSMLa 1,0%	78,2	72,3	65,9	53,2	25,8	0,4
MCSMLa 1,5%	76,3	72,1	65,0	53,5	25,8	0,6
MCSMP 0,5%	79,6	72,9	66,6	54,6	26,5	0,3
MCSMP 1,0%	79,9	73,4	66,8	54,5	25,6	0,7
MCSMP 1,5%	79,3	74,8	67,3	55,1	25,9	0,8
MCSMS 0,5%	79,4	73,2	67,0	54,9	27,1	0,4
MCSMS 1,0%	80,3	73,3	66,2	54,0	27,7	0,6
MCSMS 1,5%	81,4	74,7	68,0	55,9	29,1	0,6
MCSMO 0,5%	77,5	70,9	65,4	53,3	27,2	0,7
MCSMO 1,0%	76,7	70,9	65,2	53,2	26,6	0,6
MCSMO 1,5%	76,3	70,9	64,1	53,2	25,6	0,5

MC – manteiga de cacau, SMLa – monolaurato de sorbitana, SMP – monopalmitato de sorbitana, SMS – monoestearato de sorbitana, SMO – monooleato de sorbitana

Pode-se observar pelos dados apresentados na Tabela 4.4 que as amostras adicionadas de monoestearato e de monopalmitato de sorbitana apresentaram valores maiores de conteúdo de gordura sólida do que a manteiga de cacau pura. Além disso, principalmente nas temperaturas de 10 e 15°C para a adição de monoestearato de sorbitana, o teor de sólidos aumenta com o aumento da concentração do emulsificante adicionado a estas amostras. As amostras que receberam monooleato de sorbitana, em

todas as temperaturas analisadas, apresentaram diminuição do teor de sólidos em comparação à matéria-prima. Já as amostras adicionadas de monolaurato de sorbitana apresentaram ligeiro aumento do conteúdo de gordura sólida se comparadas aos da manteiga de cacau pura principalmente na temperatura de 10°C.

Considerando que os emulsificantes monoestearato e monooleato de sorbitana possuem tamanho de cadeia igual (com 18 carbonos), as diferenças encontradas entre as amostras adicionadas de cada um destes emulsificantes podem ser atribuídas ao grau de saturação da cadeia. Segundo Rye, Litwinenko e Marangoni (2005), tipicamente, quanto maior a saturação, maior será o conteúdo de gordura sólida.

O ponto de fusão de cada amostra foi determinado segundo a metodologia citada anteriormente neste trabalho, correspondendo à temperatura da amostra com conteúdo de sólidos de 4%, conforme determinado por RMN.

Devido à similaridade obtida nos valores do teor de sólidos a altas temperaturas (25, 30 e 35°C), o ponto de fusão das amostras analisadas foi próximo a 34°C, isto é, igual ao ponto de fusão determinado para a manteiga de cacau pura. Este ponto de fusão indica que o polimorfismo predominante nas amostras após a etapa de temperagem realizada anteriormente a esta avaliação é a Forma V.

As isotermas de cristalização das amostras de manteiga de cacau pura e manteiga de cacau adicionadas de emulsificantes foram determinadas à 15°C. A Tabela 4.5 apresenta o período de indução (τ_{SFC}), teor máximo de sólidos ($SFC_{m\acute{a}x}$), tempo de estabilização da cristalização (tec), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e coeficiente de correlação (R^2) do ajuste da equação 3.1 para as amostras avaliadas.

Uma comparação entre os dados apresentados na Tabela 4.5, indica que as amostras de manteiga de cacau adicionadas de monoestearato de sorbitana tiveram o início do processo de cristalização antecipado em relação ao da manteiga de cacau pura, que é de 8 minutos. As amostras adicionadas de monopalmitato de sorbitana a 1,0 e 1,5% de concentração também diminuíram o período de indução se comparadas com a amostra de manteiga de cacau pura. No entanto, as amostras adicionadas de monolaurato e monooleato de sorbitana não apresentaram alteração quanto ao período de indução da cristalização, nas condições específicas da análise realizada. A antecipação do tempo de indução da cristalização da manteiga de cacau pode ser considerada vantajosa para a produção de chocolates, por exemplo, no que se refere a obtenção de maneira acelerada da forma cristalina desejável neste produto.

Quanto ao teor de sólidos máximo, nota-se que não houve mudanças significativas para as amostras adicionadas de emulsificantes em relação ao valor determinado para a manteiga de cacau pura. Já o tempo de estabilização da cristalização apresentou-se maior para as amostras adicionadas dos quatro emulsificantes avaliados se comparadas à matéria-prima pura.

Tabela 4.5. Período de indução (τ_{SFC}), teor máximo de sólidos ($SFC_{m\acute{a}x}$), tempo de estabilização da cristalização (tec), constante de Avrami (k), expoente de Avrami (n) e coeficiente de correlação (R^2) da manteiga de cacau pura e manteiga de cacau adicionada de emulsificantes monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato de sorbitana nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5% m/m.

Amostra	τ_{SFC} (min)	$SFC_{m\acute{a}x}$ (%)	tec (min)	k (min^{-1})	n	R^2
MC	8	75	97	1,50E-04	2,27	0,94
MCSMLa 0,5%	7	75	111	2,32E-04	2,13	0,97
MCSMLa 1,0%	8	74	110	3,35E-04	2,03	0,97
MCSMLa 1,5%	7	74	116	1,96E-04	2,14	0,97
MCSMP 0,5%	7	74	108	5,06E-04	1,93	0,96
MCSMP 1,0%	6	73	113	9,93E-04	1,78	0,98
MCSMP 1,5%	5	72	115	1,24E-03	1,74	0,99
MCSMS 0,5%	6	74	112	3,29E-04	2,03	0,94
MCSMS 1,0%	6	74	122	1,03E-03	1,78	0,99
MCSMS 1,5%	4	72	114	1,07E-03	1,77	0,99
MCSMO 0,5%	7	75	109	1,85E-04	2,18	0,97
MCSMO 1,0%	8	74	111	2,40E-04	2,11	0,97
MCSMO 1,5%	7	74	115	1,64E-04	2,21	0,95

MC – manteiga de cacau, SMLa – monolaurato de sorbitana, SMP – monopalmitato de sorbitana, SMS – monoestearato de sorbitana, SMO – monooleato de sorbitana

Ao avaliar os dados obtidos através da equação de Avrami (considerando apenas o período de aumento o teor de sólidos na isoterma), a constante de Avrami k que está relacionada com a taxa de crescimento dos cristais, apresenta-se maior para as amostras adicionadas de monopalmitato e monoestearato de sorbitana a 1,0 e 1,5% de concentração se comparadas com a manteiga de cacau pura. Já as demais amostras não apresentaram diferenças quanto à velocidade de cristalização nas condições da análise. O valor do expoente de Avrami, n, indica o mecanismo de crescimento dos cristais. Neste

trabalho, os resultados aproximam-se do valor 2, nas condições de temperatura utilizadas na análise de todas as amostras. Segundo Campos (2005), o valor 2 para este parâmetro refere-se ao crescimento de cristais na forma de bastonetes a partir de núcleos esporádicos e/ou crescimento de cristais na forma de discos, a partir de núcleos instantâneos.

Os eventos de cristalização foram obtidos com o DSC. A Tabela 4.6 apresenta os valores de Temperatura *onset* de cristalização (T_{oc}), Temperatura de pico de cristalização (T_{pc}), entalpia de cristalização (ΔH_c), Temperatura final de cristalização (T_{fc}) e intensidade do pico (I) da manteiga de cacau utilizada, de cada um dos emulsificantes puros e também das amostras de manteiga de cacau adicionadas dos emulsificantes nas três concentrações avaliadas. Estes resultados também podem ser visualizados nas Figuras de 4.1 a 4.4.

Tabela 4.6. Temperatura *onset* de cristalização (T_{oc}), Temperatura de pico de cristalização (T_{pc}), entalpia de cristalização (ΔH_c), Temperatura final de cristalização (T_{fc}) e intensidade do pico (I) da manteiga de cacau, dos emulsificantes monolaurato, monopalmitato, monoestearato e monooleato de sorbitana puros e de manteiga de cacau adicionadas dos emulsificantes em três diferentes concentrações.

Amostra	T_{oc} (°C)	T_{pc} (°C)	ΔH_c (J/g)	T_{fc} (°C)	I (W/g)
MC	19,30	14,20	75,08	-7,24	0,35
SMLa	15,35	12,02	41,63	-20,24	0,18
MCSMLa 0,5%	18,13	13,88	72,42	-7,56	0,30
MCSMLa 1,0%	18,34	13,97	77,73	-6,59	0,35
MCSMLa 1,5%	18,88	14,03	72,21	-7,77	0,31
SMP	49,98	49,12	82,52	14,18	0,47
MCSMP 0,5%	20,70	14,22	82,15	-7,66	0,39
MCSMP 1,0%	21,45	14,05	77,44	-7,34	0,36
MCSMP 1,5%	22,41	14,34	79,58	-7,45	0,38
SMS	52,65	51,42	95,84	15,03	0,62
MCSMS 0,5%	21,60	14,07	76,39	-7,45	0,36
MCSMS 1,0%	22,93	14,24	80,37	-7,24	0,39
MCSMS 1,5%	23,82	14,09	80,04	-7,45	0,38
SMO	-9,69	-14,95	4,63	-35,80	0,03
MCSMO 0,5%	19,00	13,94	77,67	-6,59	0,35
MCSMO 1,0%	19,11	14,07	78,03	-7,34	0,35
MCSMO 1,5%	19,10	14,14	76,32	-7,24	0,33

MC – manteiga de cacau, SMLa – monolaurato de sorbitana, SMP – monopalmitato de sorbitana, SMS – monoestearato de sorbitana, SMO – monooleato de sorbitana

Pode-se notar pela temperatura de início de cristalização (T_{oc}) apresentada na Tabela 4.6 e também observada na Figura 4.1, que com o aumento do teor do emulsificante monoestearato de sorbitana ocorreu aumento da T_{oc} se comparada com a da manteiga de cacau pura. Por exemplo, a amostra MCSMS 1,5% apresentou uma diferença da temperatura *onset* de cristalização de 4,5°C superior a T_{oc} da matéria-prima pura. Assim, a adição do monoestearato de sorbitana ocasionou a indução da cristalização da mistura, antecipando o início do processo de cristalização. Pode-se também observar que a intensidade do pico (I, em W/g) permaneceu aproximadamente constante em amostras de manteiga de cacau adicionadas de emulsificantes se comparadas com a manteiga de cacau pura. Isto demonstra que a indução da cristalização ocasionada pela adição deste emulsificante ocorreu sem a liberação adicional de energia por unidade de tempo, além daquela já observada para a amostra da manteiga de cacau pura.

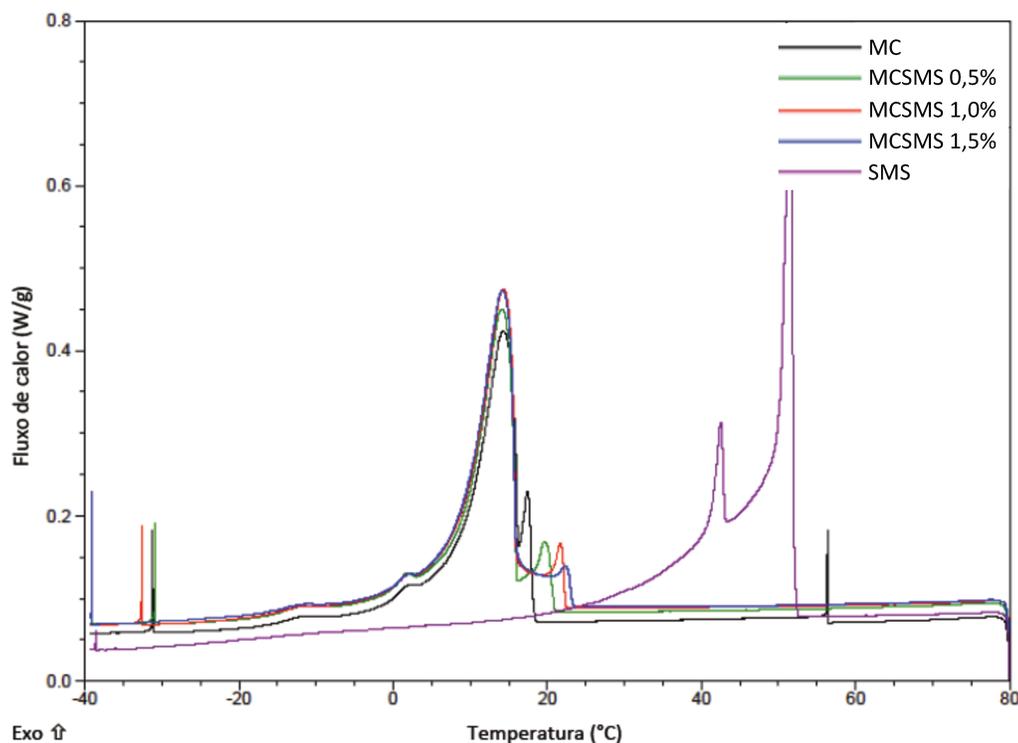


Figura 4.1 Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau, monoestearato de sorbitana puro e de manteiga de cacau adicionada de monoestearato de sorbitana em três diferentes concentrações (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

Observa-se pelas curvas traçadas nas Figuras 4.1, 4.2 e 4.4 que não houve o aparecimento de pico das amostras de manteiga de cacau adicionadas dos emulsificantes na região em que ocorre o pico

relativo a cada emulsificante puro. Isso indica que houve solubilização entre o emulsificante e a manteiga de cacau nestas amostras. Na Figura 4.3, entretanto, os picos das amostras de manteiga de cacau adicionadas de monooleato de sorbitana ocorrem na mesma temperatura do pico deste emulsificante puro. Assim, a interação entre esse emulsificante e a amostra em questão não pode ser adequadamente avaliada através desta análise.

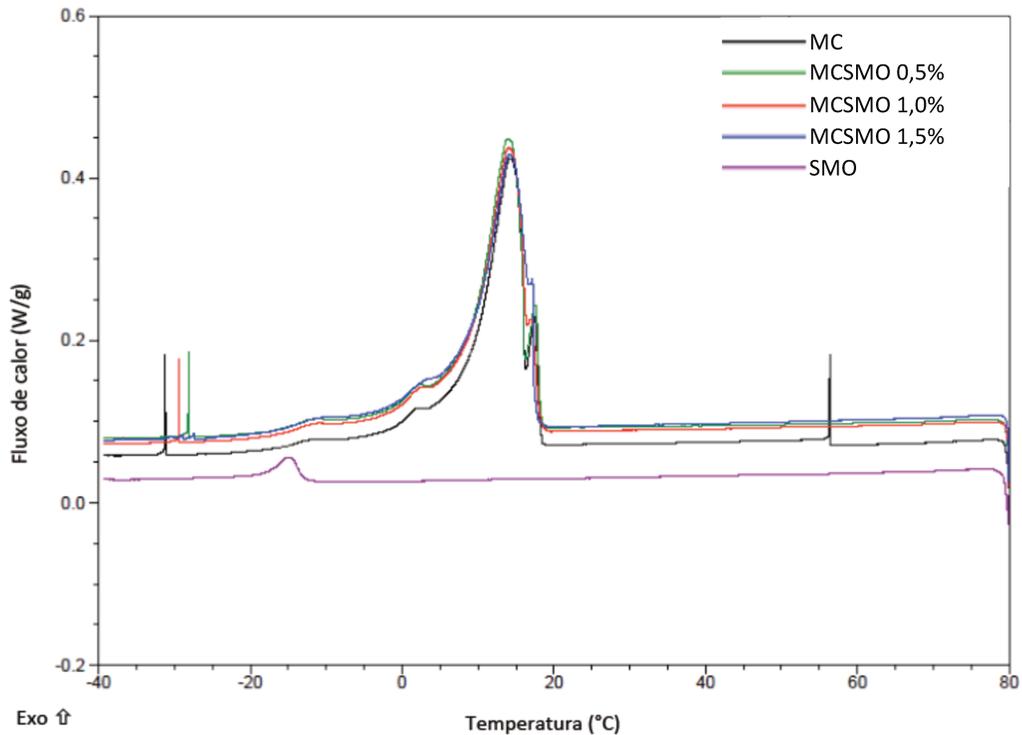


Figura 4.2. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau, monooleato de sorbitana puro e de manteiga de cacau adicionadas de monooleato de sorbitana em três diferentes concentrações (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

Uma avaliação dos resultados contidos na Tabela 4.6 e também presentes na Figura 4.2, referentes às amostras adicionadas de monooleato de sorbitana, permite concluir que não houve mudança no comportamento térmico ao compará-las com a manteiga de cacau pura. Como anteriormente mencionado, este comportamento pode ser atribuído à estrutura química do monooleato de sorbitana, que apresenta ramificação com uma cadeia insaturada de ácido graxo e, portanto, com temperatura de cristalização inferior à das cadeias saturadas.

Quanto ao comportamento térmico observado pela adição de monolaurato de sorbitana na amostra de manteiga de cacau, pode-se notar que, assim como a adição de monooleato de sorbitana, essas amostras não apresentaram mudanças quando comparadas à manteiga de cacau pura. Este resultado pode ser observado pelos dados da Tabela 4.6, representados também na Figura 4.3.

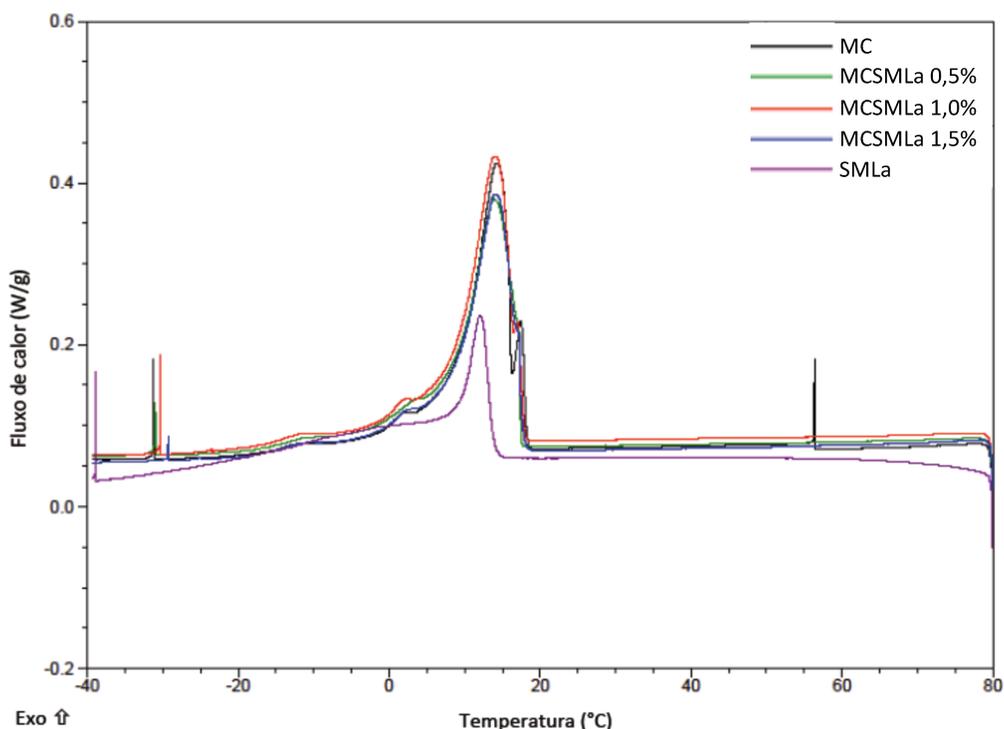


Figura 4.3. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau, monolaurato de sorbitana puro e de manteiga de cacau adicionadas de monolaurato de sorbitana em três diferentes concentrações (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

A adição de monopalmitato de sorbitana em três diferentes concentrações ocasionou alteração no comportamento térmico da manteiga de cacau adicionada deste emulsificante, como pode ser observado na Tabela 4.6 e Figura 4.4. De maneira similar ao comportamento observado com a adição de monoestearato de sorbitana, a adição de monopalmitato de sorbitana antecipou a cristalização da manteiga de cacau, à medida que aumentou a temperatura de início da cristalização da amostra, se comparada a manteiga de cacau pura. Este aumento de temperatura *onset* de cristalização (T_{oc}) se correlacionou de maneira crescente com o aumento da concentração deste emulsificante. Assim, para a amostra adicionada de 1,5% de monopalmitato de sorbitana observou-se um aumento de 3,1°C na temperatura de início de cristalização.

A partir dos resultados apresentados neste item, principalmente quanto ao efeito indutor da cristalização inicial da manteiga de cacau, conclui-se que o monoestearato de sorbitana é o emulsificante com maior capacidade para alterar a cristalização da manteiga de cacau, se comparado aos demais monoésteres de sorbitana avaliados nas condições deste estudo. Assim, o SMS foi selecionado para ser aplicado em formulações de chocolate.

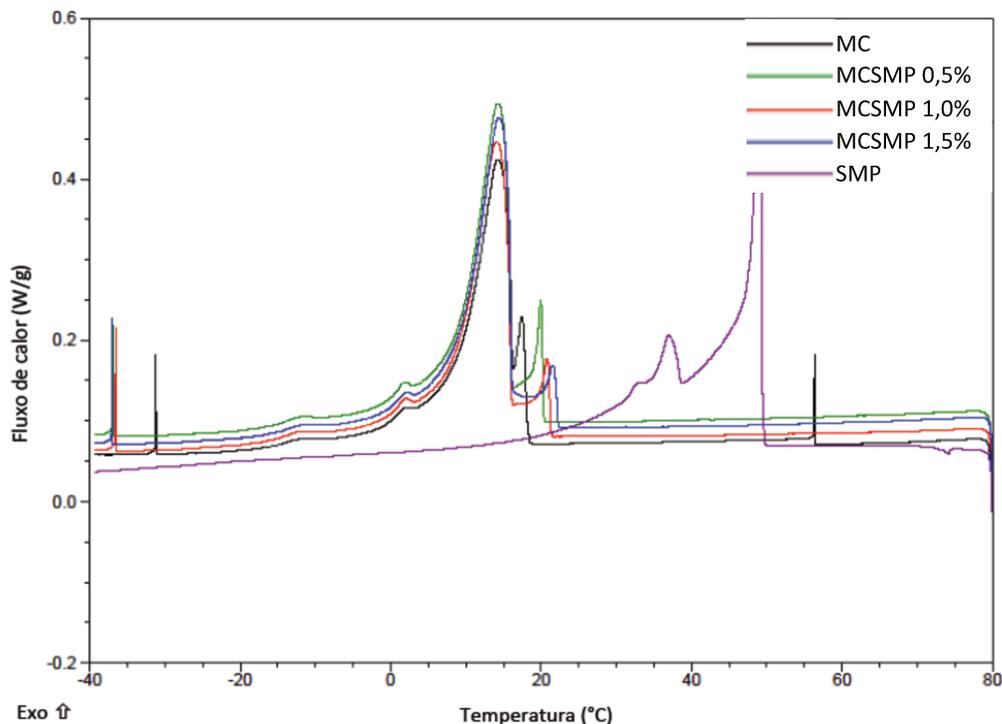


Figura 4.4. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau, monopalmitato de sorbitana puro e de manteiga de cacau adicionadas de monopalmitato de sorbitana em três diferentes concentrações (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

4.3 Comparação entre os emulsificantes monoestearato e monooleato de sorbitana

Nesta seção são apresentadas determinações e comparações mais abrangentes e detalhadas realizadas em amostras adicionadas de SMS com o objetivo de diferenciar os efeitos na cristalização da MC nas três concentrações de SMS utilizadas e selecionar uma concentração de SMS para ser aplicada na fabricação de chocolate amargo. Considerando também que os resultados preliminares indicam que a atuação do SMO como modulador da cristalização é inexistente, mas entendendo que sua adição à MC pode influenciar outras características, como por exemplo a textura e polimorfismo, e desta maneira se

contrapor a ação do SMS, o estudo complementar contempla também avaliações realizadas com a adição de monooleato de sorbitana.

4.3.1 Conteúdo de gordura sólida

O teor de sólidos em diferentes temperaturas e o ponto de fusão de gorduras são parâmetros físicos primários monitorados quando aplicações específicas são consideradas. Em chocolates, estes parâmetros estão associados a atributos de qualidade como dureza a temperatura ambiente e derretimento à temperatura corporal. De acordo com Shukla, Nielsen e Batsberg (2006), a manteiga de cacau apresenta uma faixa de temperatura de fusão de 32 a 35°C, devido a relativa variedade e quantidade de diferentes triacilgliceróis em sua composição.

A curva de sólidos determinada para a manteiga de cacau pura, emulsificantes monoestearato e monooleato de sorbitana puros, e para as misturas de manteiga de cacau adicionadas de 1,5% m/m de monoestearato de sorbitana (MCSMS 1,5%) e 1,5% m/m de monooleato de sorbitana (MCSMO 1,5%) estão apresentadas na Figura 4.5. As curvas na Figura 4.5 mostram um aumento no valor de CGS na amostra de manteiga de cacau adicionada de monoestearato de sorbitana e uma diminuição com a adição do monooleato de sorbitana, se comparados com a matéria-prima pura.

As curvas de conteúdo de gordura sólida para as amostras adicionadas de 0,5 e 1,0% dos emulsificantes monoestearato e monooleato de sorbitana apresentaram perfis semelhantes ao apresentado na Figura 4.5 e podem ser observadas na Figura A.1 (Apêndice A).

Os emulsificantes puros apresentam grande diferença entre seus valores de CGS em função da temperatura (Figura 4.5). O monoestearato de sorbitana apresenta valores de CGS extremamente altos até a temperatura de aproximadamente 40°C e, em contrapartida, o monooleato de sorbitana pode ser considerado líquido, mesmo na temperatura de 10°C.

A expressiva diferença entre o conteúdo de gordura sólida destes dois tipos de monoésteres de sorbitana condiz com a tendência observada nas misturas destes com a manteiga de cacau. Conforme observado na Figura 4.5, a adição de SMS ocasiona um leve aumento no teor de sólidos, provavelmente devido a sua rápida taxa de nucleação inicial. De acordo com Garbolino, Bartoccini e Floter (2005), a adição de monoestearato de sorbitana em misturas baseadas em óleo de palma promoveu a formação de uma rede densa de cristais pequenos e valores de consistência elevados. Estes efeitos foram explicados de acordo com as interações acil-acil existentes entre os ácidos graxos do emulsificante e os triacilgliceróis do sistema lipídico.

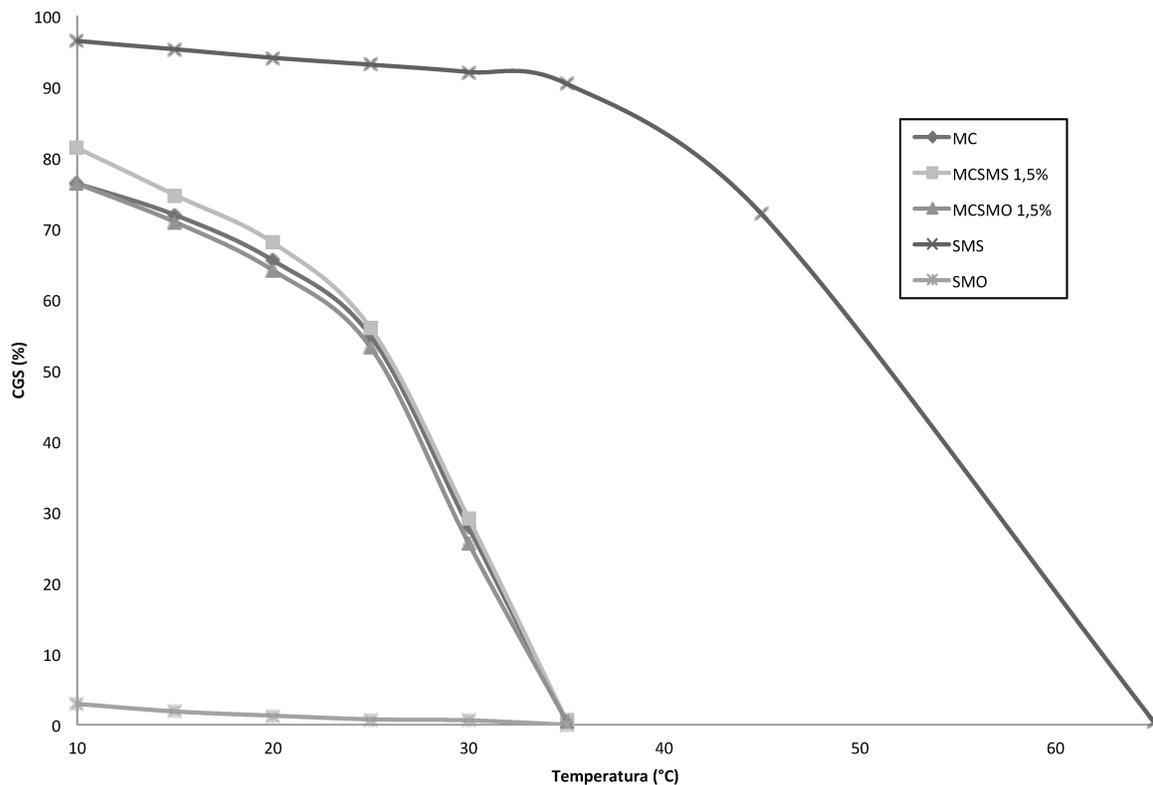


Figura 4.5. Conteúdo de gordura sólida (CGS), em %, da manteiga de cacau pura, monoestearato e monooleato de sorbitana e misturas em função da temperatura (°C) (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

A faixa de temperatura de fusão calculada com base no valor de 4% de conteúdo de gordura sólida da manteiga de cacau pura e das misturas está situada entre 34 e 35°C. Esta faixa de fusão está de acordo com grande parte dos requerimentos para aplicação em alimentos, incluindo a produção de chocolate, no qual as gorduras devem fundir-se rapidamente na temperatura corporal a fim de evitar a percepção de arenosidade e cerosidade pelos consumidores (SHUKLA *et al.*, 2006).

4.3.2 Comportamento térmico

Os eventos de cristalização monitorados pelo DSC da manteiga de cacau pura e das misturas de 0,5; 1,0 e 1,5% de cada emulsificante SMS e SMO, separadamente, revelam um comportamento diferenciado quanto à temperatura de início de cristalização conforme apresentado na Tabela 4.7.

Todas as concentrações de SMS aumentaram a temperatura de início de cristalização. A adição de apenas 0,5% de SMS na manteiga de cacau aumentou a temperatura de início de cristalização em 2,3°C se comparada com a manteiga de cacau pura. A adição de maiores teores de SMS em manteiga de cacau

continuou a aumentar a temperatura de início de cristalização, porém em uma proporção decrescente, com um aumento de 4,5°C na temperatura de início de cristalização com a adição de 1,5% de SMS em manteiga de cacau se comparada com a matéria-prima pura. Por outro lado, a adição de SMO nas três diferentes concentrações não alterou este parâmetro.

Tabela 4.7. Temperatura *onset* de cristalização (T_{oc}) para manteiga de cacau pura, emulsificantes puros e misturas com SMS e SMO em três diferentes concentrações.

Amostra	T_{oc} (°C)	Amostra	T_{oc} (°C)
MC	19,3 ± 0,9	MC	19,3 ± 0,9
MCSMO 0,5%	19,0 ± 0,7	MCSMS 0.5%	21,6 ± 0,3
MCSMO 1,0%	19,1 ± 0,6	MCSMS 1.0%	22,9 ± 0,3
MCSMO 1,5%	19,1 ± 0,9	MCSMS 1.5%	23,8 ± 0,2
SMO	-9,7 ± 0,6	SMS	52,7 ± 0,8

MC – manteiga de cacau, SMS – monoestearato de sorbitana, SMO – monooleato de sorbitana

A temperatura *onset* de cristalização para os emulsificantes puros também está apresentada na Tabela 4.7. Os valores sugerem que o aumento na temperatura *onset* de cristalização das amostras adicionadas de SMS está relacionado com a característica térmica original deste emulsificante puro. Conforme observado na avaliação do perfil de sólidos, o aumento de CGS com a adição do emulsificante SMS indica que este auxilia a indução da nucleação da manteiga de cacau e, conseqüentemente, aumenta a temperatura de início de cristalização (T_{oc}). Agindo em sentido contrário, de acordo com Dhonsi e Stapley (2006), a adição de lecitina - um dos emulsificantes comumente utilizados na produção de chocolate - não induz a formação de cristais e até mesmo causa um leve atraso na temperatura *onset* de cristalização. Desta maneira, estes resultados sugerem que a adição de SMS pode ocasionar um incremento no comportamento térmico da fase lipídica de chocolates e, portanto, pode ser considerada como uma importante ferramenta para evitar certos defeitos causados por estocagem em altas temperaturas.

4.3.3 Isoterma de cristalização

A cristalização de lipídios é considerada uma transformação estrutural do estado líquido para o sólido sob condições de resfriamento ou saturação do meio. Basicamente, ocorre em duas etapas simultâneas: nucleação e crescimento. A nucleação está associada à formação de núcleos

termodinamicamente estáveis, os quais irão aumentar em tamanho através da incorporação de moléculas de triacilgliceróis da solução na estrutura cristalina, originando o crescimento dos cristais (CAMPOS, 2005).

A taxa de cristalização da manteiga de cacau e misturas foi monitorada através do aumento do conteúdo de gordura sólida, medido a cada minuto sob temperatura constante. Na Figura 4.6 estão apresentadas as isotermas de cristalização de amostras de manteiga de cacau pura e manteiga de cacau adicionada de 1,5% de monoestearato e 1,5% de monooleato de sorbitana, à temperatura de 15°C. Ao se constatar que não houve grande diferença entre as isotermas realizadas a esta temperatura, optou-se por realizar novamente este ensaio à 17,5°C para, possivelmente, melhor diferenciar o comportamento das amostras (Figura 4.7). As isotermas à 15 e 17,5°C de amostras com adição de 0,5 e 1,0% de SMS e SMO podem ser observadas nas Figuras B.1 e B.2 (Apêndice B), respectivamente.

O período de indução (τ_{SFC}) medido por RMN à 17,5°C - correspondente ao tempo necessário para formação de núcleos estáveis a aproximadamente 1% de conteúdo de gordura sólida (valor relativo a precisão do equipamento) - foi de 10 minutos para a manteiga de cacau pura. As adições de SMO nas concentrações de 0,5; 1,0 e 1,5% promoveram um pequeno atraso no início da cristalização se comparadas com o comportamento da manteiga de cacau pura. Opostamente, a manteiga de cacau adicionada de SMS mostrou uma redução no período de indução em 4, 3 e 2 minutos, nas concentrações de 1,5; 1,0 e 0,5%, respectivamente.

O menor período de indução para a formação inicial de cristais de manteiga de cacau adicionada de SMS juntamente com os efeitos observados através da curva do conteúdo de gordura sólida e o comportamento térmico indicam que o monoestearato de sorbitana pode ser considerado como um potencial modulador da cristalização da manteiga de cacau.

O tempo para alcançar a estabilização da cristalização isotérmica (t_{ec}) foi em torno de 120 e 150 minutos para todas as amostras avaliadas e o conteúdo de gordura sólida máxima ($SFC_{máx}$) de todas as misturas e manteiga de cacau pura apresenta-se entre 65 e 70% de sólidos (Figura 4.7 e B.2 do Apêndice B).

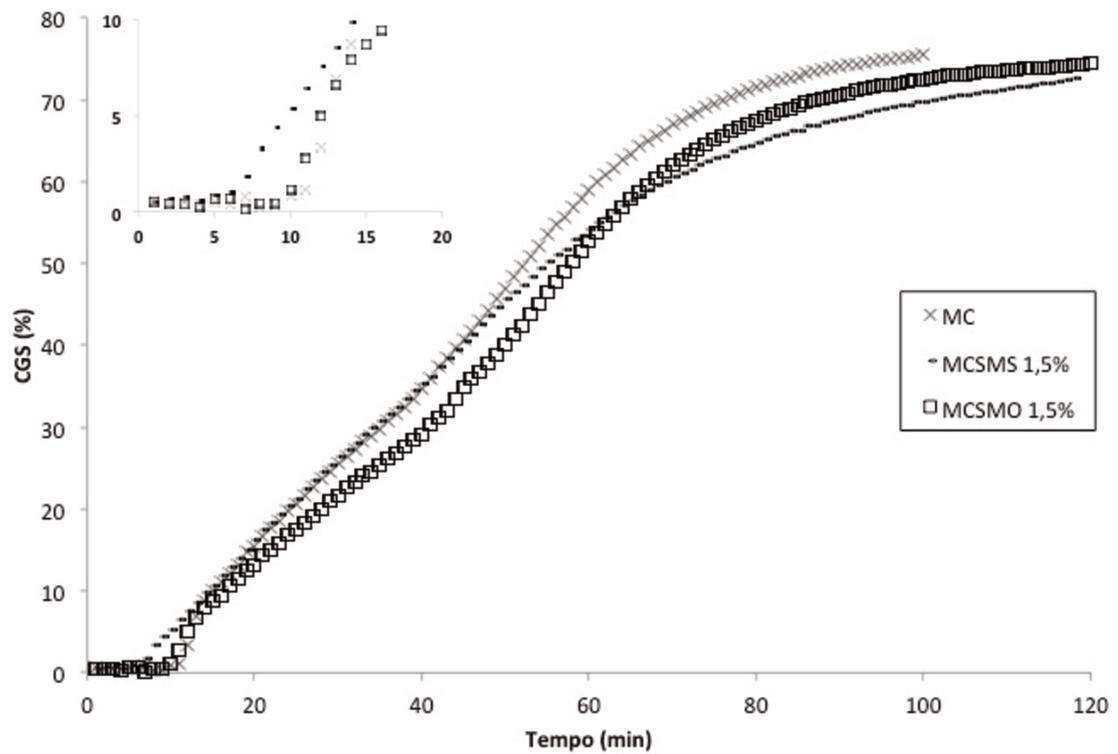


Figura 4.6. Isotermas de cristalização à 15°C da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de 1,5% de monoestearato e 1,5% de monooleato de sorbitana.

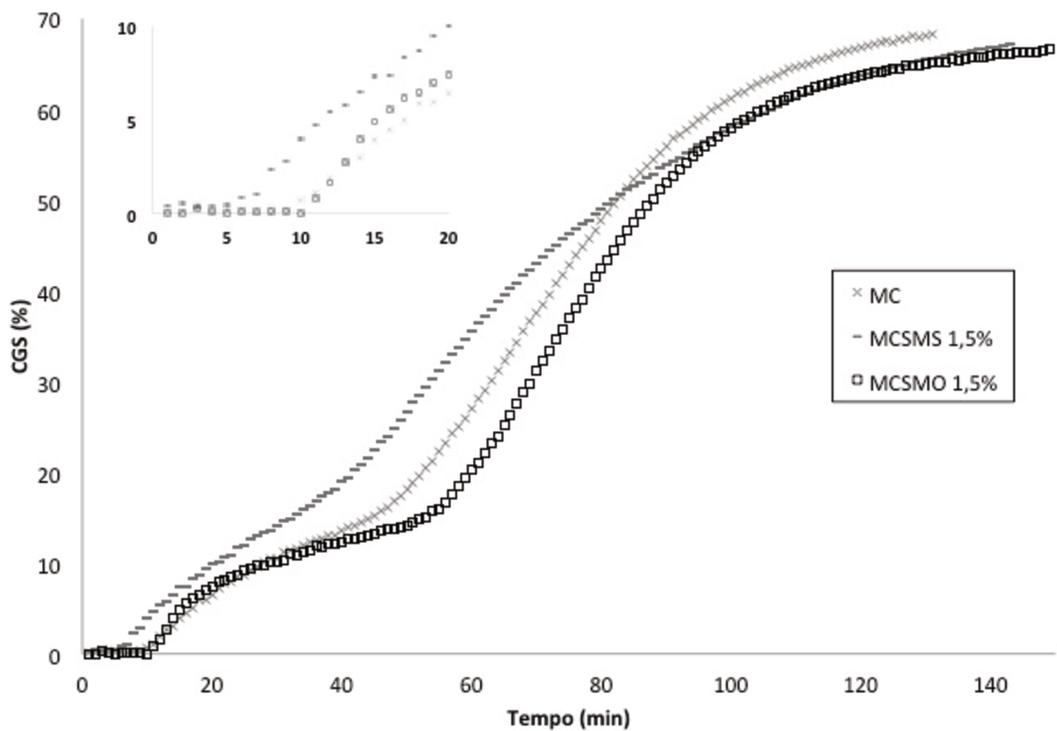


Figura 4.7. Isotermas de cristalização à 17,5°C da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de 1,5% de monoestearato e 1,5% de monooleato de sorbitana.

A Figura 4.8 reapresenta os valores de CGS traçados na Figura 4.7, mas apenas até o conteúdo de gordura sólida de 30% e, desta maneira, as duas etapas do perfil de cristalização da manteiga de cacau podem ser mais claramente reconhecidas. A adição de 1,5% de SMS na manteiga de cacau atenuou o degrau de cristalização que pode ser observado na isoterma de cristalização da manteiga de cacau entre os tempos de 20 e 40 minutos. Por outro lado, a adição de 1,5% de SMO apresentou o comportamento oposto, uma vez que acentuou a formação deste *plateau*. As mesmas tendências foram observadas com as misturas de concentrações de 0,5 e 1,0% dos emulsificantes, contudo, em menor extensão.

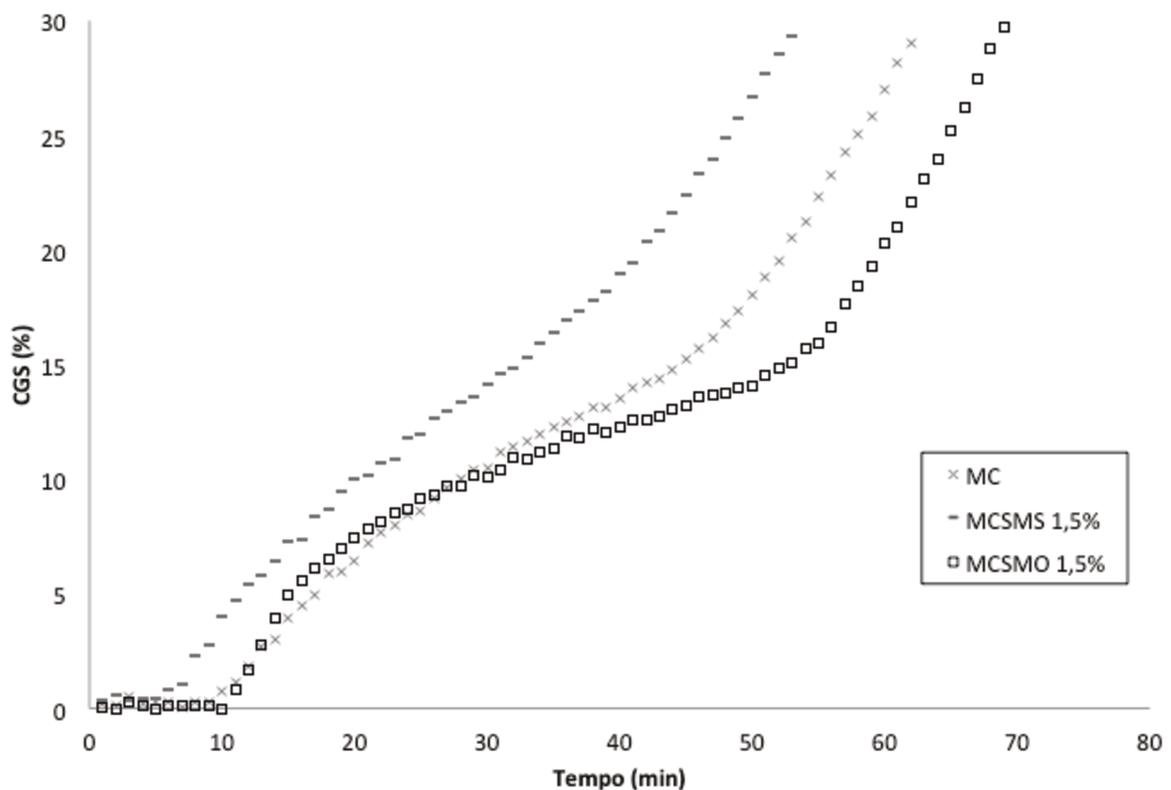


Figura 4.8. Secção inicial das isotermas de cristalização à 17,5°C de manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de 1,5% de monoestearato e 1,5% de monooleato de sorbitana (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

A presença do *plateau* na cristalização isotérmica da manteiga de cacau é o resultado de um período de transição polimórfica da conformação de uma forma cristalina menos estável para uma mais estável (MARTY, MARANGONI, 2009; DEWETTINCK *et al.*, 2004). Estudos de McGauley e Marangoni (2002) levantaram a isoterma de cristalização da manteiga de cacau à temperatura de 17,5°C, na qual

também se visualiza uma curva com duas etapas, indicando o crescimento das formas polimórficas α e β' e a transição entre estas duas formas.

A constatação de que a adição de monoestearato de sorbitana em manteiga de cacau tende a eliminar o *plateau* assim como também diminuir o período de indução da cristalização indica que a transição polimórfica foi afetada. Contrariamente, a adição de monooleato de sorbitana em manteiga de cacau intensificou a formação mais definida do *plateau*, reflexo de um atraso na transição polimórfica, que também pode ser relacionada com o retardamento na indução da cristalização inicial da manteiga de cacau.

4.3.4 Consistência

A consistência é um importante parâmetro sensorial e tecnológico utilizado na seleção de sistemas de gorduras para aplicações específicas em produtos alimentícios. Mudanças na textura do alimento perceptíveis aos consumidores podem afetar drasticamente a aceitação e a preferência destes pelo produto.

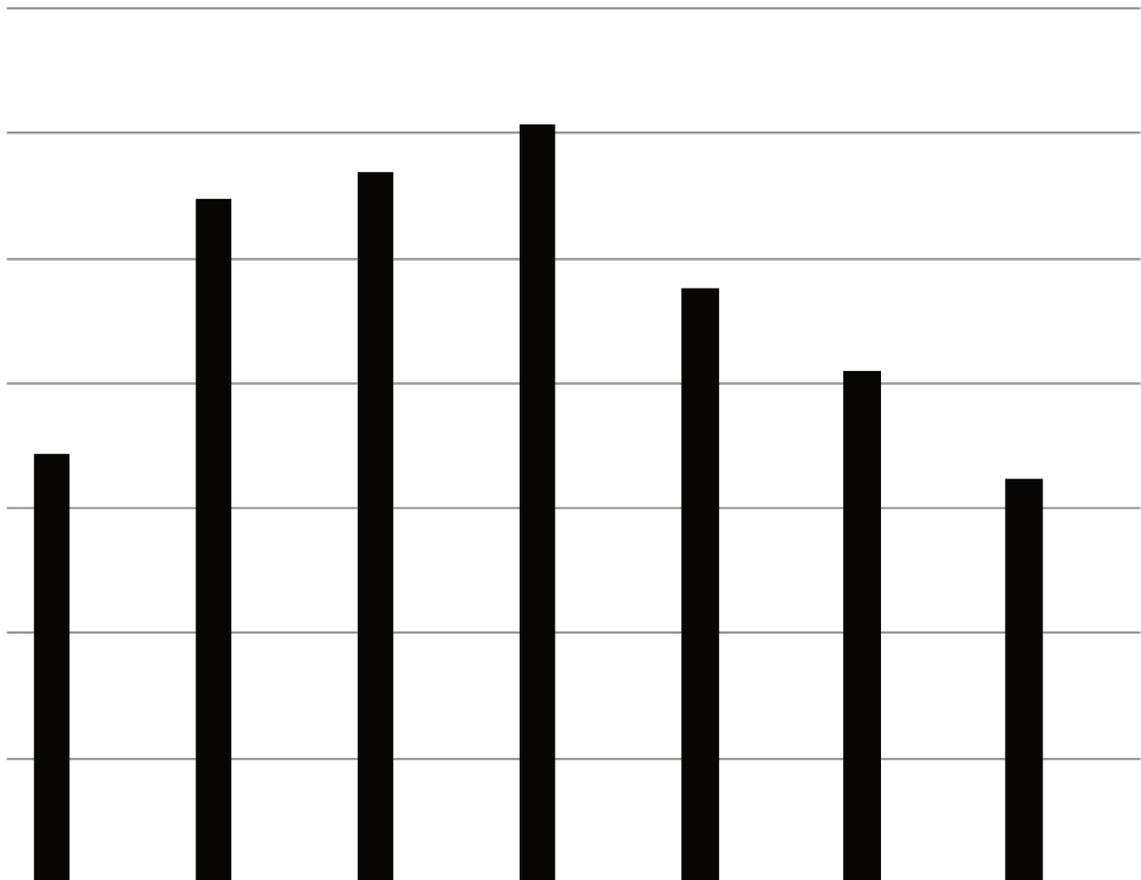
A consistência, relacionada com o valor de *yield value* (YV), para a manteiga de cacau e manteiga de cacau adicionada dos emulsificantes SMS e SMO em três diferentes concentrações e avaliadas a 10, 15 e 20°C, é apresentada na Figura 4.9. As leituras de consistência realizadas nas temperaturas de 25, 30 e 35°C não foram apresentadas na Figura 4.9 pois não apresentaram diferenças relevantes em seus valores para as amostras avaliadas. Na temperatura de 25°C, os valores de YV foram ao redor de 10000 g_F/cm², enquanto que nas duas temperaturas superiores - 30 e 35°C - os valores de YV aproximaram-se de zero para todas as amostras.

Considerando os resultados de YV apresentados na Figura 4.9, conforme esperado, o *yield value* nitidamente diminui com o aumento da temperatura devido ao contínuo processo de fusão dos cristais de gordura sob condições de aquecimento, ocasionando a formação de uma rede cristalina mais fraca (ROUSSEAU, HILL, MARANGONI, 1996). De acordo com Haighton (1959), margarinas e *shortenings* são considerados como gorduras muito duras se apresentarem YV maior do que 1500 g_F/cm². Os resultados mostrados na Figura 4.9 indicam que as amostras apresentaram valores de *yield value* de 24000 até 60000 g_F/cm² nas condições estudadas, indicando uma estrutura muito mais dura se comparada com margarinas e *shortenings*.

À 20°C, as amostras não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) na consistência, com valores de YV variando entre 24000 e 29000 g_F/cm². Este resultado sugere que nesta temperatura, as

amostras alcançam a mesma característica de dureza, que está associada à densidade de empacotamento de suas redes cristalinas.

À 10 e 15°C, todas as amostras apresentaram maior dureza do que a 20°C e com o aumento da adição do SMS em manteiga de cacau obteve-se valores maiores de YV. Contudo, uma tendência oposta ao aumento dos valores de consistência é encontrada ao dobrar ou triplicar a quantidade de SMO adicionada na manteiga de cacau. Uma comparação estatística da manteiga de cacau pura com as amostras contendo 1,0 e 1,5% de adição de SMO em MC indicou que as mesmas apresentam valores similares de YV à 10 e 15°C (Figura 4.9). Contrariamente, em particular na temperatura de 10°C, a adição de 0,5% de SMO revelou um aumento significativo no YV se comparado com o da manteiga de cacau pura, como também observado para as amostras adicionadas de SMS.



Mesmas letras para mesma temperatura indicam que não há diferença entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 4.9. Yield value (YV), em g/cm^2 , da manteiga de cacau pura e de misturas com SMS e SMO avaliado a 10, 15 e 20°C (para nomenclatura, vide Tabela 4.3).

Em outro estudo do mesmo grupo de pesquisa, a adição de 5% de óleo de soja totalmente hidrogenado (*hardfat* de soja) em manteiga de cacau alcançou o valor máximo de *yield value* de 50000 g_F/cm² na temperatura de 10°C (RIBEIRO, BASSO, KIECKBUSCH, 2013) – consistência menor do que a obtida com a adição de apenas 0,5% de monoestearato de sorbitana (Figura 4.9). Esta considerável diferença na quantidade de aditivo utilizado evidencia o SMS como um forte agente estruturante na modificação da cristalização da manteiga de cacau e sugere que um mecanismo de interação específico provavelmente deve estar envolvido.

4.3.5 Microestrutura

As imagens obtidas da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada dos emulsificantes SMS e SMO, por microscopia sob luz polarizada, após cristalização estática durante 24 horas à 17,5°C estão apresentadas na Figura 4.10.

Uma comparação entre as imagens apresentadas na Figura 4.10 ressalta que a formação cristalina das amostras MCSMS apresenta maior uniformidade do que a de manteiga de cacau pura e de amostras MCSMO 1,0 e 1,5%. Dentre as amostras adicionadas do emulsificante SMO, a amostra MCSMO 0,5% apresenta um arranjo cristalino levemente mais homogêneo, porém, bastante diferente do aspecto observado nas amostras MCSMO 1,0 e 1,5% e manteiga de cacau pura. A estrutura cristalina mais homogênea observada na manteiga de cacau adicionada de SMS e na amostra MCSMO 0,5% indica a formação de uma rede cristalina mais coesa e com maior densidade de empacotamento, conduzindo a maiores valores de dureza (consistência) e assim, justifica os valores de *yield value* apresentados na Figura 4.9.

O valor do diâmetro cristalino médio (μm) e a porcentagem de área cristalizada das amostras são apresentados na Tabela 4.8. Os valores encontrados auxiliam a mensurar as conclusões prévias em relação à observação das micro-imagens (Figura 4.10). As três amostras adicionadas de SMS e a amostra adicionada de 0,5% de SMO em manteiga de cacau apresentaram a maior porcentagem de área cristalizada e são estatisticamente semelhantes entre si. Além disso, cada uma delas exibe dimensão e distribuição cristalina uniformes, fato confirmado pelo baixo valor do desvio padrão das medidas de diâmetro médio de cristal. Uma rede cristalina mais organizada e densa pode ser desenvolvida através de partículas menores e de tamanho mais uniforme, o que explica os valores de consistência apresentados anteriormente.

Figura 4.10. Imagens obtidas por microscopia sob luz polarizada da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de SMS e SMO após 24 horas de cristalização isotérmica à 17,5°C (as barras na figura representam 100 µm).

Tabela 4.8. Diâmetro médio de cristal e área cristalizada da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de SMS e SMO, após 24h de cristalização isotérmica à 17,5°C.

Amostra	Diâmetro médio de cristal (µm)	Área cristalizada (%)
MC	2,47 ± 0,14 ^b	13,67 ± 0,76 ^b
MCSMO 0,5%	3,10 ± 0,08 ^{a, c}	21,42 ± 1,03 ^a
MCSMO 1,0%	3,56 ± 0,32 ^d	16,04 ± 1,37 ^{b, c}
MCSMO 1,5%	3,44 ± 0,20 ^{c, d}	15,81 ± 0,97 ^b
MCSMS 0,5%	2,79 ± 0,05 ^{a, b}	20,21 ± 0,78 ^a
MCSMS 1,0%	3,03 ± 0,09 ^a	19,27 ± 1,26 ^{a, c}
MCSMS 1,5%	2,87 ± 0,06 ^{a, b}	19,29 ± 1,31 ^{a, c}

Mesmas letras na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

4.3.6 Polimorfismo

Através da técnica de difração de Raios-X pode-se investigar o tipo de forma cristalina predominantemente apresentada pelas gorduras. No caso da cristalização de manteiga de cacau sob condições estáticas de cristalização em temperatura próxima à 20°C, a Forma β somente será formada se existir a presença da memória cristalina da manteiga de cacau. Nas demais condições, polimorfos com temperatura de fusão menor serão desenvolvidos (SCHENCK, PESCHAR, 2004).

A Figura 4.11 apresenta o difratograma de Raios-X das amostras de manteiga de cacau, SMS e SMO puros, armazenados à temperatura ambiente, sem prévio tratamento de cristalização. Pode-se notar que o emulsificante SMO apresenta-se amorfo enquanto que o SMS apresenta apenas um pico a 21,5°. Já a manteiga de cacau, como esperado, apresenta 5 picos nos valores de 2θ de aproximadamente 19,4; 22,3; 22,9; 23,6 e 24,1°, sendo o primeiro deles o pico de maior intensidade. Desta maneira, apresenta o polimorfismo típico relatado na literatura (SCHENCK, PESCHAR, 2004) para manteiga de cacau sob condições estáticas de cristalização à temperatura entre 20 e 25°C, após períodos superiores a 3 dias, isto é, a Forma $\beta(V)$.

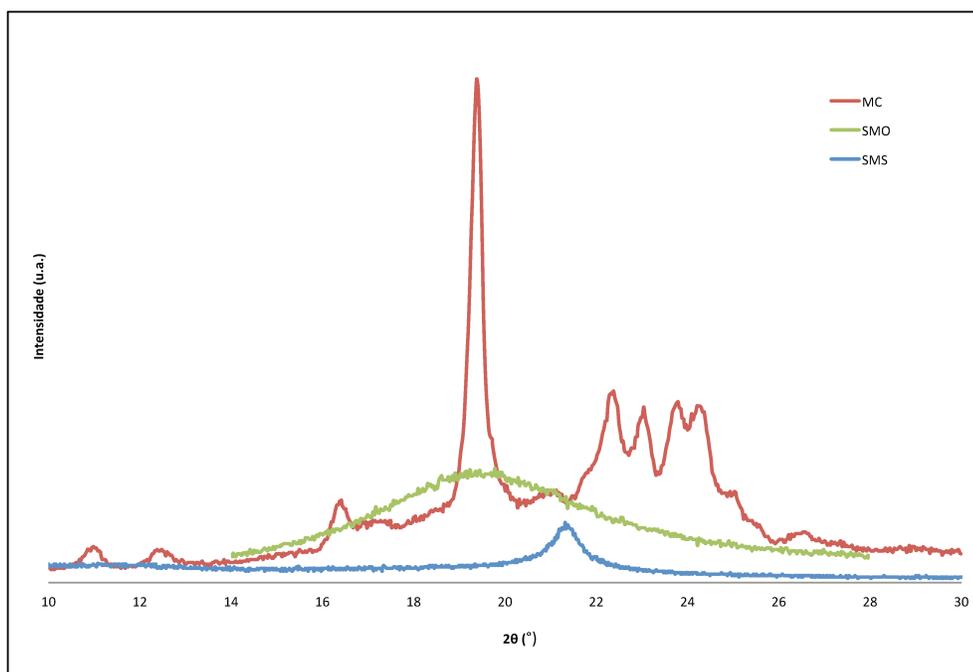


Figura 4.11. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau e dos emulsificantes SMS e SMO puros à temperatura ambiente.

As formas cristalinas e também as possíveis transições polimórficas de amostras de manteiga de cacau pura e misturas adicionadas de SMS e SMO nas três diferentes concentrações (0,5; 1,0 e 1,5%

m/m) foram avaliadas com o decorrer do tempo à temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). A manteiga de cacau pura e suas misturas foram inicialmente fundidas e armazenadas em temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) para posterior monitoramento polimórfico nos tempos de 10, 25, 40, 60, 90 e 180 dias após preparo inicial.

Na Figura 4.12, estão apresentados os difratogramas de Raios-X determinados após 10 dias de cristalização à temperatura ambiente das amostras de manteiga de cacau e misturas desta com 0,5% de SMS e 0,5% de SMO. Os difratogramas de Raios-X das amostras com adições de 1,0 e 1,5% de SMS e SMO, separadamente, são apresentados nas Figuras C.1 e C.2 (Apêndice C).

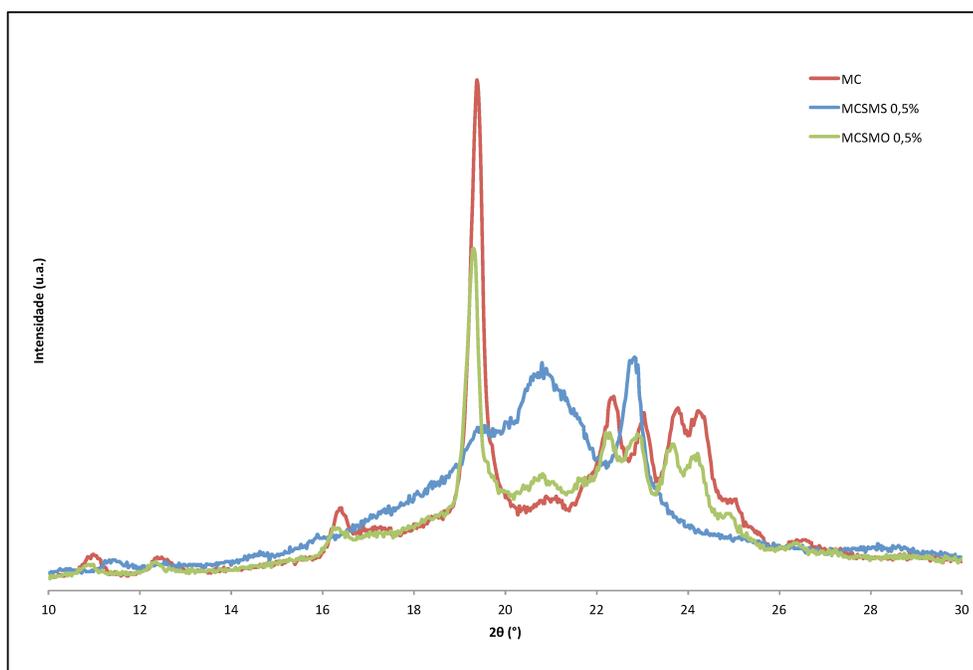


Figura 4.12. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 0,5% de SMS e de SMO após 10 dias de cristalização à temperatura ambiente.

A amostra de manteiga de cacau adicionada de 0,5% de SMO não teve seu polimorfismo alterado em relação à manteiga de cacau pura e apresentou a Forma V. Contudo, a amostra adicionada de 0,5% de SMS teve grande alteração se comparada à forma cristalina da manteiga de cacau sem emulsificantes, apresentando provavelmente a Forma menos estável γ ou Forma I. A adição de 1,0% de SMS em manteiga de cacau proporcionou este mesmo resultado (Apêndice C, Figura C.1). Já o difratograma referente à adição de 1,5% de SMS após 10 dias de cristalização (Apêndice C, Figura C.2), apresenta forma cristalina similar a manteiga de cacau pura, provavelmente pelo fato da maior concentração de SMS favorecer o desenvolvimento mais rápido da forma cristalina desejável.

Após 25 dias de cristalização à temperatura ambiente, as amostras com 0,5% (Figura 4.13) e 1,0% (Apêndice C, Figura C.3) de SMS também alcançaram a forma cristalina observada com a manteiga de cacau pura e demais amostras avaliadas. Esses resultados sugerem que o SMS em algumas concentrações altera o início do desenvolvimento polimórfico da manteiga de cacau, como já havia sido inferido na análise das isotermas de cristalização por RMN. As diferenças polimórficas encontradas com as adições de 0,5% e 1,0% frente à adição de 1,5% de SMS devem ser melhor investigadas, possivelmente sob outras condições de estabilização inicial da temperatura para posterior avaliação por Difração de Raios-X.

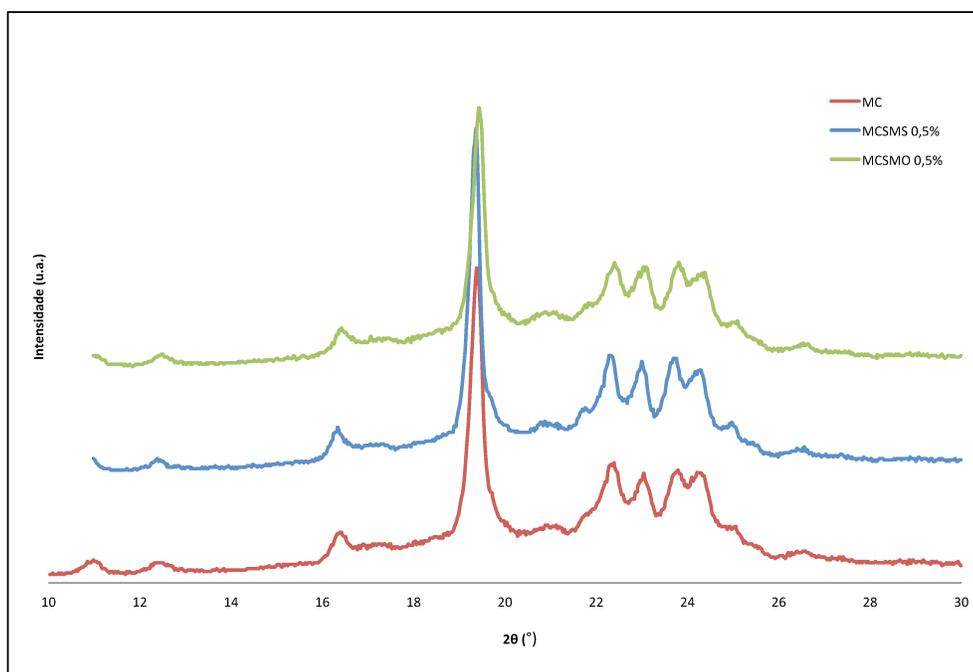


Figura 4.13. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 0,5% de SMS e de SMO após 25 dias de cristalização à temperatura ambiente.

Após 180 dias, as amostras com adição de 0,5; 1,0 e 1,5% dos emulsificantes SMS e SMO começaram a apresentar transição do polimorfismo V para o VI, assim como observado na manteiga de cacau pura. As amostras MCSMO 0,5 e 1,5% apresentaram um perfil do difratograma mais próximo ao do polimorfismo VI se comparadas com as demais amostras nas Figuras 4.14 e 4.16. Porém, no caso da adição de 1,0% dos emulsificantes (Figura 4.15), a amostra MCSMS 1,0% é a que apresenta o perfil mais próximo ao do polimorfismo VI.

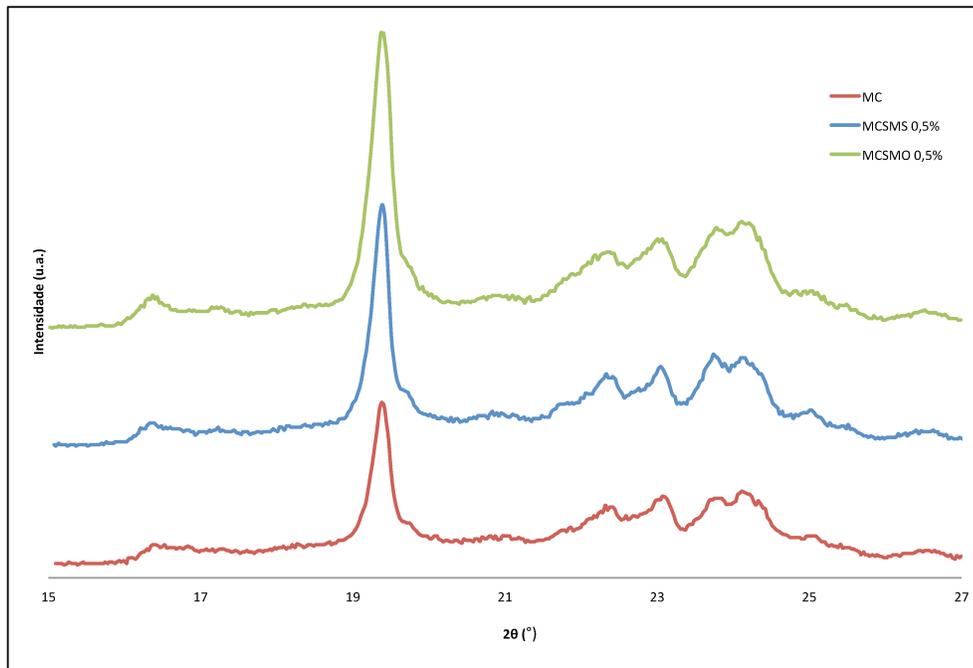


Figura 4.14. Difratoograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 0,5% de SMS e de SMO após 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

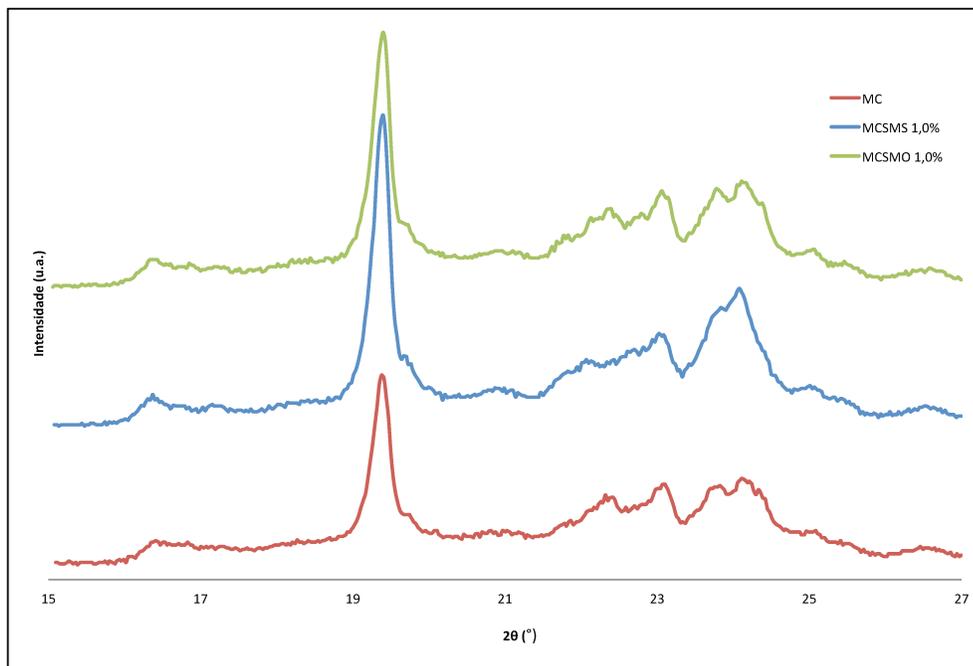


Figura 4.15. Difratoograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 1,0% de SMS e de SMO após 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

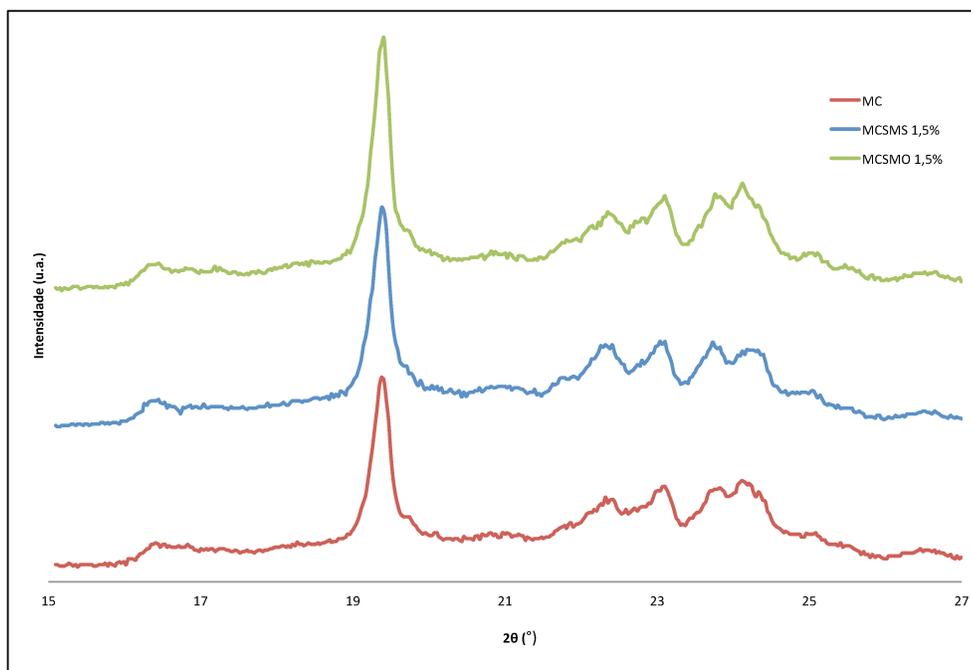


Figura 4.16. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 1,5% de SMS e de SMO após 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

As Figuras 4.17, 4.18 e 4.19 possibilitam o acompanhamento com o decorrer do tempo da transição polimórfica ocorrida, respectivamente, pela manteiga de cacau sem adição de emulsificantes e pelas amostras adicionadas de 0,5% de SMS e de 0,5% de SMO em manteiga de cacau.

Observa-se nas Figuras 4.17 a 4.19 a mesma tendência constatada nas avaliações do teor de sólidos e das isotermas de cristalização: a adição de monooleato não altera relevantemente as características de cristalização da manteiga de cacau; a adição de monoestearato de sorbitana, ao contrário, induz transformações mais acentuadas nas características da manteiga de cacau mesmo a baixas concentrações, como é o caso da adição de 0,5% deste emulsificante.

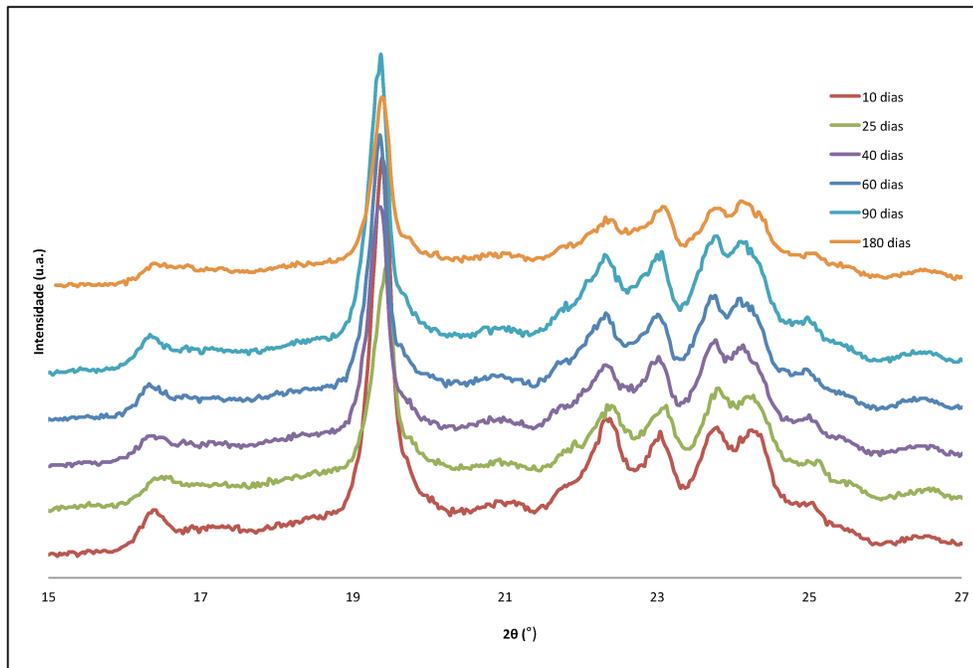


Figura 4.17. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau pura após 10, 25, 40, 60, 90 e 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

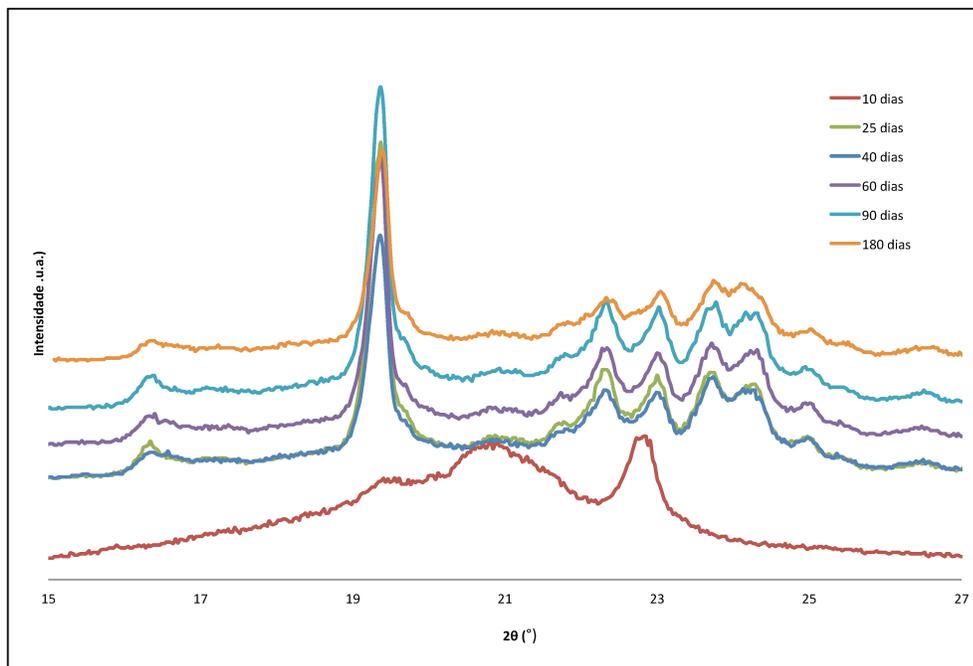


Figura 4.18. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau adicionada de 0,5% de SMS após 10, 25, 40, 60, 90 e 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

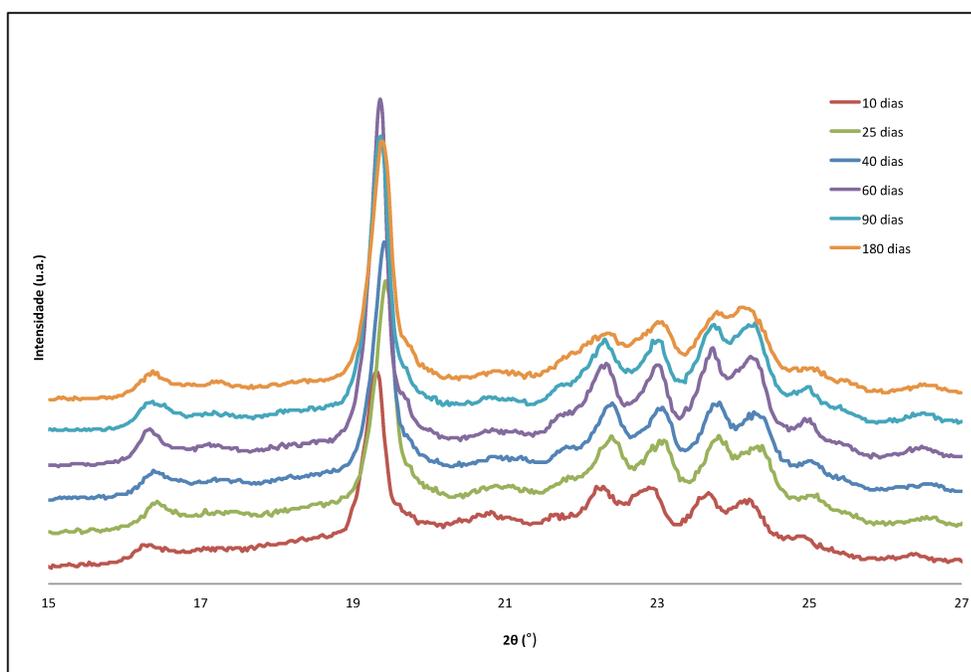


Figura 4.19. Difratograma de Raios-X da manteiga de cacau adicionada de 0,5% de SMO após 10, 25, 40, 60, 90 e 180 dias de cristalização à temperatura ambiente.

4.3.7 Sugestão de mecanismo de atuação do SMS em manteiga de cacau

A literatura sugere diversos possíveis mecanismos que auxiliam a explicar e compreender os efeitos previamente relatados da adição de monoestearato de sorbitana na cristalização da manteiga de cacau.

Uma das explicações mais aceitas sobre o efeito de emulsificantes na modificação da cristalização de gordura é a co-cristalização que pode ocorrer devido à similaridade estrutural entre o emulsificante e os triacilgliceróis da matriz lipídica (LONCHAMPT, HARTEL, 2004). Como os triacilgliceróis principais da manteiga de cacau são formados pelos ácidos graxos palmítico, oleico e esteárico, emulsificantes contendo estes ácidos graxos, como monoestearato e monooleato de sorbitana, poderiam ser considerados como agentes modificadores da cristalização da manteiga de cacau devido a sua similaridade molecular (BRICKNELL, HARTEL, 1998; SMITH et al., 2011). Contudo, no presente estudo, os emulsificantes monooleato de sorbitana e monoestearato de sorbitana exibiram fortes diferenças em sua habilidade de estruturação e, por isso, este mecanismo parece não explicar os eventos relatados para os efeitos observados com a adição destes dois emulsificantes.

Uma interpretação alternativa para a modificação de comportamento da cristalização observado na manteiga de cacau adicionada de SMS considera a formação de uma rede cristalina específica. O

monoestearato de sorbitana é descrito como sendo capaz de formar um gel quando dissolvido/disperso em alguns solventes orgânicos como hexadecano, cis-decalina, trans-decalina, miristato de isopropila e também em alguns óleos vegetais como óleo de algodão, óleo de soja, óleo de gergelim, óleo de milho e azeite de oliva (MURDAN, GREGORIADIS, FLORENCE, 1999; CO, MARANGONI, 2012). A adição de 10% (m/v) de SMS em óleo de milho foi estudada por Murdan, Gregoriadis e Florence (1999). Esta mistura foi caracterizada como uma solução opaca na temperatura de 60°C, sugerindo a ocorrência de fraca atração entre o SMS e o solvente orgânico. Com a diminuição da temperatura até a temperatura ambiente, a solubilidade do SMS também diminuiu, formando a estrutura de um gel. O gel opaco formado foi posteriormente submetido a diferentes avaliações por microscopia óptica, calorimetria diferencial de varredura e difração de Raios-X. Os autores descobriram que o monoestearato de sorbitana torna-se menos solúvel na solução orgânica quando a temperatura da solução diminui. As forças repulsivas devido à considerável insolubilidade dos componentes da mistura, forçam as moléculas de SMS a se organizarem em túbulos em forma de haste (*rod-shaped tubules*) que se agregam, formando uma rede tridimensional na qual o solvente é aprisionado (MURDAN, GREGORIADIS, FLORENCE, 1999). A rede de SMS comporta-se como uma moldura que suporta e protege o sistema lipídico e dentro da qual a fase de gordura amorfa pode ser imobilizada. Na presente pesquisa, também se constatou a formação de uma solução opaca à 60°C, sugerindo que a manteiga de cacau e o SMS também apresentam certo grau de insolubilidade, favorecendo as características de auto-montagem (*self-assembly*) atribuídas ao SMS, formando-se uma estrutura específica. Assim, sugere-se que a adição de SMS modifica significativamente a microestrutura da manteiga de cacau através desse mecanismo peculiar, como evidenciado pelos resultados apresentados.

4.4 Obtenção de estearina de manteiga de cacau através de fracionamento por solvente

Conforme já apresentado na Figura 3.1, neste trabalho foram consideradas duas possíveis alternativas paralelas para a modificação do comportamento de cristalização da manteiga de cacau: a adição de monoésteres de sorbitana - relatada nos dois itens anteriores - e também a adição de estearina da manteiga de cacau. A adição da estearina de MC requer uma etapa prévia - que será abordada no presente item - referente ao estudo e à obtenção desta fração através do fracionamento da manteiga de cacau pura com utilização de solvente.

Amostras de 50g de manteiga de cacau, pertencentes ao mesmo lote utilizado nas demais etapas deste projeto, foram submetidas a diferentes ensaios de fracionamento, variando-se a quantidade relativa de acetona (1:5 ou 1:7 de MC:acetona, em m/v) adicionada ao processo e a temperatura de cristalização

(17, 18, 20 e 22°C). As condições escolhidas para a realização dos diferentes ensaios foram definidas por meio de ensaios preliminares. A designação dos produtos obtidos em função dos respectivos parâmetros é apresentada na Tabela 4.9. Outros parâmetros do processo foram mencionados anteriormente no Item 3.2.

Tabela 4.9. Condições utilizadas nos quatro diferentes ensaios de fracionamento da manteiga de cacau e identificação das frações obtidas.

Ensaio	Relação de amostra:solvente (massa/volume)	Temperatura de cristalização (°C)	Denominação da estearina	Denominação da oleina
#1	1:5 (50g/250mL)	18	E18	O18
#2	1:5 (50g/250mL)	20	E20	O20
#3	1:5 (50g/250mL)	22	E22	O22
#4	1:7 (50g/350mL)	17	E17	O17

Para determinar as condições de obtenção de uma fração de estearina com maior teor de triacilgliceróis do tipo SUS (monoinsaturado simétrico), a composição em triacilgliceróis de cada ensaio foi avaliada e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 4.10. Na Figura 4.20 são apresentados os teores dos triacilgliceróis principais da manteiga de cacau (SOS, POS, POP) nas amostras fracionadas (estearinas e oleinas).

Pode-se observar que o triacilglicerol POP ficou preferencialmente retido na fração oleina em todos os ensaios realizados devido ao seu menor peso molecular. Já os triacilgliceróis POS e SOS foram encontrados preferencialmente na fração estearina. O Ensaio #3 apresentou menor diferença entre a composição de triacilgliceróis da oleina e da estearina, indicando pior separação do processo de fracionamento na temperatura de 22°C. Já o Ensaio #4, apresentou elevada distinção entre a composição das frações obtidas e conseqüentemente mostrou serem estas condições de fracionamento (17°C de temperatura de cristalização e relação amostra: solvente de 1:7, m/v) favoráveis à separação de TAGs e a obtenção de uma estearina rica em SUS. Este fato pode ser devido a maior dispersão dos triacilgliceróis na solução com maior volume de solvente, facilitando a separação dos triacilgliceróis (HASHIMOTO *et al.*, 2001).

Tabela 4.10. Composição em triacilgliceróis da manteiga de cacau pura e de cada estearina (E) e oleína (O) obtidas nos diferentes ensaios de fracionamento.

Triacilgliceróis (%)	Manteiga de cacau pura	Frações da manteiga de cacau							
		Ensaio #1		Ensaio #2		Ensaio #3		Ensaio #4	
		E18	O18	E20	O20	E22	O22	E17	O17
PPS	0,7	0,7	0,0	0,6	0,3	0,6	0,6	0,6	0,0
POP	19,6	17,8	31,1	15,0	29,8	17,7	20,6	17,8	29,7
PLP	2,0	1,6	6,3	1,1	4,0	1,7	2,2	1,1	7,3
PSS	0,5	0,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,4	0,4	0,7
POS	40,3	43,3	23,3	44,0	32,4	41,6	40,3	45,0	20,8
POO	4,2	2,7	12,0	2,3	8,0	3,5	5,0	1,7	13,3
PLS	3,3	2,3	7,4	1,9	5,8	2,7	3,5	1,7	8,1
PLO	0,2	0,3	1,2	0,4	1,1	0,6	0,6	0,1	1,4
SOS	22,7	25,1	14,6	29,3	14,4	24,4	18,9	26,9	11,9
SOO	4,1	3,0	2,9	2,6	3,1	3,9	5,1	2,1	4,0
SLO/OOO	1,7	1,8	1,2	1,4	1,2	2,2	2,5	1,5	2,9
SOA	0,9	1,0	0,0	1,2	0,0	1,0	0,3	1,1	0,0
SSS	1,2	1,1	0,0	0,8	0,3	0,6	1,0	0,9	0,7
SUS/SSU	87,8	90,1	82,6	91,3	86,4	88,2	85,5	92,5	77,7
SUU/UUU	11,0	8,8	17,4	7,9	13,3	11,2	13,5	6,6	21,6
POP/POS/SOS	82,6	86,2	69,0	88,3	76,6	83,7	79,8	89,7	62,4

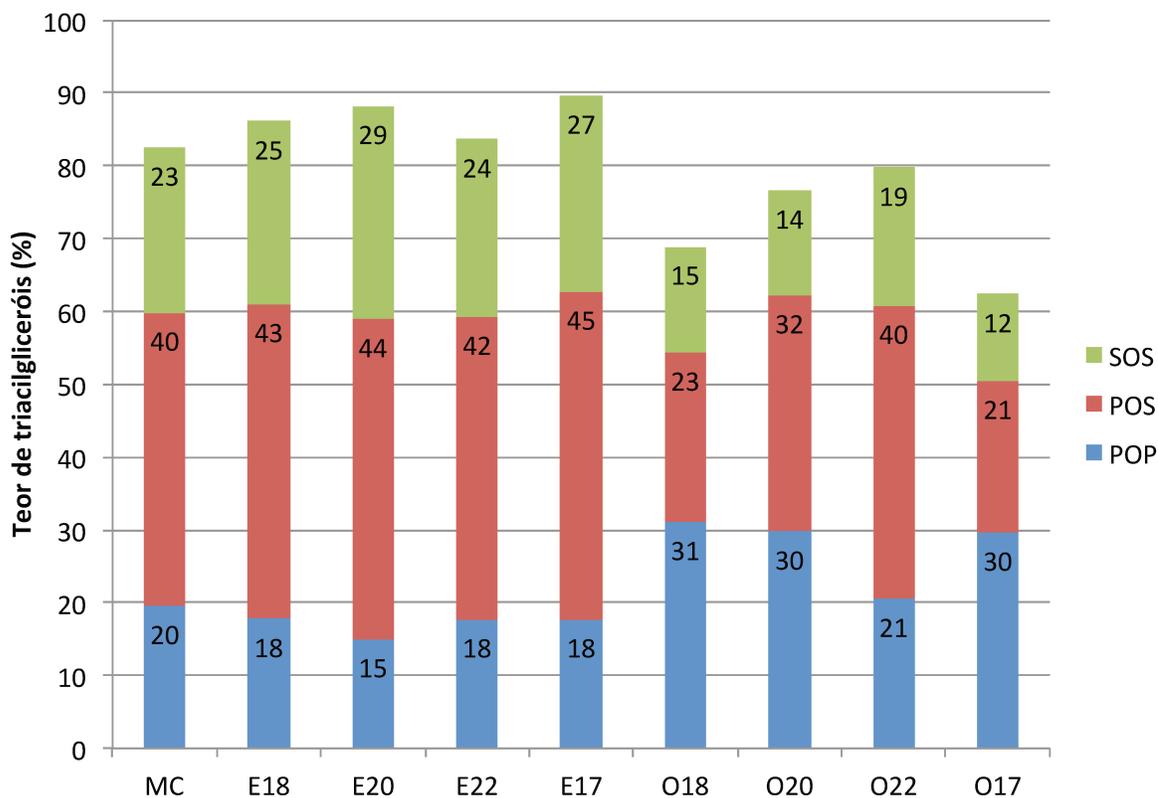


Figura 4.20. Composição em triacilgliceróis SUS (SOS, POS e POP) na manteiga de cacau (MC) e nas estearinas (E) e oleínas (O) obtidas nos 4 ensaios de fracionamento.

Nota-se que todas as frações estearina obtidas apresentaram maior quantidade total de triacilgliceróis monoinsaturados simétricos, isto é, a soma de POP/POS/SOS, se comparada à manteiga de cacau pura, que contém 82,6%. Portanto, em ordem crescente de obtenção de estearina de manteiga de cacau rica em SUS têm-se os Ensaios: 3, 1, 2 e 4, os quais foram realizados nas temperaturas 22, 18, 20 e 17°C, respectivamente.

Alguns estudos demonstraram que o triacilglicerol SOS tem a capacidade de iniciar a cristalização da manteiga de cacau na Forma β , que é a forma desejável para chocolates (SCHENCK, PESCHAR, 2004; FOUBERT *et al.*, 2004; HACHIYA, KOYANO, SATO, 1989). Segundo Shukla (2005), a composição da manteiga de cacau brasileira apresenta em sua composição baixo teor de SOS se comparada a outras espécies e, conseqüentemente, baixa dureza. Assim, considerando o SOS como uma espécie triacilglicerólica de grande importância na cristalização e consistência da manteiga de cacau, pode-se observar pela Figura 4.20 que o processo de fracionamento da manteiga de cacau com acetona foi eficaz na separação deste

triacilglicerol, principalmente nas estearinas E20 e E17.

A etapa de separação/filtragem dos cristais da solução mostrou-se de extrema importância para a obtenção de uma estearina mais concentrada em SUS, uma vez que a eficiência do sistema e condições de temperatura da filtragem influenciam este processo. A temperatura do ambiente de filtragem deve ser controlada de maneira a possibilitar que a amostra que está sendo filtrada permaneça o mais próximo possível da temperatura utilizada na cristalização. Nos ensaios realizados nesta pesquisa, observou-se que houve pós-cristalização na etapa de separação sob temperatura ambiente abaixo da temperatura de cristalização utilizada e, também ocorreu o inverso, isto é, fusão de parte dos cristais em temperatura ambiente de filtragem superior à temperatura do processo do fracionamento. Assim, recomenda-se que a etapa de filtragem seja realizada sob vácuo, de maneira rápida mas controlada para não destruir a estrutura cristalina e, principalmente, com um controle de temperatura do ambiente de filtragem e do filtro.

Considerando-se a massa inicial de manteiga de cacau utilizada em cada ensaio de fracionamento (50g) e as quantidades de estearina e oleina obtidas após a evaporação do solvente, o rendimento referente à obtenção de cada fração pode ser calculado. As quantidades obtidas, em %, de estearina e oleina em cada ensaio de fracionamento estão apresentadas na Tabela 4.11.

Tabela 4.11. Rendimentos obtidos nos diferentes ensaios de fracionamento.

Ensaio	Rendimento mássico (%)	
	Estearina	Oleina
#1	83,4	16,6
#2	75,7	24,3
#3	70,3	29,7
#4	80,1	19,9

Os ensaios que apresentaram maiores rendimentos em relação à obtenção de estearina foram os Ensaios #1 e #4, realizados à 18 e 17°C, respectivamente. Este resultado pode ser associado a baixa temperatura de cristalização dos Ensaios #1 e #4 se comparadas à temperatura dos outros dois ensaios (Ensaios #2 e #3), uma vez que, quanto menor a temperatura de cristalização empregada, maior será a quantidade de cristais formados.

Para avaliar as diferenças em relação à cristalização das amostras de estearina e oleína obtidas nos diferentes ensaios de fracionamento, foram também determinados a curva de sólidos, a isoterma de cristalização e o ponto de fusão, e os resultados estão apresentados nas Figuras 4.21 e 4.22, e Tabela 4.12, respectivamente.

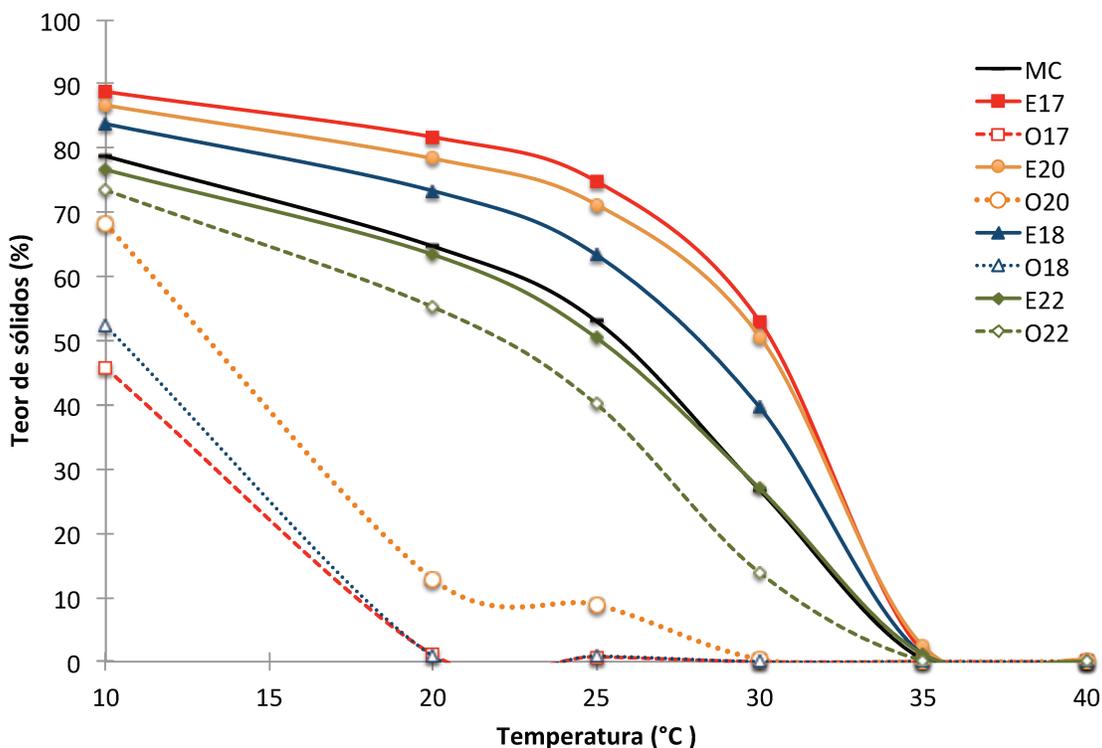


Figura 4.21. Curva de sólidos (%) da manteiga de cacau pura (MC) e de estearinas e oleínas obtidas nos diferentes ensaios de fracionamento em função da temperatura (°C).

A curva de sólidos (Figura 4.21) das diferentes frações obtidas em comparação com a manteiga de cacau, mostra que as condições dos Ensaios #1, #2 e #4 separaram eficientemente os triacilgliceróis contidos na amostra inicial, apresentando características distintas entre cada conjunto oleína e estearina obtido (E17/O17, E18/O18 e E20/O20). As condições utilizadas no Ensaio #3 mostraram-se ineficientes na separação da manteiga de cacau, uma vez que apresentam curvas de sólidos semelhantes, tanto para a estearina (E22), como para a oleína (O22). Já as condições de fracionamento utilizadas no Ensaio #4, que resultou na fração estearina com maior quantidade de SUS, originaram frações estearina e oleína (E17 e O17, respectivamente) com maior diferenciação em termos de teor de sólidos, o que confirma este

ensaio como o de maior eficiência de separação no fracionamento da manteiga de cacau. Como exemplo da separação promovida pelo Ensaio #4, observa-se que a E17 apresentou aproximadamente 82% de gordura sólida a 20°C, enquanto que a O17 apresentou apenas 1%, ou seja, pode ser considerada totalmente líquida a esta temperatura. O teor de sólidos da E17 também diferenciou-se consideravelmente da manteiga de cacau pura, a qual apresentou 65% de sólidos a 20°C, ocasionando uma diferença de 17% de conteúdo de gordura sólida entre estas duas gorduras nesta temperatura.

A temperatura de fusão das frações, calculada com base no teor de sólidos de 4%, está apresentada na Tabela 4.12. Nota-se que todas as frações estearina obtidas apresentam valores aproximados da temperatura de fusão da manteiga de cacau pura (aproximadamente 34°C). Desta maneira, estas estearinas podem ser utilizadas em produtos que necessitam de rápido derretimento à temperatura corporal, como é o caso da manteiga de cacau em chocolates. A temperatura de fusão das oleinas foi mais baixa, sendo as oleinas O17 e O18, referentes aos Ensaios #4 e #1, respectivamente, as que apresentaram os valores mais baixos de temperatura (aproximadamente 19°C), o que demonstra novamente a eficiência de separação destes ensaios.

Tabela 4.12. Temperatura de fusão (°C) da manteiga de cacau pura (MC) e das estearinas (E) e oleinas (O) obtidas nos diferentes ensaios de fracionamento.

Ensaio	Amostra	Temperatura de fusão (°C)
	MC	34
#1	E 18	34
	O 18	19
#2	E 20	34
	O 20	27
#3	E 22	34
	O 22	33
#4	E 17	34
	O 17	19

A Figura 4.22 apresenta o teor de sólidos determinado durante a cristalização isotérmica à 17,5°C das amostras de estearina e manteiga de cacau pura. As oleinas não foram incluídas nesta

avaliação pois se apresentam fundidas nesta condição, com exceção da oleína obtida no Ensaio #3, a qual possui características semelhantes à manteiga de cacau pura devido a ineficiência da separação. A isoterma de cristalização à 17,5°C confirma que as amostras de estearina E17 e E20 apresentaram teor de sólidos máximo superior ao da manteiga de cacau, com uma diferença de aproximadamente 12%. A curva para a amostra E22 apresentou teor de sólidos inferior ao da manteiga de cacau durante quase toda a cristalização isotérmica, confirmando a ineficiente separação no Ensaio #3, como já observado na composição em triacilglicerol e teor de sólidos em função da temperatura.

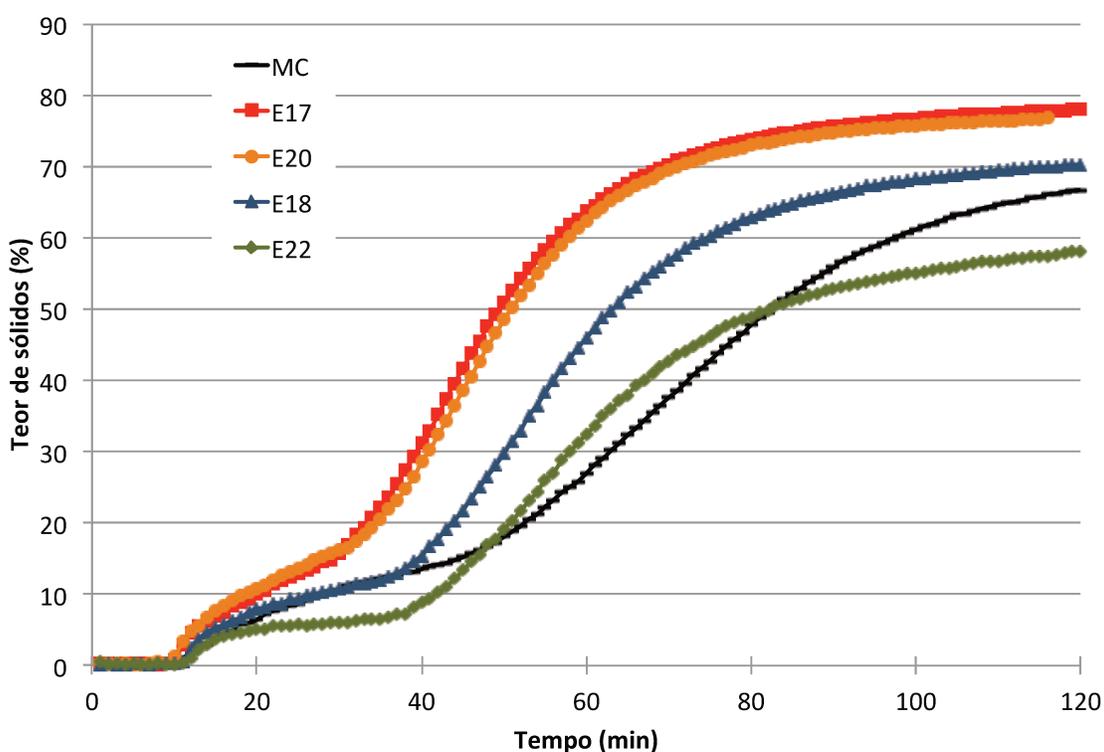


Figura 4.22. Isoterma de cristalização (% de sólidos) à 17,5°C da manteiga de cacau pura (MC) e das estearinas obtidas nos diferentes ensaios de fracionamento em função do tempo (min).

Uma avaliação geral dos resultados obtidos através da composição em triacilgliceróis, curva de sólidos, faixa de temperatura de fusão e isoterma de cristalização dos diferentes ensaios de fracionamento realizados com a manteiga de cacau utilizando acetona como solvente indicou que as condições do Ensaio #4 favoreceram a obtenção de uma fração de estearina rica em triacilgliceróis SUS. A fração estearina obtida neste ensaio, E17, apresentou aumento de

aproximadamente 7,1% de SUS em relação ao teor observado em manteiga de cacau pura, totalizando aproximadamente 90% de triacilgliceróis SOS, POS e POP.

A Figura 4.23 apresenta o evento de cristalização conforme registrado pelo DSC, da manteiga de cacau pura, da oleína e da estearina obtidas no Ensaio #4. Os eventos de cristalização para as frações obtidas nos Ensaio #1, #2 e #3 podem ser observados, respectivamente, nas Figuras D.1 a D.3 (Apêndice D). Pode-se notar que as três curvas na Figura 4.23 são distintas no que se refere a intensidade (altura) de pico, que é o valor associado à taxa de liberação de energia para a formação dos cristais, sendo a estearina E17 a que apresentou maior intensidade de pico, enquanto que a oleína O17 apresentou a menor intensidade. A temperatura inicial de cristalização da amostra E17 e a da manteiga de cacau pura apresentaram valores aproximadamente iguais a 20°C, enquanto que a amostra O17 apresentou valor próximo a 16°C, confirmando mais uma vez a eficiência de separação do Ensaio #4. Nota-se que o pico inicial da amostra de estearina apresenta maior intensidade do que na manteiga de cacau pura, podendo este pico ser associado ao maior teor de triacilgliceról SOS presente nesta amostra.

Figura 4.23. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau pura (MC), de estearina (E17) e de oleína (O17) obtidas no Ensaio #4.

Para avaliar a morfologia dos cristais das amostras de estearina e oleína obtidas com o Ensaio #4, foram adquiridas imagens por microscopia sob luz polarizada destas frações após cristalização estática durante 24 horas à 17,5°C e as micrografias comparadas com as da manteiga de cacau pura (Figura 4.24).

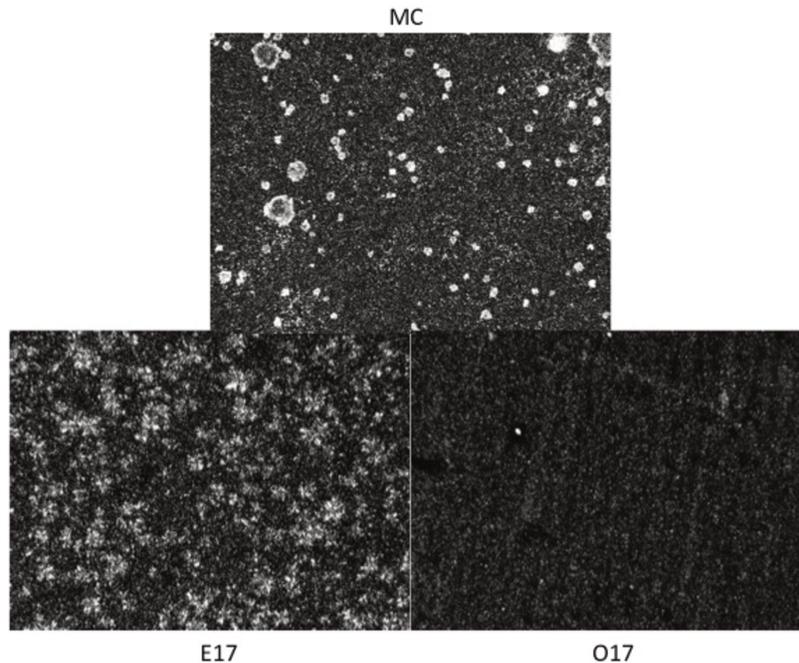


Figura 4.24. Imagens obtidas por microscopia sob luz polarizada da manteiga de cacau pura (MC), de estearina (E17) e de oleína (O17) obtidas no Ensaio #4 após 24 horas de cristalização isotérmica à 17,5°C.

Assumindo que a coloração branca nas imagens representa a gordura em sua forma cristalina, observa-se que a fração E17 possui maior área cristalizada dentre as amostras avaliadas e, opostamente, a fração O17 apresenta-se pouco cristalizada.

Após a avaliação comparativa destes resultados, a estearina mais rica em SUS, obtida pelo Ensaio #4, foi selecionada para aplicação como aditivo de cristalização na própria manteiga de cacau e também para a produção do chocolate amargo (Formulação 2). Para obter uma quantidade suficiente desta estearina, foram realizados 12 ensaios de fracionamento usando as condições do Ensaio #4. A Tabela 4.13 apresenta a composição em triacilgliceróis (em %) determinada para a mistura destas 12 frações estearina obtidas.

Tabela 4.13. Composição em triacilgliceróis (em %) da mistura de frações estearina de manteiga de cacau obtidas em fracionamento nas condições do Ensaio #4.

Triacilglicerol	%
PPS	0,5
POP	17,0
PLP	1,0
PSS	0,3
POS	44,7
POO	1,9
PLS/PLO	1,9
SOS	28,0
SOO	2,4
OOO/SLO	1,2
SOA	1,1

P – palmitato, S – estearato, O – oleato, L – linoleato, A – araquidato

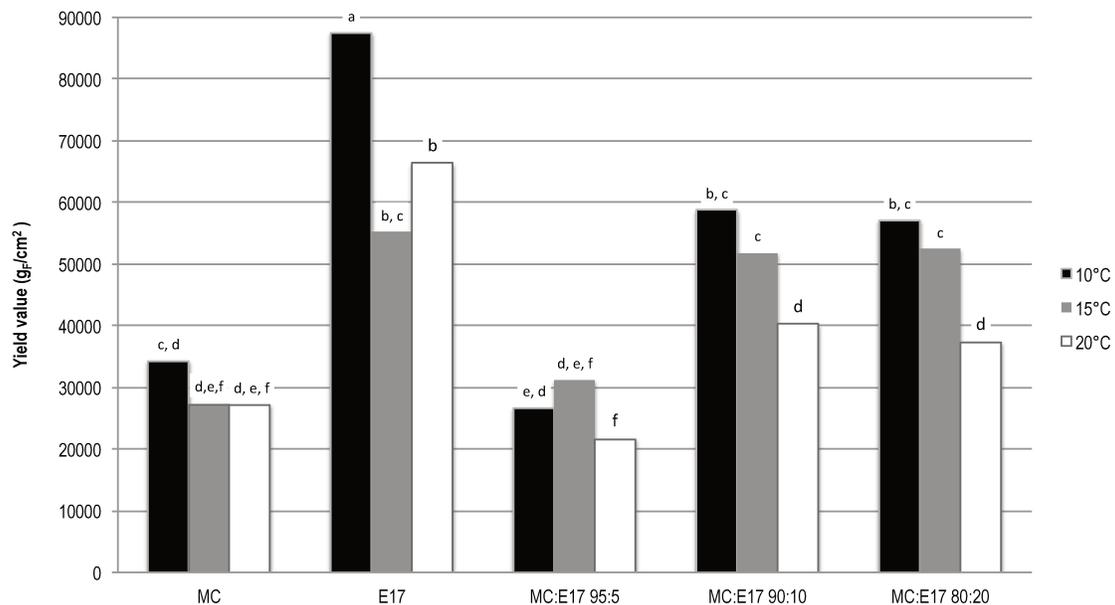
4.5 Cristalização da manteiga de cacau contendo estearina de manteiga de cacau

Como já mencionado no Item 4.1, a manteiga de cacau brasileira geralmente apresenta menor dureza dentre outras espécies provenientes sobretudo da Malásia, Sri Lanka e Nigéria, devido ao seu menor teor de triacilgliceróis monoinsaturados simétricos - principalmente o SOS. Assim, para avaliar os efeitos de maior teor de triacilgliceróis SUS na manteiga de cacau utilizada neste trabalho, a fração estearina obtida no fracionamento (Ensaio #4 citado no Item 4.4) foi adicionada nas seguintes proporções: 95:5, 90:10 e 80:20, de manteiga de cacau e estearina, respectivamente. A composição calculada através de um balanço de massas dos triacilgliceróis principais das amostras de manteiga de cacau adicionadas de sua estearina pode ser observada na Tabela 4.14, sendo que os valores de composição das amostras 100:0 e 0:100 (relação entre MC e E17) foram extraídos diretamente das Tabelas 4.2 e 4.13, respectivamente.

A presença de maiores teores de triacilgliceróis SUS favorece a resistência térmica da matéria-prima e, conseqüentemente, aumenta sua dureza. Assim, as 3 amostras de manteiga de cacau adicionadas de sua estearina foram avaliadas quanto a consistência. Os valores obtidos de *yield value* (YV) destas misturas são apresentados na Figura 4.25, assim como os da estearina e da manteiga de cacau puras.

Tabela 4.14. Composição (%) calculada dos triacilgliceróis principais das misturas de manteiga de cacau e de estearina (E17).

Relação entre manteiga de cacau e estearina (MC:E17)					
TAG (%)	100:0	95:5	90:10	80:20	0:100
POP	19,6	19,5	19,3	19,1	17,0
POS	40,3	40,5	40,7	41,2	44,7
SOS	22,7	23,0	23,2	23,8	28,0
Total	82,6	83,0	83,2	84,1	89,7



Mesmas letras para mesma temperatura indicam que não há diferença entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Figura 4.25. Yield value (g_F/cm^2) nas temperaturas de 10, 15 e 20°C da manteiga de cacau pura (MC) e de misturas com estearina.

Observa-se que a estearina pura obtida no fracionamento apresenta quase o triplo do valor de YV da manteiga de cacau pura, sendo essa diferença de 53700 g_F/cm^2 na temperatura de 10°C. Quanto às adições de estearina na manteiga de cacau, as amostras com relação 90:10 e 80:20 de manteiga de cacau e estearina apresentaram valores de *yield value* à 10°C de aproximadamente 58000 g_F/cm^2 , enquanto que a manteiga de cacau pura a esta temperatura

apresentou YV de aproximadamente 34000 g_F/cm². A amostra de manteiga de cacau com adição de 5% de estearina (MC:E17 95:5) não apresentou alteração significativa na consistência na três temperaturas avaliadas se comparada com a manteiga de cacau pura.

A Figura 4.26 apresenta os eventos de cristalização das misturas de manteiga de cacau e estearina nas proporções de 95:5, 90:10 e 80:20 e também da manteiga de cacau pura. Nota-se que estas pouco diferem entre si nesta avaliação. Apenas a intensidade do pico é ligeiramente alterada, sendo que as misturas apresentam altura de pico menor do que a MC pura.

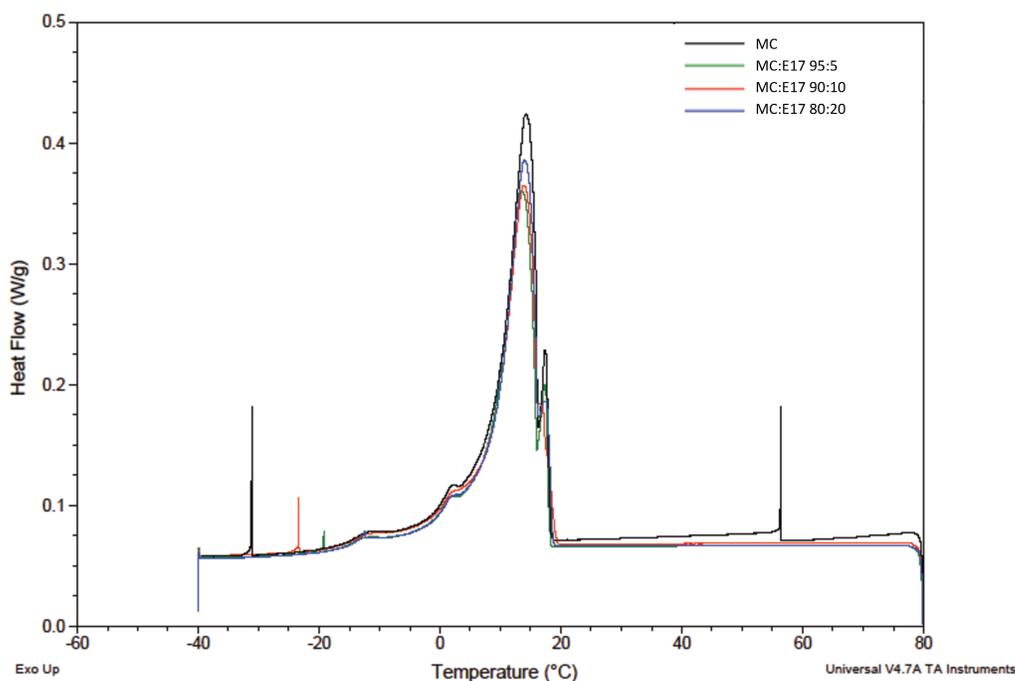


Figura 4.26. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau pura (MC) e de misturas com estearina.

As isotermas de cristalização à 17,5°C da manteiga de cacau pura, da estearina pura e de misturas estão apresentadas na Figura 4.27. As misturas contendo estearina de manteiga de cacau mostram comportamento de cristalização pelo RMN semelhante entre si, porém com uma diferença no período correspondente a 50 e 100 min de análise, no qual a amostra adicionada de 20% de estearina apresenta teores de sólidos ligeiramente superiores ao das outras misturas. Neste mesmo período observa-se que a manteiga de cacau pura apresenta teor de sólidos inferior a todas as misturas, sendo esta diferença mais acentuada entre a MC pura e a mistura com 20%

de estearina.

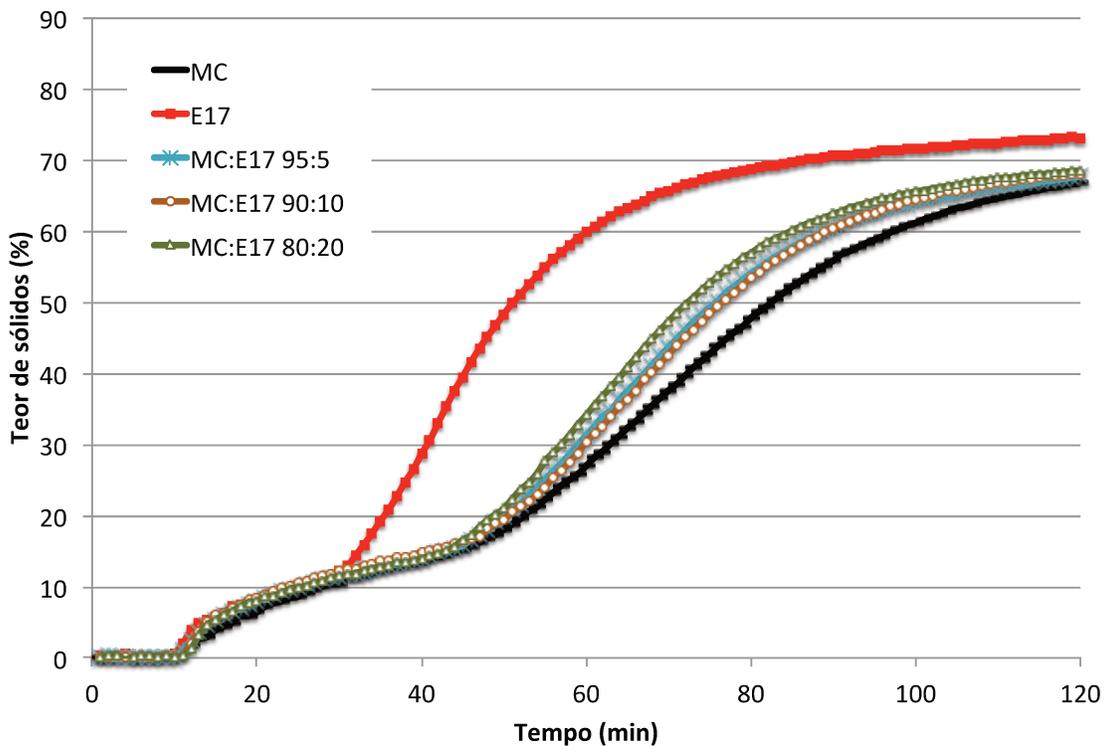


Figura 4.27. Isotherma de cristalização (% de sólidos) à 17,5°C da manteiga de cacau pura (MC) e de misturas com estearina em função do tempo (min).

Os valores de YV das misturas de manteiga de cacau com estearina nas proporções de 90:10 e de 80:20, apresentados na Figura 4.25, indicam que estas amostras não diferem estatisticamente nesta propriedade. Nas Figuras 4.26 e 4.27, as três misturas apresentam comportamento de cristalização semelhante entre si, o que dificulta a escolha da mistura mais adequada para os ensaios posteriores. A fim de avaliar a funcionalidade destas misturas na fabricação de chocolates, foram realizados ensaios da etapa de temperagem em mesa de mármore usando 300g de cada uma destas misturas de manteiga de cacau e estearina e assim como da matéria-prima pura (MC). Constatou-se, de maneira subjetiva, maior velocidade de temperagem, acentuada mudança de viscosidade e a possibilidade de utilizar temperatura de temperagem mais elevada com a amostra com proporção de 80:20 de manteiga de cacau e estearina. Assim, esta quantidade de estearina adicionada à manteiga de cacau (20% de estearina) foi selecionada para a produção de chocolate amargo.

4.6 Produção de chocolate amargo padrão e com adição de modificadores de cristalização selecionados

Os ensaios descritos e discutidos a partir do Item 4.1 até 4.5 sugeriram a investigação do uso de monoestearato de sorbitana e de estearina de manteiga de cacau como promissores modificadores da estruturação de chocolate do tipo amargo.

Após o estudo dos efeitos observados com as diferentes adições de monoésteres de sorbitana e de estearina da manteiga de cacau, duas formulações foram escolhidas para avaliação na produção de chocolate amargo. Assim, de acordo com as formulações apresentadas anteriormente na Tabela 3.1, monoestearato de sorbitana a 0,5% em relação à quantidade de gordura total presente na formulação e estearina da manteiga de cacau a 20%, também em relação à quantidade de gordura total da formulação, foram utilizados para produção de chocolate amargo. Uma formulação padrão de chocolate amargo - sem a adição desses modificadores de cristalização - também foi produzida e, por fim, as três diferentes formulações foram avaliadas quanto à inibição da formação do *fat bloom* durante o período de 90 dias, em duas diferentes condições de armazenamento. Foram adicionados também lecitina (0,3% m/m) e PGPR (0,2% m/m) nas três diferentes formulações, em concentrações de acordo com Stroppa (2011).

As condições de processo avaliadas durante a etapa de temperagem das três formulações de chocolate amargo foram as temperaturas de temperagem e de reaquecimento (determinadas por termopar conectado ao equipamento) e, também, o Índice de Temperagem Médio através de um termopímetro (Tabela 4.15). No processamento das três formulações de chocolate, foram moldadas apenas as massas de chocolate que apresentaram Índice de Temperagem entre 4,0 e 6,0 - faixa de valor aceitável para classificar uma massa de chocolate como adequadamente pré-cristalizada. Assim, foram realizados ensaios preliminares de temperagem - com condições iniciais de processamento conforme sugerido por Miyasaki (2014), Bonomi (2013) e Stroppa (2011) - para as três formulações, até que o *temperindex* adequado fosse verificado. Na temperagem da Formulação 2, também foi avaliada a temperatura de temperagem de 29°C e de reaquecimento de 30°C, porém, nestas condições, houve sobre-temperagem desta massa, confirmando a necessidade de utilização de maior temperatura de temperagem e reaquecimento.

As amostras já desmoldadas foram avaliadas quanto à umidade e os valores foram de aproximadamente 1,3% - valor dentro do padrão para chocolates (teor máximo de 3,0% de umidade, ANVISA, 2014).

Tabela 4.15. Condições do processo de temperagem do chocolate amargo para cada formulação.

Formulação	Temperatura de temperagem (°C)	Temperatura de reaquecimento (°C)	Índice de Temperagem médio
1 - Padrão	29,0	30,0	4,5
2 - Com estearina de MC	31,0	31,5	5,0
3 - Com SMS	29,0	30,0	5,7

A viscosidade plástica e o limite de escoamento das três formulações foram medidos a uma temperatura de 40°C e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 4.16. Observa-se que a Formulação 3 - contendo monoestearato de sorbitana - apresentou menor viscosidade plástica, fato já constatado subjetivamente na prática, pela maior facilidade de moldagem do chocolate com esta formulação adicionada de emulsificante.

Tabela 4.16. Viscosidade plástica (em Pa.s) e limite de escoamento (em Pa) para as formulações de chocolate amargo.

	Formulação 1	Formulação 2	Formulação 3
Viscosidade plástica (Pa.s)	2,80 ± 0,02 ^a	3,10 ± 0,06 ^b	2,68 ± 0,03 ^c
Limite de escoamento (Pa)	11,82 ± 0,26 ^a	10,47 ± 0,29 ^b	13,16 ± 0,03 ^c

Mesmas letras na mesma linha indicam que não há diferença significativa entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

A adição de lecitina e de PGPR em formulações de chocolate influi em suas propriedades reológicas, sendo que cada um destes emulsificantes apresenta um efeito característico neste produto: diminuição da viscosidade plástica e redução do limite de escoamento, respectivamente (CHEVALLEY, 1994).

Como observado anteriormente, a adição de monoestearato de sorbitana na Formulação 3 diminuiu a viscosidade plástica em relação as demais formulações. A fim de averiguar a possibilidade de poder reduzir o teor de lecitina e/ou PGPR quando a massa já contém SMS, foram feitos ensaios com massa de chocolate amargo contendo apenas SMS.

Após 23h de conchagem, essa massa de 5kg contendo apenas SMS como emulsificante foi dividida em frações menores de aproximadamente 800g cada, que receberam lecitina e/ou PGPR, em concentrações de 0 a 0,3% e de 0 a 0,2%, respectivamente, adicionados de maneira gradual e com homogeneização. Durante as medidas reológicas, a amostra adicionada apenas de monoestearato de sorbitana apresentou oscilações na leitura devido aos altos valores de

viscosidade plástica e do limite de escoamento, o que inviabilizaria as etapas seguintes do processamento deste chocolate (temperagem e moldagem). A adição de PGPR diminuiu apenas o limite de escoamento, enquanto que a adição de lecitina diminuiu apenas a viscosidade plástica, como já esperado. Assim, constatou-se que nas condições avaliadas neste trabalho a adição de monoestearato de sorbitana como único emulsificante, na concentração de 0,5%, em relação à gordura total da formulação, não consegue substituir a ação dos emulsificantes lecitina e PGPR. Quando uma quantidade elevada de SMS (aproximadamente 1,0% na massa total de produto) foi adicionada, observou-se grande redução da viscosidade plástica, o que permitiria a substituição da lecitina nesta formulação, embora o PGPR ainda deva ser adicionado. Como o custo do monoestearato de sorbitana é maior do que o da lecitina, optou-se neste caso em prosseguir com a mínima utilização do SMS (0,15% na formulação) e a adição de lecitina e PGPR nas concentrações de 0,3% e 0,2%, respectivamente.

4.7 Monitoramento do desenvolvimento do *fat bloom*

Após a produção de chocolate amargo segundo as três diferentes formulações apresentadas na Tabela 3.1, quantidade suficiente de barras de chocolate produzida foi armazenada sob duas condições diferentes de temperatura (temperatura constante e temperatura variável, como mencionado no Item 3.2), a fim de avaliar o desenvolvimento do *fat bloom*.

Para facilitar a avaliação comparativa das três diferentes formulações de chocolate em cada uma das duas condições de armazenamento, as amostras foram identificadas pela codificação apresentada na Tabela 4.17.

Tabela 4.17. Identificação das amostras de chocolate amargo e respectivas condições de armazenamento.

Código	Amostra de chocolate amargo - armazenamento
A	Formulação 1 - Padrão - armazenada a temperatura de 20°C
B	Formulação 2 - Estearina - armazenada a temperatura de 20°C
C	Formulação 3 - Monoestearato de sorbitana - armazenada a temperatura de 20°C
D	Formulação 1 - Padrão - armazenada sob ciclos de temperatura
E	Formulação 2 - Estearina - armazenada sob ciclos de temperatura
F	Formulação 3 - Monoestearato de sorbitana - armazenada sob ciclos de temperatura

As amostras A a F foram armazenadas durante 90 dias, monitorando-se os seguintes atributos funcionais: aparência (avaliação visual), *snap* (tensão de ruptura), Índice de Brancura, microestrutura, comportamento de fusão e polimorfismo.

4.7.1 Avaliação visual

Na Figura 4.28 são apresentados os resultados da avaliação visual das amostras de chocolate A a F de acordo com a escala numérica apresentada no Item 3.2.1.4. d, sendo 0 para uma amostra recém produzida, sem defeitos, e 4 para a amostra com a superfície totalmente esbranquiçada pelo desenvolvimento do *fat bloom*. A avaliação visual foi realizada durante 90 dias de armazenamento das barras de chocolate, nos tempos 0, 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias.

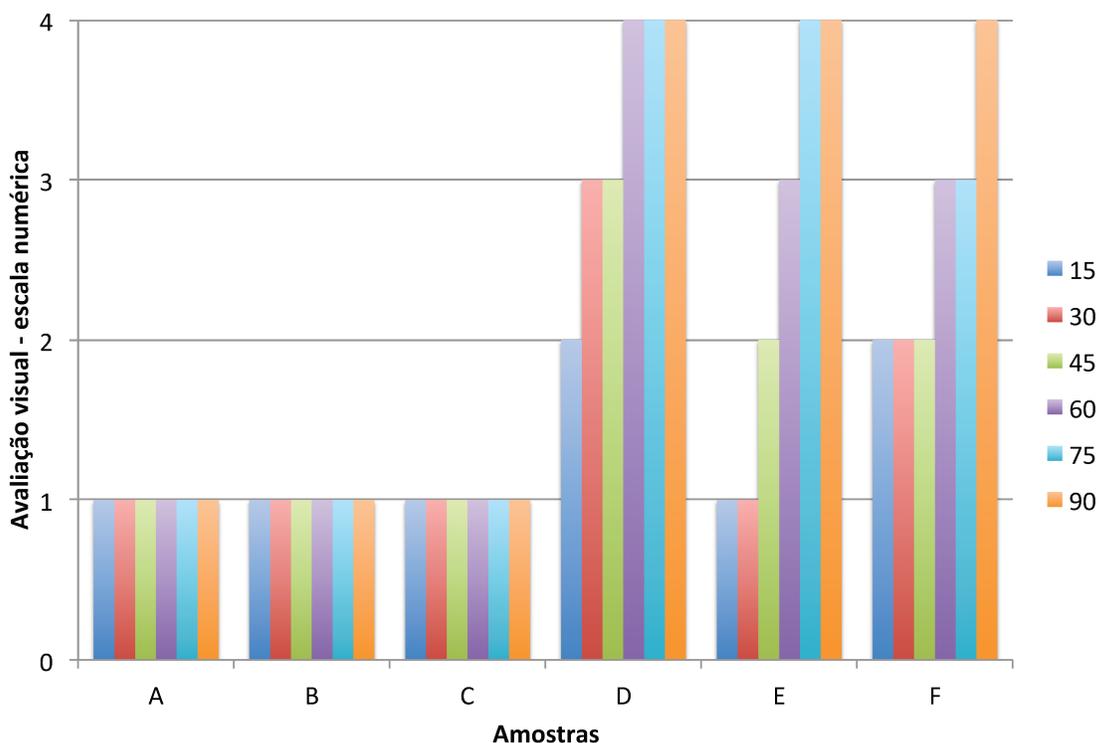


Figura 4.28. Avaliação visual do chocolate amargo A a F nos tempos 15, 30, 45, 60, 75 e 90 dias.

A avaliação indica que as amostras de chocolate amargo armazenadas na condição isotérmica à 20°C (A, B e C) não apresentaram desenvolvimento de *fat bloom* visual durante os 90 dias de armazenamento.

As amostras D, E e F, armazenadas sob ciclos de temperatura (20 e 32°C a cada 24h), apresentaram desenvolvimento de *fat bloom* no nível máximo (4 na escala numérica) nos períodos

de 60, 75 e 90 dias, respectivamente. Já o início da formação do *fat bloom* (representado pelo número 2 na escala numérica) em cada uma destas amostras, entretanto, foi em períodos diferentes: a formulação padrão e com adição de monoestearato de sorbitana (Amostra D e F, respectivamente) iniciaram a deterioração em menos de 15 dias, enquanto que a amostra adicionada de estearina da manteiga de cacau (Amostra E) manteve o aspecto de sua superfície inalterado por pelo menos 30 dias.

As Amostras D e F - as primeiras a apresentarem sinais de *fat bloom* - diferem entre si quanto ao desenvolvimento posterior deste defeito. A Amostra D apresentou desenvolvimento de *fat bloom* mais acelerado do que a Amostra F, alcançando o nível 3 em 30 dias e o nível máximo, 4, em 60 dias. Já a Amostra F foi avaliada no nível 3 em 60 dias e no nível máximo somente aos 90 dias de estocagem, período mais extenso inclusive do que a Amostra E, a qual apresentou avaliação 4 em 75 dias.

De maneira geral, a avaliação visual confirmou que o armazenamento sob ciclos de temperatura acelera o aparecimento e desenvolvimento do *fat bloom* em chocolates. Já na condição de temperatura constante, este defeito não é observado durante o período de 90 dias. Quanto às 3 formulações avaliadas, observa-se que a adicionada de estearina e aquela com monoestearato de sorbitana apresentaram-se mais resistentes quanto ao aparecimento inicial e o desenvolvimento, respectivamente, do *fat bloom* se comparadas com a formulação padrão.

A Figura 4.29 apresenta as imagens fotográficas das amostras nos tempos 1, 30 e 90 dias após sua confecção e sob armazenamento nas duas condições de estudo deste trabalho. Os resultados descritos numericamente na Figura 4.28 nos tempos de 30 e 90 dias podem ser facilmente correlacionados com a intensificação do *fat bloom* observada nas fotografias da Figura 4.29. Nota-se também que além do aparecimento da superfície esbranquiçada, há também o surgimento de pontos brancos, caracterizando o *fat bloom* nestas amostras.

Figura 4.29. Imagens das Amostras A a F de chocolate amargo nos tempos 1, 30 e 90 dias (para nomenclatura, vide Tabela 4.17).

4.7.2 Índice de Brancura

O desenvolvimento do *fat bloom* geralmente está associado ao surgimento de uma cobertura esbranquiçada ou pontos brancos na superfície do chocolate. Assim, o Índice de Brancura em barras de chocolate é outro parâmetro importante para o monitoramento do desenvolvimento do *fat bloom*.

A Figura 4.30 apresenta o Índice de Brancura calculado para as Amostras de A a F durante o período de 90 dias de armazenamento. A avaliação estatística da diferença significativa

($p < 0,05$) entre os valores de Índice de Brancura obtidos para as amostras em um mesmo período pode ser observada na Tabela 4.18.

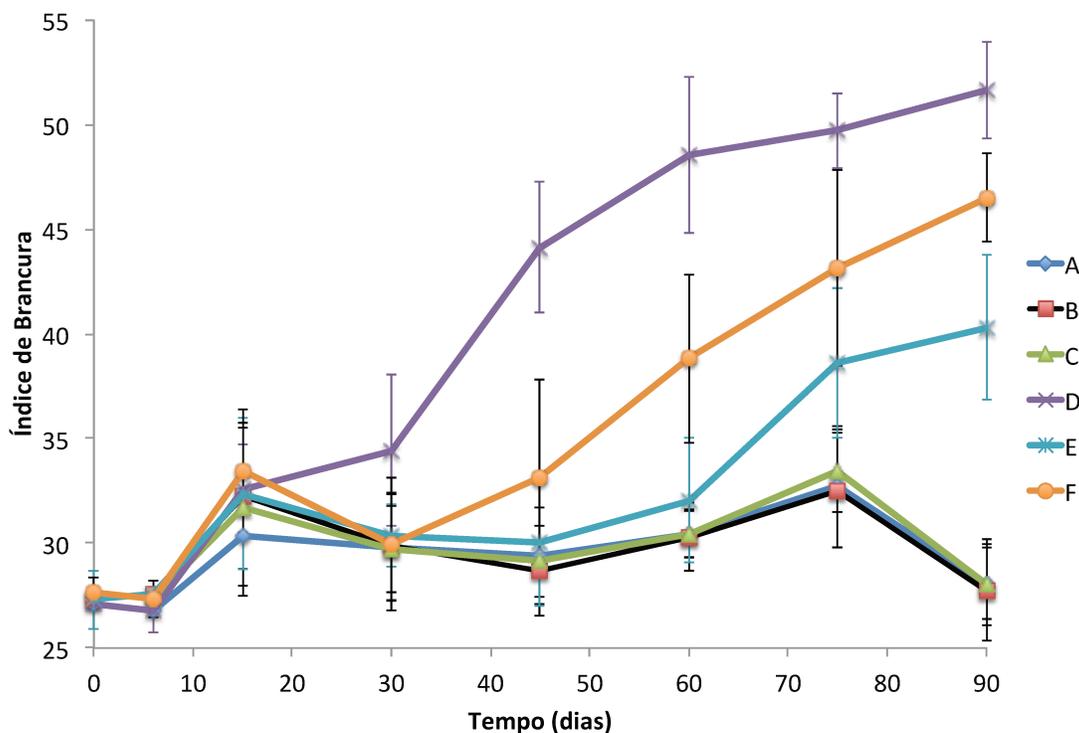


Figura 4.30. Índice de Brancura das amostras de chocolate de A a F durante 90 dias de monitoramento. (Barras verticais representam o desvio padrão).

Tabela 4.18. Índice de Brancura das amostras de chocolate de A a F durante 90 dias de monitoramento.

Amostras	Índice de Brancura durante armazenamento (dias)							
	1	6	15	30	45	60	75	90
A	27,1 ^a	26,8 ^a	30,4 ^a	29,8 ^a	29,4 ^a	30,4 ^a	32,7 ^a	28,1 ^a
B	27,3 ^a	27,6 ^b	32,3 ^a	29,9 ^a	28,7 ^a	30,3 ^a	32,5 ^a	27,7 ^a
C	27,6 ^a	27,3 ^{a,b}	31,7 ^a	29,7 ^a	29,2 ^a	30,5 ^a	33,5 ^a	28,0 ^a
D	27,1 ^a	26,8 ^a	32,6 ^a	34,4 ^b	44,1 ^c	48,6 ^c	49,7 ^d	51,6 ^d
E	27,3 ^a	27,6 ^b	32,4 ^a	30,4 ^a	30,0 ^a	32,0 ^a	38,6 ^b	40,3 ^b
F	27,6 ^a	27,3 ^{a,b}	33,5 ^a	30,0 ^a	33,2 ^b	38,8 ^b	43,1 ^c	46,5 ^c

Mesmas letras na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Observa-se que as amostras A, B e C não apresentaram aumento do Índice de Brancura na condição de armazenamento sob temperatura constante de 20°C. Houve apenas uma variação ao longo do período, provavelmente devido a dificuldade em amostrar a área sob análise, mas os desvios permaneceram dentro dos mesmos limites. As Amostras D, E e F apresentaram acentuada elevação no Índice de Brancura ao longo do tempo e de maneira diferente para cada uma destas amostras. O aumento no Índice de Brancura (IB) da amostra D iniciou-se aos 30 dias de armazenamento sob ciclos de temperatura e aumentou gradativamente apresentando os maiores valores de IB dentre as amostras, resultado evidenciado pela avaliação estatística apresentada na Tabela 4.18. Este fato sugere que o desenvolvimento do *fat bloom* na Amostra D foi mais acelerado do que nas demais amostras e que esta formulação é a menos resistente à oscilações de temperatura. A Amostra E apresentou certa resistência térmica ao armazenamento sob ciclos de temperatura, principalmente durante o tempo de 60 dias, a partir do qual observou-se um aumento do IB e provavelmente o desenvolvimento do *fat bloom*. A Amostra F apresentou comportamento intermediário entre as Amostras D e E, conferindo uma resistência a formação de filme branco maior do que a Amostra D porém menor do que a Amostra E.

4.7.3 Tensão de ruptura

A força necessária para romper a estrutura de uma barra de chocolate em relação a sua área de seção transversal - conceitualmente denominado de tensão de ruptura ou *snap* - é um importante parâmetro de qualidade na avaliação de chocolates. Dependendo de fatores como tipo de formulação, condições de processamento e armazenamento, o *snap* de chocolates pode ser alterado, ocasionando maior ou menor aceitação deste produto pelo consumidor.

As Figuras 4.31 e 4.32 apresentam a tensão de ruptura das amostras de chocolate amargo, respectivamente, armazenadas à temperatura constante (Amostras A, B e C) e sob ciclos de temperatura (Amostras D, E e F) durante o período de 90 dias.

Observa-se que os valores em ambas as condições de armazenamento variam entre 3,7 a 1,9 kgf/cm². O valor máximo de tensão (3,7 kgf/cm²) foi observado somente para as amostras com adição de estearina da manteiga de cacau (B e E), refletindo a maior consistência apresentada anteriormente na avaliação desta gordura (Figura 4.25). Já o valor mínimo foi verificado principalmente para a amostra padrão (A e D) nas duas condições de armazenamento. Um baixo valor de tensão de ruptura é associado geralmente a um chocolate com estrutura pouco firme. A Amostra D armazenada por 90 dias apresenta a menor tensão de ruptura dentre as amostras da

Figura 4.32, indicativo de uma estrutura menos coesa, provavelmente devido ao desenvolvimento avançado do *fat bloom* desde o 60º dia. O desenvolvimento do *fat bloom*, caracterizado dentre outros fatores pela transição polimórfica de cristais de gordura menos estáveis para mais estáveis e também pela migração de gordura do interior do chocolate para a superfície, pode ocasionar a diminuição da tensão de ruptura, uma vez que é um processo que modifica a estrutura interna do chocolate, deixando este mais quebradiço e arenoso.

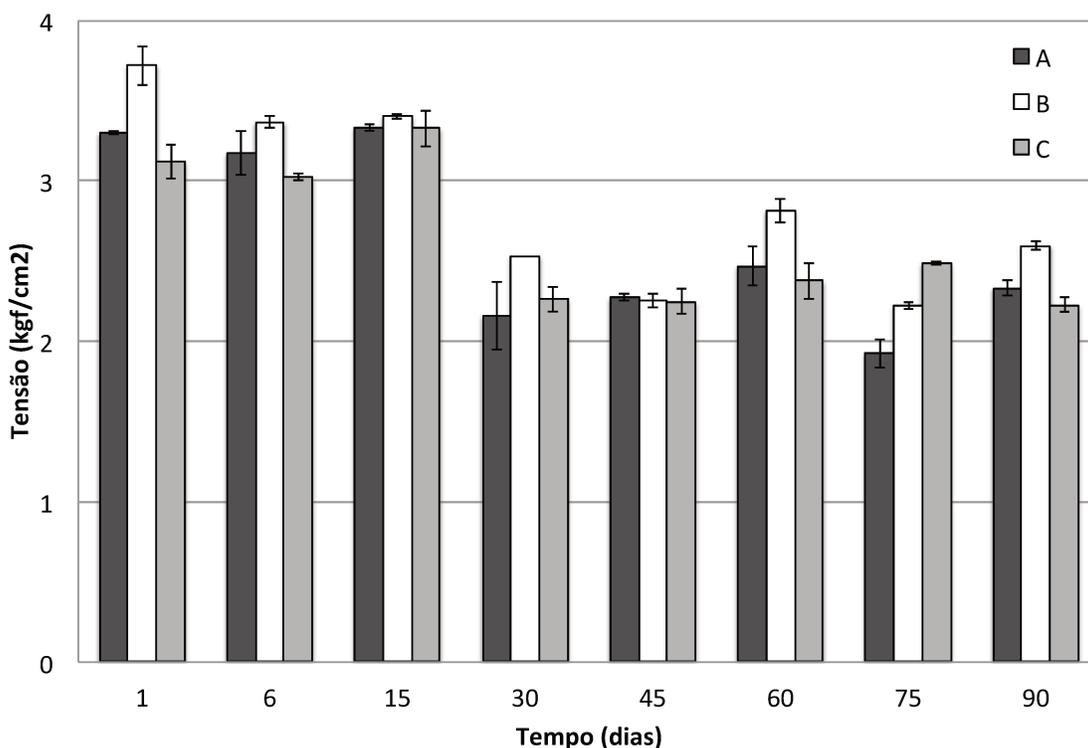


Figura 4.31. Variação da tensão de ruptura (em kgf/cm²) das Amostras de A, B e C ao longo de 90 dias de armazenamento. (Barras verticais representam o desvio padrão).

Dentre as amostras submetidas a ciclos de temperatura, a amostra E apresentou menor aumento do Índice de Brancura e maior tensão de ruptura ao longo do tempo de monitoramento de 90 dias, indicando que a estearina de manteiga de cacau adicionada à esta formulação foi eficiente para minimizar o processo de formação do *fat bloom*. Quando avaliada separadamente, a estearina de manteiga de cacau apresentou elevados valores de consistência e maiores teores de triacilgliceróis SUS. Estas duas características podem ser fatores determinantes na estruturação

de uma rede de cristais coesa e resistente termicamente no chocolate da Formulação 2, ao qual 20% de estearina de manteiga de cacau em relação a fase gordurosa foi adicionada.

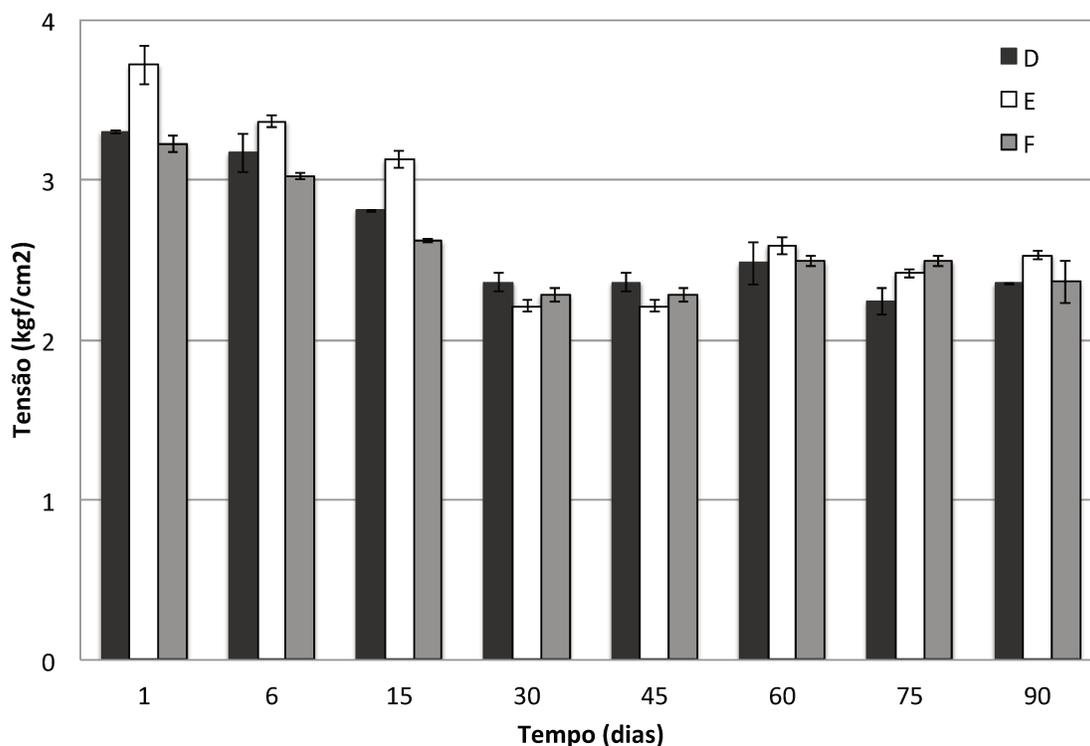


Figura 4.32. Variação de tensão de ruptura (em kgf/cm²) das Amostras de D, E e F ao longo de 90 dias de armazenamento. (Barras verticais representam o desvio padrão).

O resultado intermediário observado para a Amostra F quanto ao aumento do Índice de Brancura dentre as amostras armazenadas sob ciclos de temperatura (D, E e F) está possivelmente associado à característica estruturante do monoestearato de sorbitana. Mesmo sendo adicionado a 0,15% sobre a massa total da Formulação 3, a adição do SMS retardou em 15 dias o aparecimento do *fat bloom* - associado com o aumento do IB observado para a Amostra padrão D. Além desse fato, após 90 dias, a Amostra F não alcançou o patamar de Índice de Brancura observado na Amostra D, caracterizando que a adição de SMS pode ter potencial para modificar a estruturação do chocolate e aumentar sua resistência ao aparecimento e desenvolvimento do *fat bloom*.

4.7.4 Microestrutura

A microestrutura das amostras de chocolate foi avaliada através de microscópio eletrônico de varredura (MEV). Neste trabalho não se constataram diferenças morfológicas entre amostras

de chocolate com diferentes formulações ou mesmo no decorrer do armazenamento. A microestrutura típica observada no tempo inicial e após 45 dias para as Amostras A e D pode ser observada nas imagens da Figura 4.33.

A Amostra D após o período de 45 dias já apresentava desenvolvimento de *fat bloom* de acordo com as avaliações de Índice de Brancura e aspecto visual, citadas anteriormente. Deste modo, esperava-se que a sua microestrutura superficial fosse alterada em relação a observada no tempo inicial, porém isto não ocorreu (Figura 4.33). Uma possível explicação para este fato foi a forma como as imagens foram obtidas, sem a utilização de um método criogênico de avaliação microscópica. No caso da obtenção de imagens de gorduras, o microscópio eletrônico de varredura provoca um aquecimento do local do foco da energia incidente, capaz de fundir o material naquele ponto, ocasionando a deformação ou mesmo impossibilitando a captura de imagens nítidas. Se o MEV for acoplado com um equipamento especial capaz de congelar a amostra ou se for desenvolvido um método para avaliação de gorduras com congelamento inicial eficiente usando nitrogênio líquido, por exemplo, a morfologia destas amostras poderia ser avaliada com mais precisão.

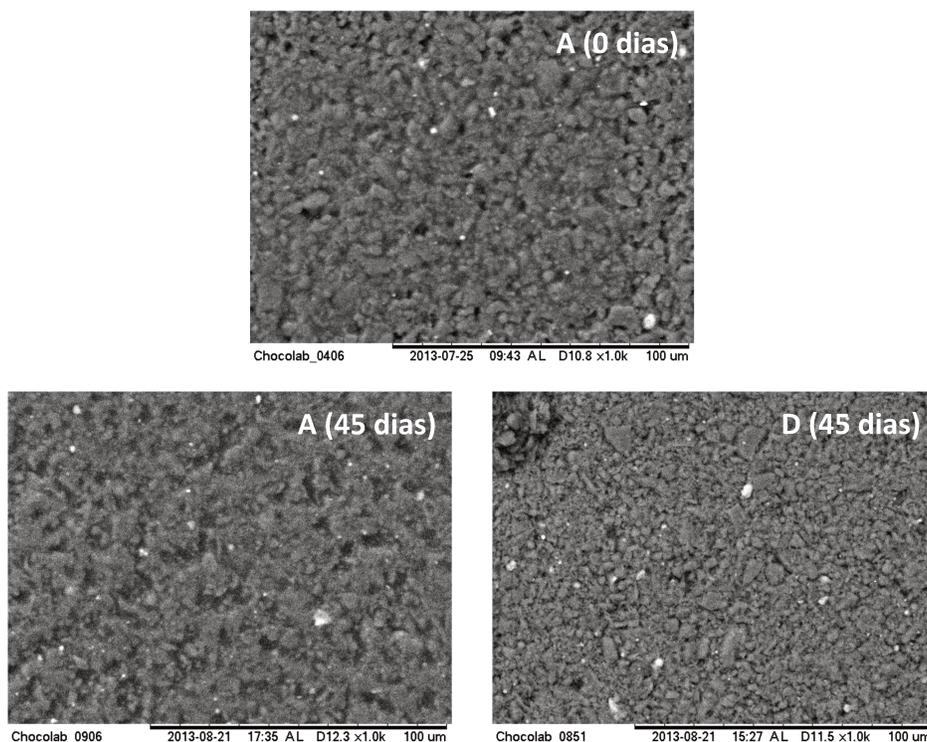


Figura 4.33. Imagem MEV da Amostra A no tempo inicial e de Amostras A e D após 45 dias de armazenamento.

4.7.5 Comportamento de fusão

O comportamento de fusão das amostras de chocolate, determinado ao decorrer do armazenamento, possibilita inferir sobre características de derretimento deste produto ao ser consumido. Também é uma ferramenta importante para averiguar a formação de novos cristais de gordura - fenômeno conhecido como transição polimórfica.

Na Tabela 4.19 são apresentados os parâmetros termodinâmicos obtidos pelo DSC durante a fusão das diferentes amostras de chocolate, considerando apenas a presença de um pico nos termogramas. Estes dados foram obtidos após 7 e 90 dias da produção das amostras, que foram mantidas à temperatura uniforme de 20°C durante o armazenamento. Observa-se que no período de 7 dias, no qual o *fat bloom* não havia sido detectado, todas as amostras apresentaram similaridade quanto aos resultados obtidos, evidenciando que o processamento destas foi realizado de maneira uniforme. Após o período de 90 dias, exceto em relação ao parâmetro de temperatura de pico (T_{pf}), as amostras armazenadas sob ciclos de temperatura (D, E e F) apresentaram resultados diferentes do que as amostras sob temperatura constante (A, B e C). Destaca-se principalmente um deslocamento quanto ao início e ao término da fusão da amostra, observado através da temperatura *onset* e final de fusão, além de um alongamento na distância destes valores, fato evidenciado pelo aumento da variável calculada I_f (Índice de Fusão).

O aumento das temperaturas *onset* e final de fusão está correlacionado com a presença de cristais de gordura termodinamicamente mais estáveis no chocolate avaliado, os quais necessitam de uma temperatura maior para fundir-se. A formação destes cristais deve-se ao fenômeno da transição polimórfica sofrido neste caso pela manteiga de cacau sob determinadas condições como, por exemplo, a troca brusca entre duas temperaturas durante o armazenamento. Assim, a forma inicial $\beta(V)$ obtida após a cristalização do chocolate adequadamente temperado transforma-se na forma mais estável, $\beta(VI)$, numa transformação do tipo sólido-sólido, caracterizando a ocorrência e desenvolvimento do *fat bloom*.

Além da presença de superfície esbranquiçada e pontos brancos, outra implicação sensorial decorrente da formação do *fat bloom* em chocolates, a qual afeta diretamente a aceitabilidade do produto pelo consumidor, refere-se a sua dificuldade de fusão na boca. Um chocolate adequadamente produzido tem como característica típica o rápido derretimento na temperatura corporal (aproximadamente 36°C). Já uma amostra com *fat bloom*, na qual há a presença de cristais de gordura termodinamicamente mais estáveis, sofre uma fusão mais lenta

na temperatura da boca, proporcionando uma sensação de cerosidade e de menor refrescância do que o chocolate sem defeitos. Assim, observa-se que as Amostras D, E e F após 90 dias de armazenamento sob ciclos de temperatura, apresentaram temperatura final de fusão 3°C maior do que a temperatura corporal, caracterizando a presença de cristais mais estáveis, e portanto do *fat bloom*. Já as demais amostras apresentam temperatura final de fusão de aproximadamente 36°C, garantindo seu derretimento adequado ao serem degustadas pelo consumidor.

Tabela 4.19. Temperatura *onset* de fusão (T_{of}), temperatura de pico de fusão (T_{pf}), entalpia de fusão (ΔH_f), temperatura final de fusão (T_{ff}), intensidade do pico (I) e Índice de Fusão (I_f) das Amostras de chocolate A a F.

Período	Amostra	T_{of} (°C)	T_{pf} (°C)	T_{ff} (°C)	I (W/g)	ΔH_f (J/g)	I_f (°C)
7 dias	A, D	21,4±0,2 ^{a,b}	32,0±1,4 ^a	35,9±0,2 ^a	-0,64±0,18 ^{a,b}	29,4±1,1 ^a	14,5±0,4 ^{a,b}
	B, E	21,3±0,3 ^{a,b}	33,4±0,6 ^a	36,3±0,5 ^a	-0,68±0,08 ^{a,b}	30,6±1,1 ^a	15,0±0,3 ^{b,c,d}
	C, F	21,1±0,3 ^a	32,8±0,2 ^a	35,6±0,2 ^a	-0,68±0,08 ^{a,b}	29,5±0,6 ^a	14,5±0,1 ^{a,b}
90 dias	A	22,4±0,6 ^{b,c,d}	32,5±0,1 ^a	36,1±0,1 ^a	-0,59±0,05 ^{a,b}	29,1±0,3 ^a	13,8±0,7 ^a
	B	21,8±0,3 ^{a,b,d}	33,2±0,1 ^a	36,4±0,1 ^a	-0,72±0,07 ^b	31,5±0,6 ^a	14,6±0,2 ^{a,b,c}
	C	21,7±0,3 ^{a,b}	32,9±0,1 ^a	35,7±0,3 ^a	-0,64±0,14 ^{a,b}	28,2±2,4 ^{a,b}	14,1±0,1 ^{a,b}
	D	23,4±0,2 ^c	33,7±1,8 ^a	39,2±0,1 ^b	-0,35±0,07 ^a	25,0±1,2 ^b	15,8±0,3 ^{c,d,e}
	E	23,0±0,2 ^c	33,0±2,3 ^a	39,0±0,2 ^b	-0,36±0,06 ^a	28,5±0,4 ^{a,b}	16,0±0,1 ^{d,e}
	F	22,9±0,4 ^{c,d}	33,9±1,5 ^a	39,2±0,1 ^b	-0,38±0,09 ^{a,b}	28,2±1,0 ^{a,b}	16,3±0,5 ^e

Mesmas letras na mesma coluna indicam que não há diferença significativa entre as médias avaliadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$)

Outro fator importante a ser verificado é a altura ou intensidade do pico de fusão (em W/g), denominado com a letra I , que é uma medida correlacionada com a taxa de energia necessária para fundir a gordura. Quanto maior o valor de I , em módulo, mais rápido é o processo de derretimento e maior será a sensação de frescor causada pela fusão, devido à maior absorção de energia pelos cristais de chocolate na boca em um menor tempo. Assim, as Amostras D, E e F após 90 dias de armazenamento, apresentaram valor de altura de pico menor (em módulo) do que as demais amostras, aumentando o tempo necessário para o derretimento completo do chocolate.

A Figura 4.34 apresenta duas curvas de fusão das amostras de chocolate A e D, ambas após 90 dias de armazenamento. Pode-se observar o comportamento típico de uma amostra de chocolate sem (A) e com (D) o desenvolvimento do *fat bloom*.

Figura 4.34. Eventos de fusão por DSC das Amostras A e D após 90 dias de armazenamento.

Keller *et al.* (1996) apresentaram os eventos de cristalização de manteiga de cacau nas Formas cristalinas $\beta(V)$ e $\beta(VI)$ e as respectivas faixas de temperatura de pico encontradas foram 31,7-33,4°C e 33,6-35,2°C, respectivamente.

Na Figura 4.34 observa-se apenas um pico para a Amostra A, com uma temperatura de pico de aproximadamente 32,5°C, que segundo Keller *et al.* (1996), está localizado dentro da faixa de temperatura de pico de fusão da Forma polimórfica $\beta(V)$. No evento de fusão da Amostra D, observa-se o surgimento de uma divisão no pico de fusão, e que é o resultado do desenvolvimento de *fat bloom*, conforme sugerido anteriormente pelas técnicas de avaliação visual e Índice de Brancura. O perfil fragmentado deste pico pode estar relacionado com a presença em conjunto das duas Formas polimórficas $\beta(V)$ e $\beta(VI)$, uma vez que a transição da primeira para a segunda forma ocorre de forma gradual e constante, podendo haver a presença dos dois tipos de formas cristalinas ao mesmo tempo na amostra de chocolate. Outra evidência de que a formação de dois picos refere-se a estas duas formas polimórficas está no valor de temperatura de pico observado para cada um deles, 32,5 e 35,0°C, respectivamente para o primeiro, igual a da Forma $\beta(V)$, e para o segundo, sugerindo a Forma $\beta(VI)$. Estes valores de

temperatura de pico e respectiva forma polimórfica também estão de acordo com o exposto por Keller *et al.* (1996).

Nas Figuras 4.35 e 4.36 são apresentadas as curvas de fusão das Amostras B, E e C, F, respectivamente, após 90 dias de armazenamento. O mesmo comportamento relatado dos eventos de fusão das Amostras A e D, apresentadas na Figura 4.34, podem ser observados também para as Amostras B, E e C, F.

Figura 4.35. Eventos de fusão por DSC das Amostras B e E após 90 dias de armazenamento.

Figura 4.36. Eventos de fusão por DSC das Amostras C e F após 90 dias de armazenamento.

4.7.6 Polimorfismo

Atualmente, o mecanismo mais aceito para explicar a formação do *fat bloom* em chocolates baseia-se na transformação polimórfica da Forma $\beta(V)$ para a mais termodinamicamente estável, Forma $\beta(VI)$. Desta maneira, a difração de Raios-X - técnica na qual são determinadas as distâncias entre planos das estruturas cristalinas - é uma ferramenta decisiva para a avaliação polimórfica e verificação da ocorrência do *fat bloom* em chocolates.

Amostras de chocolate armazenadas sob as duas condições de temperatura foram avaliadas quanto ao polimorfismo predominante. Nas Figuras 4.37, 4.38 e 4.39 são apresentados os difratogramas das Amostras A, B, C, respectivamente, armazenadas à temperatura constante de 20°C; e nas Figuras 4.40, 4.41 e 4.42, os difratogramas das Amostras D, E, F, respectivamente, armazenadas sob ciclos diários de temperatura entre 20 e 32°C, nos períodos de avaliação de 7, 32 e 90 dias.

De acordo com os picos apresentados na Figura 2.1 para as Formas polimórficas $\beta(V)$ e $\beta(VI)$ e pelos valores característicos de *short spacing* apresentados no Item 2.2, pode-se determinar o polimorfismo predominante das amostras de chocolate.

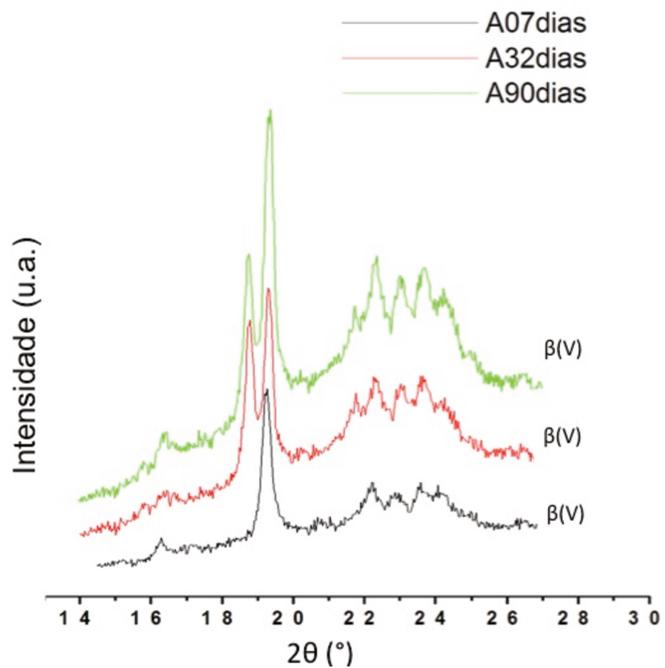


Figura 4.37. Difratogramas de Raios-X da Amostra A após 7, 32 e 90 dias de armazenamento à temperatura de 20°C.

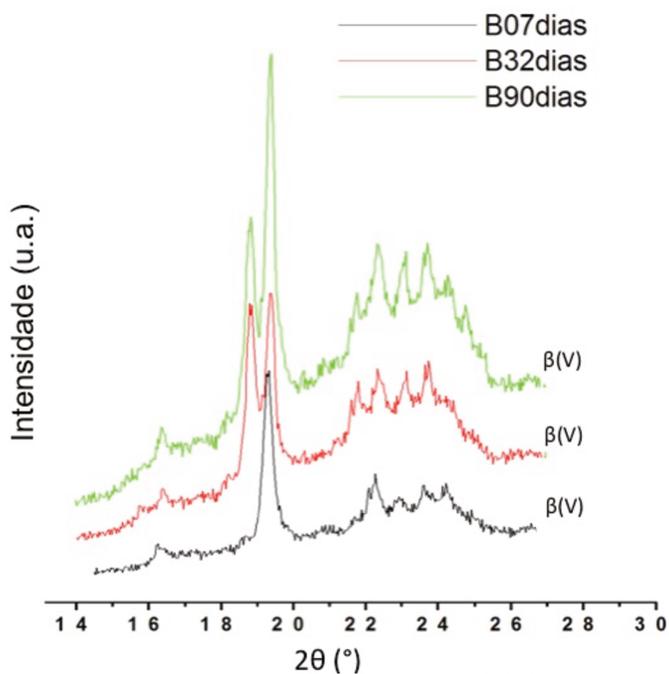


Figura 4.38. Difratogramas de Raios-X da Amostra B após 7, 32 e 90 dias de armazenamento à temperatura de 20°C.

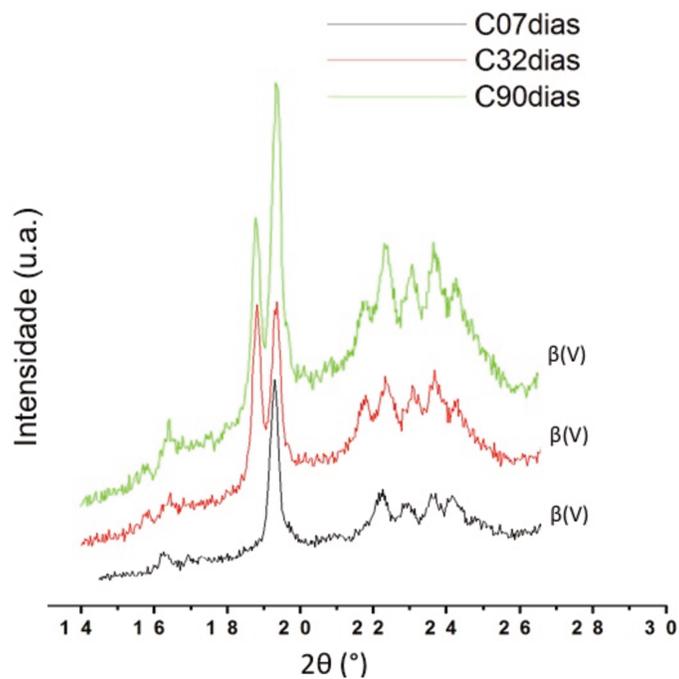


Figura 4.39. Difratomogramas de Raios-X da Amostra C após 7, 32 e 90 dias de armazenamento à temperatura de 20°C.

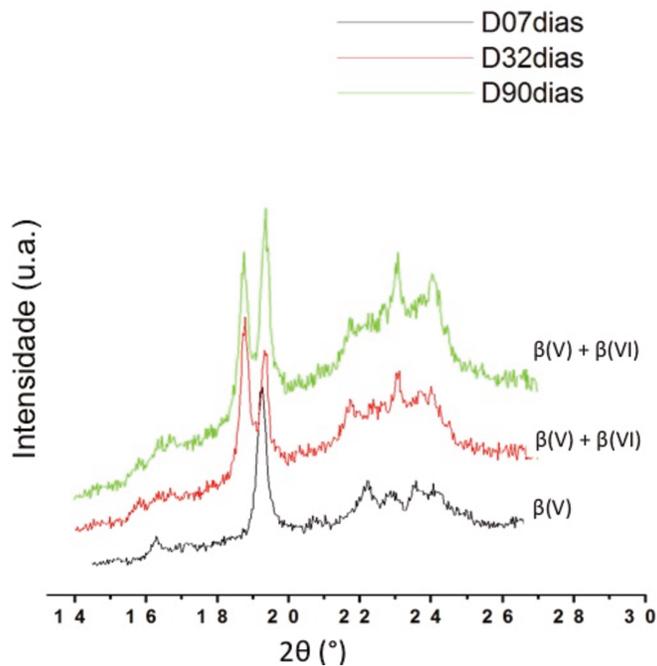


Figura 4.40. Difratomogramas de Raios-X da Amostra D após 7, 32 e 90 dias de armazenamento sob ciclos diários de temperatura entre 20 e 32°C.

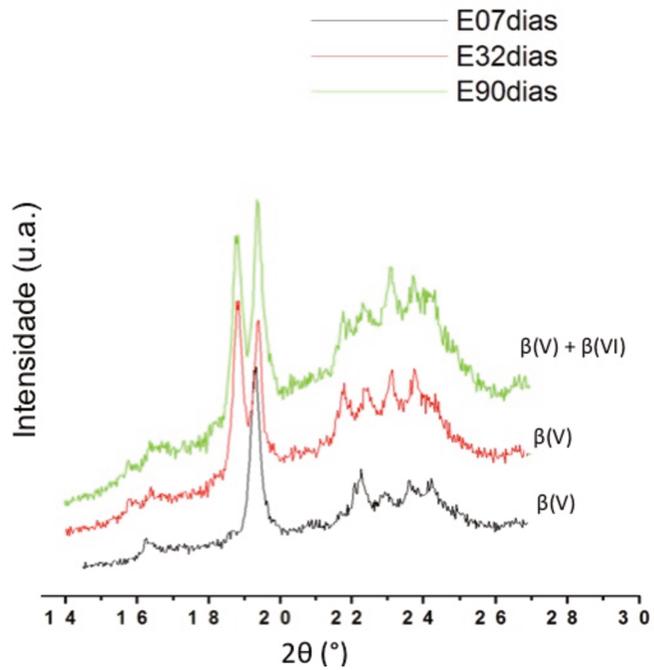


Figura 4.41. Difratogramas de Raios-X da Amostra E após 7, 32 e 90 dias de armazenamento sob ciclos diários de temperatura entre 20 e 32°C.

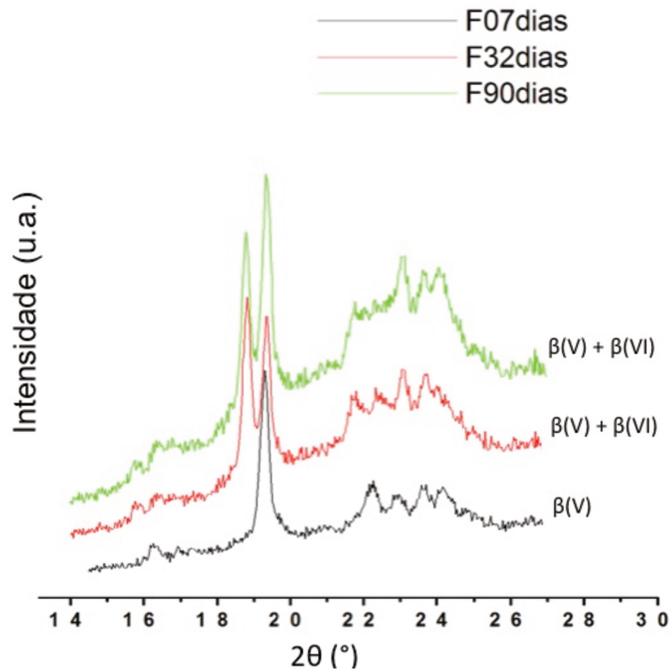


Figura 4.42. Difratogramas de Raios-X da Amostra F após 7, 32 e 90 dias de armazenamento sob ciclos diários de temperatura entre 20 e 32°C.

Nota-se que nas Figuras a seguir (da Figura 4.37 à 4.42) - nos difratogramas das amostras armazenadas durante 32 e 90 dias - há um pico no valor aproximado de 2θ de 19° que provavelmente seja referente aos interferentes presentes na amostra do chocolate, como por exemplo a presença de traços de açúcar. Isso deve-se provavelmente a ineficiência do processo de lavagem da amostra, detalhado no Item 3.2.1.4. i.

Como já esperado em um chocolate adequadamente temperado e com a microestrutura consolidada, todas as amostras - A, B, C, D, E e F - apresentam a Forma $\beta(V)$ no tempo inicial de 7 dias. Durante o período de 90 dias de armazenamento a temperatura constante de 20°C , as amostras mantiveram o polimorfismo inicial $\beta(V)$, evidenciando a importância do controle de temperatura para a garantia da manutenção da qualidade estrutural do chocolate. Já no armazenamento sob ciclos de temperatura entre 20 e 32°C , observa-se que ocorreu a transformação polimórfica da Forma $\beta(V)$ para a mais estável $\beta(VI)$ em um tempo de, no mínimo, 32 dias nas Amostras D e F, enquanto que a Amostra E manteve-se com o polimorfismo inicial, $\beta(V)$, neste período de avaliação. No tempo de 90 dias, todas as amostras submetidas a ciclos de temperatura apresentaram a transformação polimórfica que é geralmente responsável pela formação e desenvolvimento do *fat bloom*.

Pela avaliação polimórfica das amostras em duas condições de armazenamento no decorrer de 90 dias, observam-se duas tendências sobre a formação e desenvolvimento do *fat bloom*. A primeira tendência confirma que o armazenamento de chocolates em temperatura relativamente amena (20°C) mantém o produto com o polimorfismo obtido ao final de seu processamento que, no caso, foi a forma adequada para chocolates - $\beta(V)$. Já o armazenamento sob ciclos entre duas temperaturas, sendo uma delas considerada elevada (32°C), ocasiona a formação e desenvolvimento de *fat bloom* depois de determinado período de armazenamento, devido ao processo de transição polimórfica mencionado anteriormente. Observou-se porém que a amostra adicionada de estearina da manteiga de cacau (Amostra E) retardou a formação do *fat bloom* se comparada com as Amostras D e F. Isso ocorreu provavelmente pela estruturação cristalina mais densa proporcionada pela presença da estearina da manteiga de cacau nesta formulação. Resultados semelhantes foram apresentados no trabalho de Cebula e Ziegleder (1993) e Bonomi (2013). No primeiro, amostras de chocolate amargo com a forma cristalina inicial $\beta(V)$, armazenadas durante 3 anos nas temperaturas de 18 e de 23°C apresentaram polimorfismo predominante $\beta(V)$ e $\beta(VI)$, respectivamente. Neste mesmo trabalho, os autores também

avaliaram a adição de 2% de gordura do leite na formulação do mesmo chocolate sob armazenamento a 23°C, durante 3 anos, e constataram a conservação do polimorfismo inicial, $\beta(V)$. Já Bonomi (2013), estudou a adição de estearina da gordura do leite nas mesmas condições de armazenamento da presente pesquisa e observou que a estocagem sob a temperatura constante de 20°C preservou a estrutura cristalina do chocolate, e que a adição de estearina da gordura do leite retardou o aparecimento de *fat bloom*, mesmo sob condição abusiva de oscilação de temperatura.

5. Conclusões

5.1 Conclusões gerais

- A adição do emulsificante monoestearato de sorbitana, mesmo em baixas concentrações (0,5% m/m, por exemplo) altera de maneira significativa a cristalização e microestrutura da manteiga de cacau;

- O fracionamento da manteiga de cacau com o uso de acetona e condições específicas de processamento é eficaz na obtenção de fração estearina rica em triacilgliceróis monoinsaturados simétricos (SUS);

- O monoestearato de sorbitana e a estearina da manteiga de cacau podem ser considerados efetivos moduladores de cristalização para manteiga de cacau e chocolate amargo;

- O chocolate amargo formulado com a adição da estearina de manteiga de cacau ou com o monoestearato de sorbitana, separadamente, apresenta resistência a formação e desenvolvimento do *fat bloom* se comparado com a formulação de chocolate amargo padrão, sendo a formulação com estearina a que mais retarda o aparecimento do *fat bloom* dentre as três diferentes amostras de chocolate avaliadas.

5.2 Conclusões específicas

- O emulsificante monoestearato de sorbitana atenua o *plateau* observado na cristalização isotérmica da manteiga de cacau e também altera sua microestrutura observada pela microscopia sob luz polarizada;

- O emulsificante monoestearato de sorbitana atua discretamente como redutor da viscosidade plástica em chocolate;

- A adição do emulsificante monopalmitato de sorbitana altera a temperatura de início de cristalização da manteiga de cacau de maneira similar a adição do monoestearato de sorbitana, porém com menor efeito modificador;

- As adições de monolaurato e de monooleato de sorbitana não alteram o comportamento de cristalização da manteiga de cacau nas condições avaliadas nesta pesquisa;

- As condições do processo de fracionamento da manteiga de cacau avaliadas que favorecem a obtenção de estearina com maior teor de triacilgliceróis SUS (aproximadamente 90%) são: relação de acetona: manteiga de cacau de 1:7 (em m/v) e temperatura de cristalização de 17°C;

- Pelo ensaio de fracionamento de manteiga de cacau sob temperatura de cristalização de 20°C e relação de acetona: manteiga de cacau de 1:5 (em m/v) obtem-se a estearina com maior teor do triacilglicerol SOS dentre os ensaios realizados neste trabalho;

- A formulação de chocolate amargo com adição de 20% m/m de estearina de manteiga de cacau em relação ao conteúdo de gordura total retarda em aproximadamente 30 dias a formação do *fat bloom* na condição de armazenamento sob ciclos de temperatura entre 20 e 32°C em relação as demais amostras de chocolate avaliadas;

- A formulação de chocolate amargo com adição de 0,5% (m/m) de monoestearato de sorbitana em relação ao conteúdo de gordura total promove menor velocidade de desenvolvimento do *fat bloom* se comparada a formulação padrão na condição de armazenamento sob ciclos de temperatura entre 20 e 32°C, de acordo com a avaliação visual e Índice de Brancura;

- Todas as três formulações avaliadas de chocolate amargo armazenadas à temperatura constante a 20°C não apresentam desenvolvimento de *fat bloom* após 90 dias de monitoramento.

6. Sugestões para próximos trabalhos

- Otimizar as condições do processo de fracionamento da manteiga de cacau com acetona por meio de planejamento experimental;
- Avaliar o uso de outros solventes, por exemplo o etanol, para o fracionamento da manteiga de cacau;
- Avaliar via planejamento experimental o uso de quantidades diferentes de monoestearato de sorbitana e estearina da manteiga de cacau na formulação do chocolate amargo e também avaliar a adição de ambos, em conjunto, a fim de averiguar possível relação de sinergismo na inibição do *fat bloom*;
- Averiguar possibilidades de aplicação da fração oleína obtida no fracionamento da manteiga de cacau em produtos como *spread* de chocolate;
- Verificar o potencial de utilização da estearina da manteiga de cacau como semente de cristalização para produção de chocolates, com o objetivo de substituir ou acelerar a etapa de temperagem.

7. Referências Bibliográficas

- AFOAKWA, E.O.; PATERSON, A.; FOWLER, M.; VIEIRA, J. Characterization of melting properties in dark chocolates from varying particle size distribution and composition using differential scanning calorimetry. **Food Research International**, v.41, p. 751-757, 2008.
- ALI, A.; SELAMAT, J.; CHE MAN, Y.B.; SURIA, A.M. Effect of storage temperature on texture, polymorphic structure, bloom formation and sensory attributes of filled dark chocolate. **Food Chemistry**, v.72, p.491-497, 2001.
- ANTONIOSI FILHO, N.R.; MENDES, O.L.; LANÇAS, F.M. Computer prediction of triacylglycerol composition of vegetable oils by HRGC. **Chromatographia**, v.40, p.557-562, 1995.
- ANVISA. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Legislação em Vigilância Sanitária**. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/>. Acesso em: fevereiro/2014.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. 3.ed. Editora UFV, Viçosa, p.137-190, 2006.
- AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 5ed., 2009.
- AWAD, T.S.; MARANGONI, A.G. Ingredient interactions affecting texture and microstructure of confectionary chocolate. In: **Ingredient Interactions: Effects on Food Quality**. Eds. GAONKAR, A.G.; MCPHERSON, A. 2nd Edition. CRC Press, 2006.
- BAKALIS, S.; COLES, S.; FRYER, P.J.; LE RÉVÉREND, B.J.D. A method to qualify and quantify the crystalline state of cocoa butter in industrial chocolate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.87, p.239-246, 2010.
- BECKETT, S.T. Crystallising the fat in chocolate. In: **The Science of Chocolate**. Ed. BECKETT, S.T. 2.ed., RSC Publishing, p.103-124, 2008.
- BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Coffee, tea, cocoa. In: **Food Chemistry**. Eds. BELITZ, H.D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. 4.ed., Springer, p.938-970, 2009.
- BILIADERIS, C.G. Differential scanning calorimetry in food research – a review. **Food Chemistry**, v.10, p.239-265, 1983.
- BONOMI, E.C. **Aplicação da fração estearina como modulador de cristalização no fracionamento térmico de gordura de leite anidra e na fabricação de chocolate**. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.

- BRICKNELL, J.; HARTEL, R.W. Relation of fat bloom in chocolate to polymorphic transition of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.75, p.1609-1615, 1998.
- CAMPOS, R. Experimental methodology. In: **Fat Crystal Networks**. Ed. MARANGONI, A.J. Marcel Dekker, p.267-349, 2005.
- CHAPMAN, G.M.; AKEHURST, E.E.; WRIGHT, W.B. Cocoa butter and confectionary fats. Studies using programmed temperature X-ray diffraction and differential scanning calorimetry. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.48, p.824-830, 1971.
- CEBULA, D.J.; ZIEGLEDER, G. Studies of bloom formation using X-ray diffraction from chocolates after long-term storage. **Fat Science Technology**, v.9, p.340-343, 1993.
- CHEVALLEY, J. Chocolate flow properties. In: **Industrial Chocolate Manufacture and Use**. Ed. BECKETT, S.T. 2.ed., Chapman & Hall, 1994.
- CO, E.D., MARANGONI, A.G. Organogels: an alternative edible oil-structuring method. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.89, p.749-780, 2012.
- CERDEIRA, M.; MARTINI, S.; HARTEL, R.W.; HERRERA, M.L. Effect of sucrose ester addition on nucleation and growth behavior of milk fat-sunflower oil blends. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p. 6550-6557, 2003.
- DEWETTINCK, K.; FOUBERT, I.; BASIURA, M.; GODERIS, B. Phase behavior of cocoa butter in a two-step isothermal crystallization. **Crystal Growth & Design**, v.4, p.1295-1302, 2004.
- DHONSI, D.; STAPLEY, A.G.F. The effect of shear rate, temperature, sugar and emulsifier on the tempering of cocoa butter. **Journal of Food Engineering**, v.77, p. 936-942, 2006.
- DIJKSTRA, A.J. Modification processes and food uses. In: **The Lipid Handbook**. Eds. GUNSTONE, F.D.; HARWOOD, J.L.; DIJKSTRA, A.J. CRC Press, 3.ed., p.263-353, 2007.
- FOUBERT, I.; VANROLLEGHEM, P.A.; THAS, O.; DEWETTINCK, K. Influence of chemical composition on the isothermal cocoa butter crystallization. **Journal of Food Science**, v.69, p. 478-487, 2004.
- GAMBOA, O.W.D.; GIOIELLI, L.A. Comportamento de cristalização de lipídios estruturados a partir de gorduras de palmiste e óleo de peixe. **Química Nova**, v.29, p. 646-653, 2006.
- GARBOLINO, C.; BARTOCCINI, M.; FLOTTER, E. The influence of emulsifiers on the crystallisation behavior of a palm oil-based blend. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.107, p. 616-626, 2005.
- GARTI, N. Food Emulsifiers: Structure-Reactivity: relationships, design, and applications. In:

- Physical Properties of Lipids**. Eds. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. Marcel Dekker, Inc, 2002.
- 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 and Technology**, v.107, p. 297-306, 2005.
 - GRUNENVALDT, F.L. **Avaliação de propriedades físicas e sensoriais e do desempenho tecnológico de chocolates produzidos com misturas de manteiga de cacau e gorduras low / zero trans**. Tese de Mestrado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
 - HACHIYA, I.; KOYANO, T.; SATO, K. Seeding effects on solidification behavior of cocoa butter and dark chocolate. II. Physical properties of dark chocolate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.66, p.1763-1770, 1989.
 - HAIGHTON, A. J. The measurement of the hardness of margarine and fats with cone penetrometers. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.36, p.345-348, 1959.
 - HAMIDI-ESFEHANI, Z. *et al.* Enzymatically modified tea seed oil as cocoa butter replacer in dark chocolate. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 45, p.540-545, 2010.
 - HARTEL, R.W.; METIN, S. Crystallization of fats and oils. In: **Bailey's Industrial Oil & Fats Products**. Ed. SHAHIDI, F. 6.ed. Wiley-Interscience, v.1 p.45-76, 2005.
 - HARTMAN, L.; LAGO, R. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-476, 1973.
 - HASENHUETTL, G.L. Overview of food emulsifiers. In: **Food Emulsifiers and their Applications**. Ed. HASENHUETTL, G.L., HARTEL, R.W. Springer, New York, p. 1-7, 2008.
 - HASHIMOTO, S.; NEZU, T.; ARAKAWA, H.; ITO, T.; MARUZENI, S. Preparation of sharp-melting hard palm midfraction and its use as hard butter in chocolate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.78, p.455-460, 2001.
 - ILLINGWORTH, D. Fractionation of fats. In: **Physical Properties of Lipids**. Eds. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. Marcel Dekker, Inc, 2002.
 - JORGE, M.C.; RODRIGUEZ, I.; HOMBRE, R. Evaluation of an instrumental method of texture analysis for quality control of chocolate bars. **Alimentaria**. v. 36, n. 305, p. 73-76, 1999.
 - KALNIN, D.J.E.; BERGENSTAHL, B.; FUREBY, A.M.; DAHLENBORG, H. Investigation of chocolate surfaces using profilometry and low vacuum scanning electron microscopy. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.88, p.773-783, 2011.

- KARABULUT, I.; TURAN, S.; ERGIN, G. Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. **European Food Research and Technology**, v.218, p. 224-229, 2004.
- KELLENS, M.; GIBON, V.; HENDRIX, M.; GREYT, W.D. Palm oil fractionation. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.109, p. 336-349, 2007.
- KELLER, G.; LAVIGNE, F.; LOISEL, C.; OLLIVON, M.; BOURGAUX, C. Investigation of the complex thermal behavior of fats. **Journal of Thermal Analysis**, v.47, p.1545-1565, 1996.
- KINTA, Y.; HARTEL, R.W. Bloom formation on poorly-tempered chocolate and effects of seed addition. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.87, p.19-27, 2010.
- LIPP, M.; ANKLAM, E. Review of cocoa butter and alternative fats for use in chocolate – part A. Compositional data. **Food Chemistry**, v.62, p.73-97, 1998.
- LOHMAN, M., HARTEL, R.W. Effect of milk fat fractions on fat bloom in dark chocolate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 71, n.3, p.267-276, 1994.
- LONCHAMPT, P.; HARTEL, R.W. Fat bloom in chocolate and compound coatings. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.106, p. 241-274, 2004.
- LOVEGREN, N.V.; GRAY, M.S.; FEUGE, R.O. Effect of liquid fat on melting point and polymorphic behavior of cocoa butter and a cocoa butter fraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.53, p.108-112, 1976.
- LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolates**. Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2001.
- MARTY, S.; MARANGONI, A.G. Effects of cocoa butter origin, tempering procedure, and structure on oil migration kinetics. **Crystal Growth & Design**, v.9, p.4415-4423, 2009.
- MARANGONI, A.G.; WESDORP, L.H. Crystallography and polymorphism. In: **Structure and Properties of Fat Crystal Networks**. Eds. MARANGONI, A.G.; WESDORP, L.H. 2nd Edition. CRC Press, 2013.
- McGAULEY, S.E.; MARANGONI, A.G. Static crystallization behavior of cocoa butter and its relationship to network microstructure. In: **Physical Properties of Lipids**. Eds. MARANGONI, A.G.; NARINE, S.S. Marcel Dekker, Inc., 2002.

- MIYASAKI, E.K. **Avaliação da adição de emulsificantes do tipo lecitinas modificadas na cristalização de manteiga de cacau e de chocolate amargo.** Tese de Mestrado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.
- MURDAN, S., GREGORIADIS, G., FLORENCE, A. T. Novel sorbitan monostearate organogels. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.88, p. 608-614, 1999.
- NORBERG, S. Chocolate and confectionary fats. In: **Modifying Lipids for Use in Food.** Ed. GUNSTONE, F. Woodhead Publishing, p.488-516, 2006.
- O'BRIEN, R.D. Fats and oils analysis. In: **Fats and Oils – Formulating and Processing for Applications.** Ed. O'BRIEN, R.D. 2nd ed. CRC Press, New York, 2004.
- RIBEIRO, A.P.B.; GRIMALDI, R.; GIOIELLI, L.A.; GONÇALVES, L.A.G. Zero *trans* fats from soybean oil and fully hydrogenated soybean oil: Physicochemical properties and food applications. **Food Research International**, v.42, p.401-410, 2009.
- RIBEIRO, A.P.B.; BASSO, R.C.; GONÇALVES, L.A.G.; GIOIELLI, L.A.; SANTOS, A.O.; CARDOSO, L.P.; KIECKBUSCH, T.G. Physico-chemical properties of Brazilian cocoa butter and industrial blends. Part II – Microstructure, polymorphic behavior and crystallization characteristics. **Grasas y Aceites**, v.63, p.89-99, 2012.
- RIBEIRO, A.P.B.; BASSO, R.C.; KIECKBUSCH, T.G. Effect of the addition of hardfats on the physical properties of cocoa butter. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.115, p.301-312, 2013.
- RYE, G.G.; LITWINENKO, J.W.; MARANGONI, A.G. Fat crystal networks. In: **Bailey's Industrial Oil & Fats Products.** Ed. SHAHIDI, F. 6.ed. Wiley-Interscience, v.1 p.129, 2005.
- RODRIGUES, J.N.; GIOIELLI, L.A.; ANTON, C. Propriedades físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.226-233, 2003.
- ROUSSEAU, D.; HILL, A.R.; MARANGONI, A.G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 3. Rheology. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, p.983-989, 1996.
- ROUSSEAU, D. The microstructure of chocolate. In: **Understanding and controlling the microstructure of complex foods.** Ed. MCCLEMENTS, D.J. Woodhead Publishing, p.649-690, 2007.
- ROUSSEAU, D.; SONWAI, S. Controlling fat bloom formation in chocolate - Impact of milk fat on

- microstructure and fat phase crystallisation. **Food Chemistry**, v.119, p.286-297, 2010.
- SCHENCK, H.; PESCHAR, R. Understanding the structure of chocolate. **Radiation Physics and Chemistry**, v.71, p.829-835, 2004.
 - SHUKLA, V.K.S. Confectionery lipids. In: **Bailey's Industrial Oil & Fats Products**. Ed. SHAHIDI, F. 6.ed. Wiley-Interscience, v4. p.159-173, 2005.
 - SHUKLA, V.K.S.; NIELSEN, W.S.; BATSBERG, W. A simple and direct procedure for the evaluation of triglyceride composition of cocoa butters by high performance liquid chromatography - A comparison with the existing TLC-GC method. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 85, p. 253-294, 2006.
 - SIGMA-ALDRICH. Disponível em: < <http://www.sigmaaldrich.com/brazil.html>>. Acesso em: 14 de janeiro de 2014.
 - SMITH, K.W.; BHAGGAN, K.; TALBOT, G.; MALSSSEN, K.F. Crystallization of fats: influence of minor components and additives. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.88, p.1085-1101, 2011.
 - STAPLEY, A.G.F; HIMAVAN, C.; STAROV, V.M. Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization. **Advances in Colloid and Interface Science**, v.122, p. 3-33, 2006.
 - STROPPA, V.L.Z. **Influência de lecitina e PGPR no processo de microestruturação de chocolate amargo**. Tese de Mestrado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.
 - TIMMS, R.E. Phase behaviour of fats and their mixtures. **Progress in Lipid Research**, v.23, p.1-38, 1984.
 - ULRICH, J.; SZEPE, A.; CHALEEPA, K. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, v.163, p.390-396, 2010.
 - VASANTHAN, T.; BHATTY, R.S. Physicochemical properties of small and large granule starches of waxy, regular, and high amylase barleys. **Cereal Chemistry**, v.73, p. 199-207, 1996.
 - VISSOTTO, F. Z.; SOLER, M. P.; VITALLI, A. A.; LUCCAS, V.; BRAGAGNOLO, N.; TURATTI, J. M.; SZUSTER, R. Propriedades reológicas de chocolates comerciais tipo cobertura. **Coletânea do ITAL**. v. 27, n. 1/2, p. 129-137, 1997.
 - WILLE, R.L.; LUTTON, E.S. Polymorphism of cocoa butter. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.43, p.491-96, 1966.

- WINDHAB, E.; JEELANI, S.; PADAR, S. Crystallization kinetics of cocoa fat systems: experiments and modeling. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.85, p.1115-1126, 2008.
- WINDHAB, E.; SVANBERG, L.; AHRNÉ, L.; LORÉN, N. Effect of sugar, cocoa particles and lecithin on cocoa butter crystallisation in seeded and non-seeded chocolate model systems. **Journal of Food Engineering**, v. 104, p.70-80, 2011.
- WRIGHT, A.J.; NARINE, S.S.; MARANGONI, A.G. Comparison of experimental techniques used in lipid crystallization studies. **Journal of the American Oil Chemists' Society**. Champaign, v.77, p.1239-1242, 2000.
- YAMADA, K.; IBUKI, M.; MCBRAYER, T. Cocoa butter, cocoa butter equivalents, and cocoa butter replacers. In: **Healthful Lipids**. Ed. LAI, O.M.; AKOH, C.C. AOCS Publishing, 2005.
- YAP, P.H.; deMAN, J.M.; deMAN, L. Polymorphism of palm oil and palm oil products. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.66, p.693-697, 1989.

Apêndice A: Conteúdo de gordura sólida

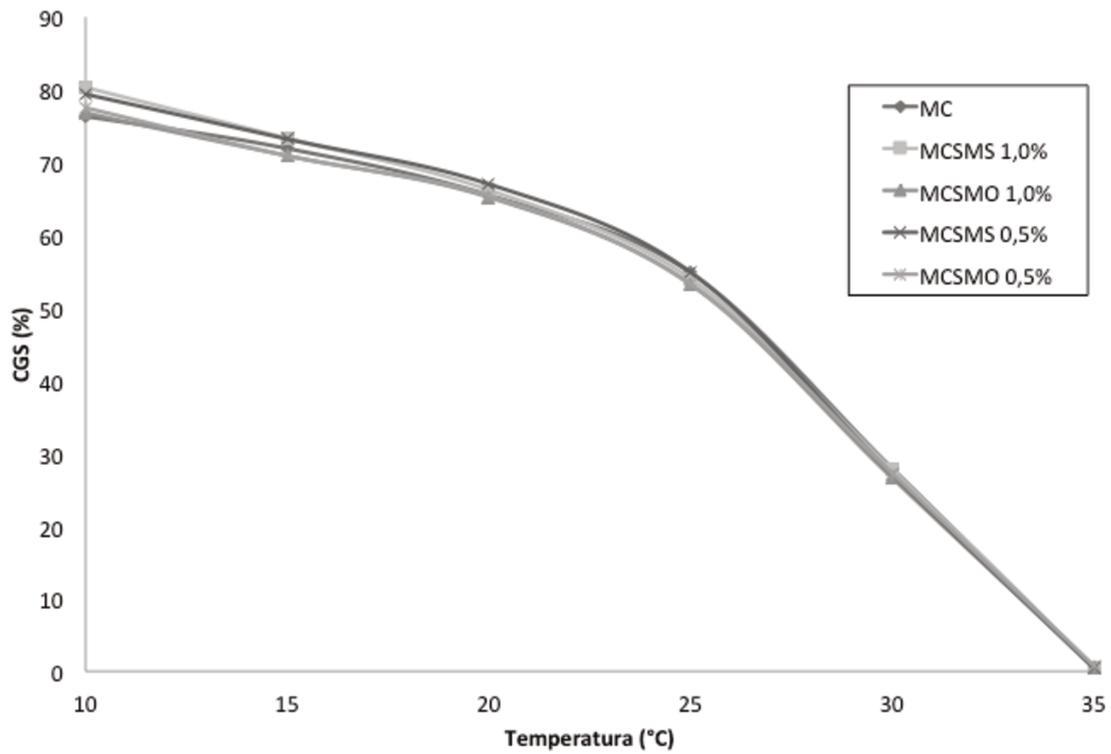


Figura A.1. Conteúdo de gordura sólida (CGS), em %, da manteiga de cacau pura e de misturas de 0,5% e 1,0% de monoestearato e monooleato de sorbitana em função da temperatura (°C).

Apêndice B: Isotermas de cristalização

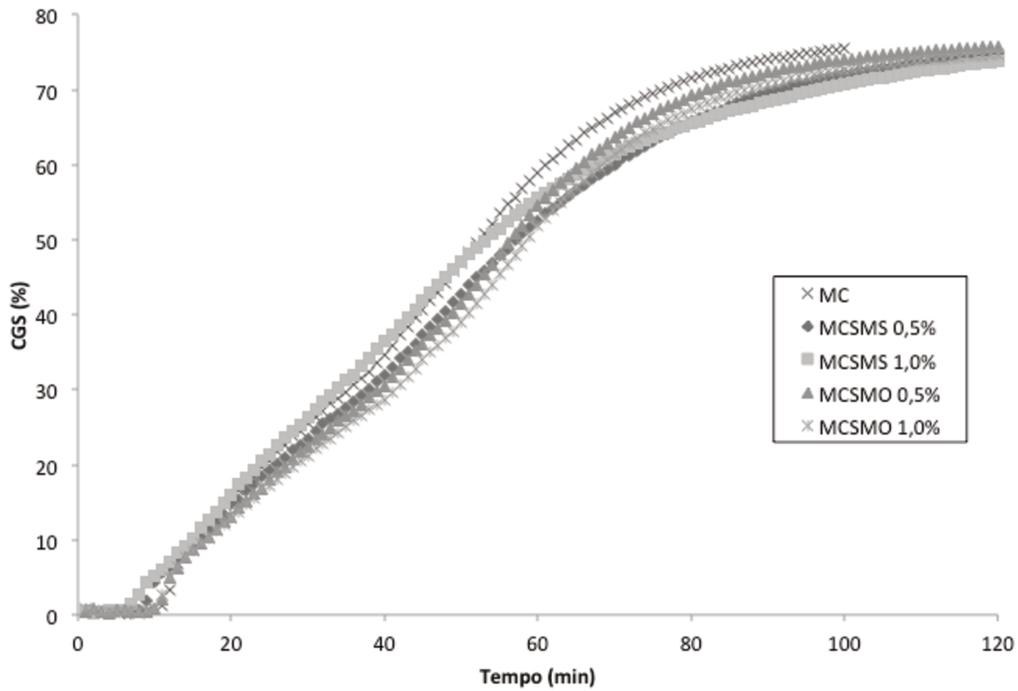


Figura B.1. Isotermas de cristalização à 15°C da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de 0,5 e 1,0% de SMS e SMO, separadamente.

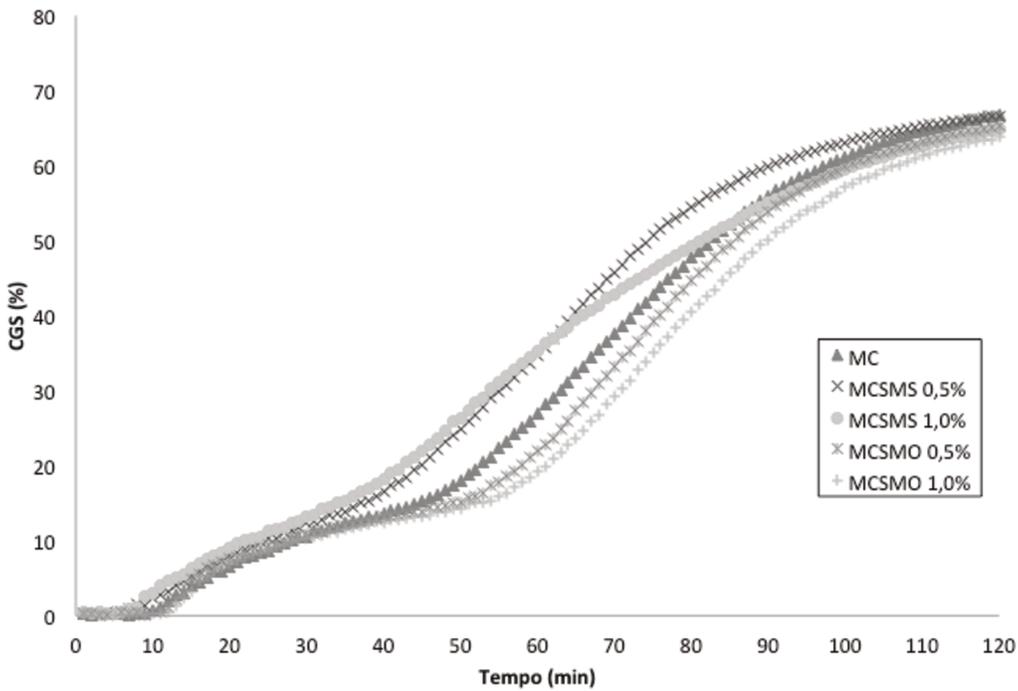


Figura B.2. Isotermas de cristalização à 17,5°C da manteiga de cacau pura e de manteiga de cacau adicionada de 0,5 e 1,0% de SMS e SMO, separadamente.

Apêndice C: Difratomogramas de Raios-X

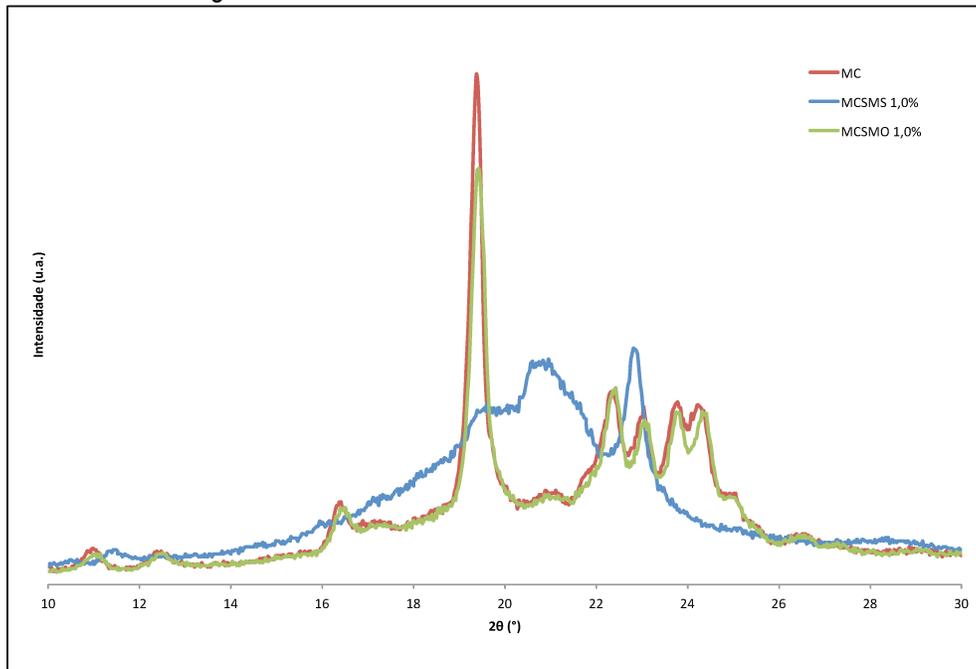


Figura C.1. Difrátograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 1,0% de SMS e de SMO após 10 dias de cristalização à temperatura ambiente.

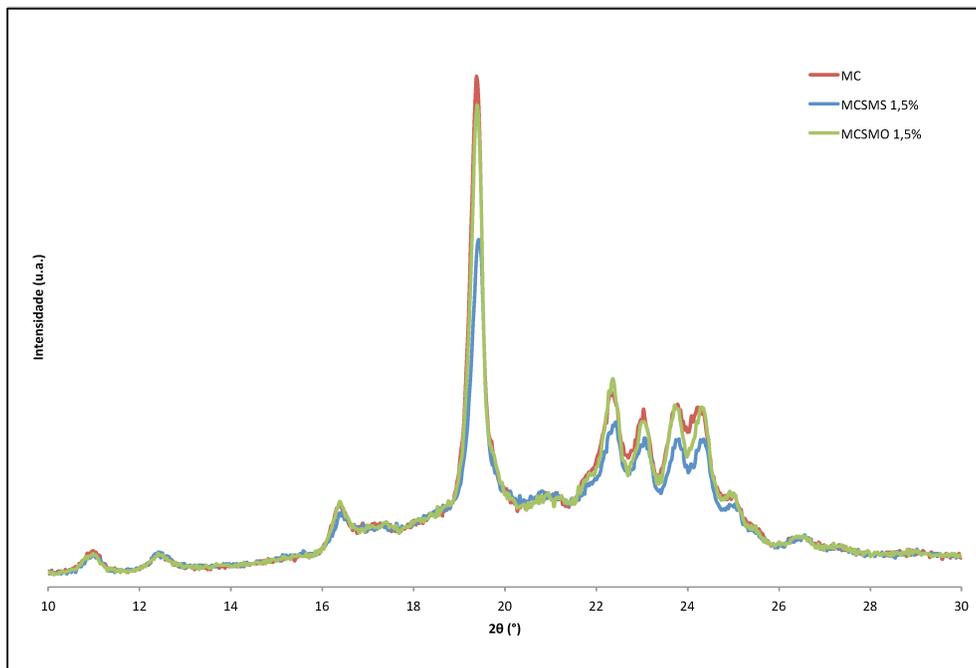


Figura C.2. Difrátograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 1,5% de SMS e de SMO após 10 dias de cristalização à temperatura ambiente.

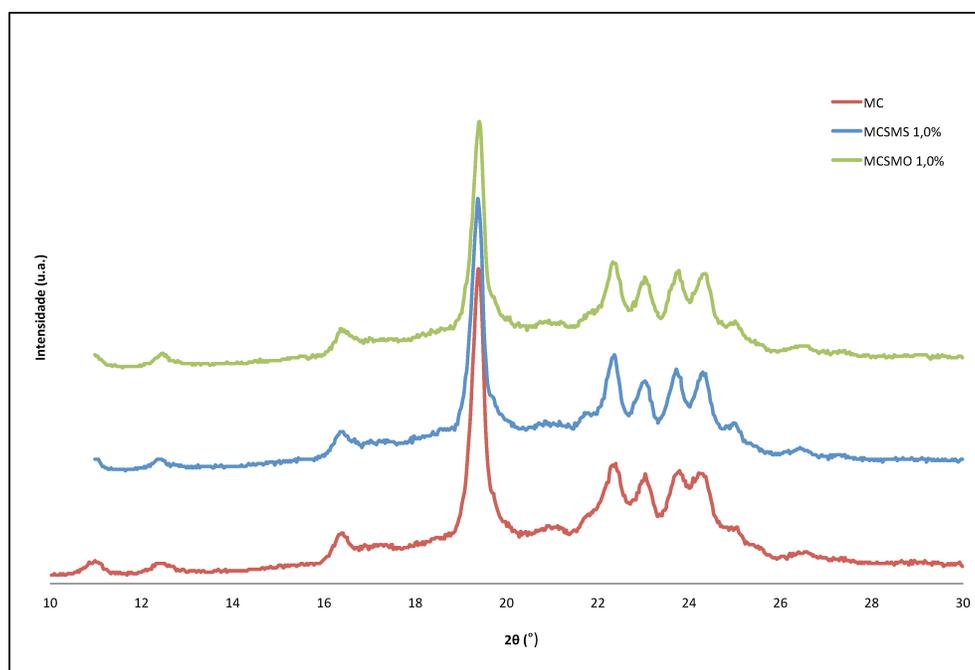


Figura C.3. Difratoograma de Raios-X da manteiga de cacau pura e de misturas adicionadas de 1,0% de SMS e de SMO após 25 dias de cristalização à temperatura ambiente.

Apêndice D: Termogramas de DSC

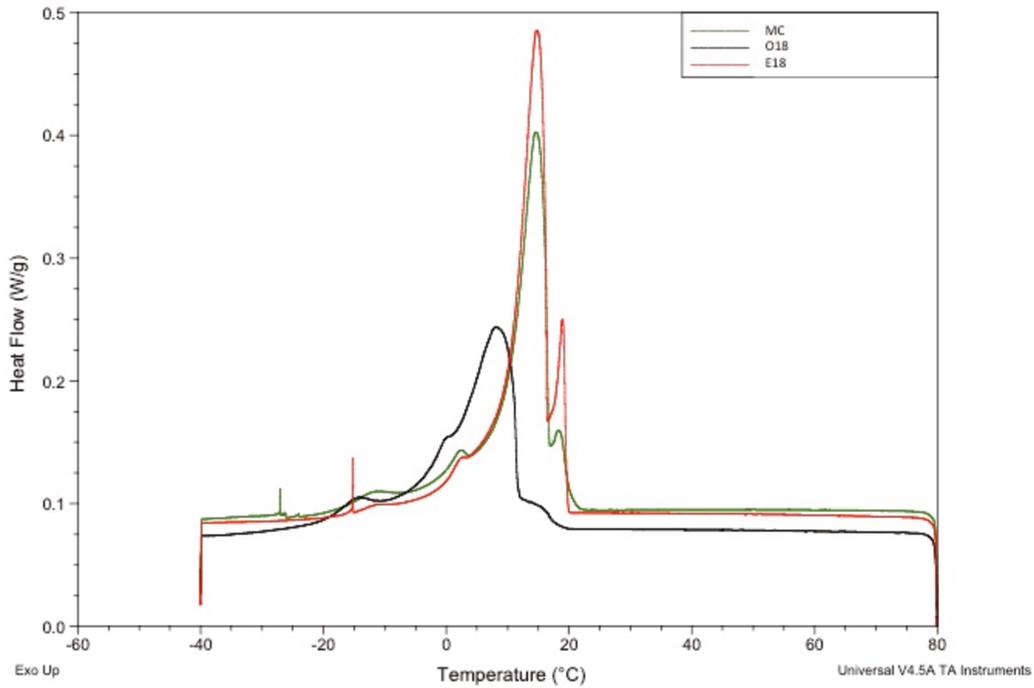


Figura D.1. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau pura (MC) e da estearina (E18) e oleína (O18) obtidas no ensaio de fracionamento #1.

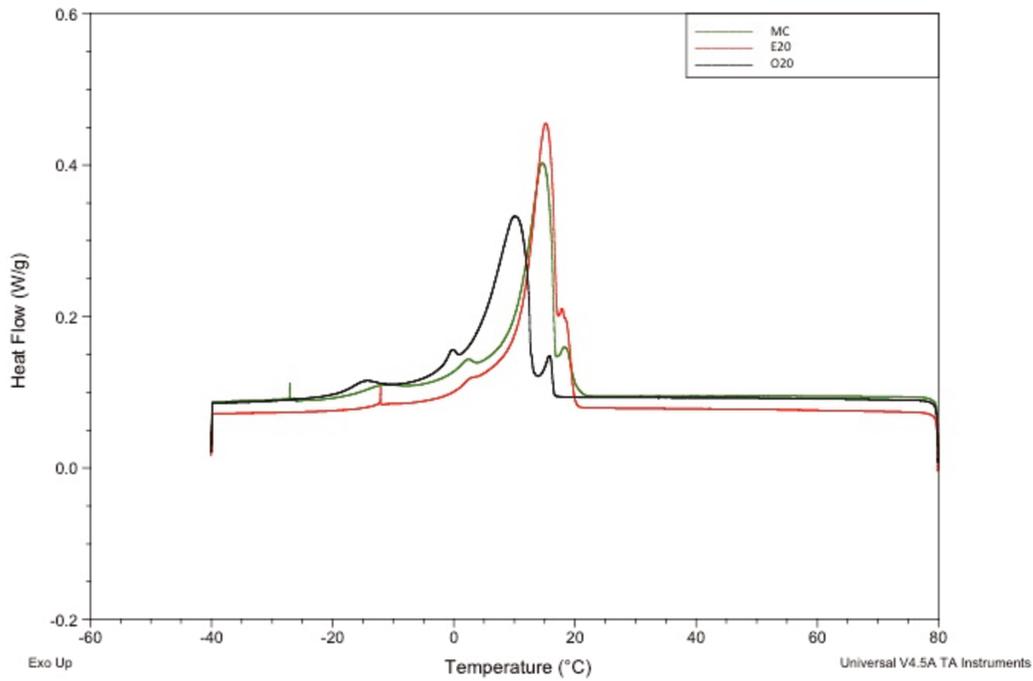


Figura D.2. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau pura (MC) e da estearina (E20) e oleína (O20) obtidas no ensaio de fracionamento #2.

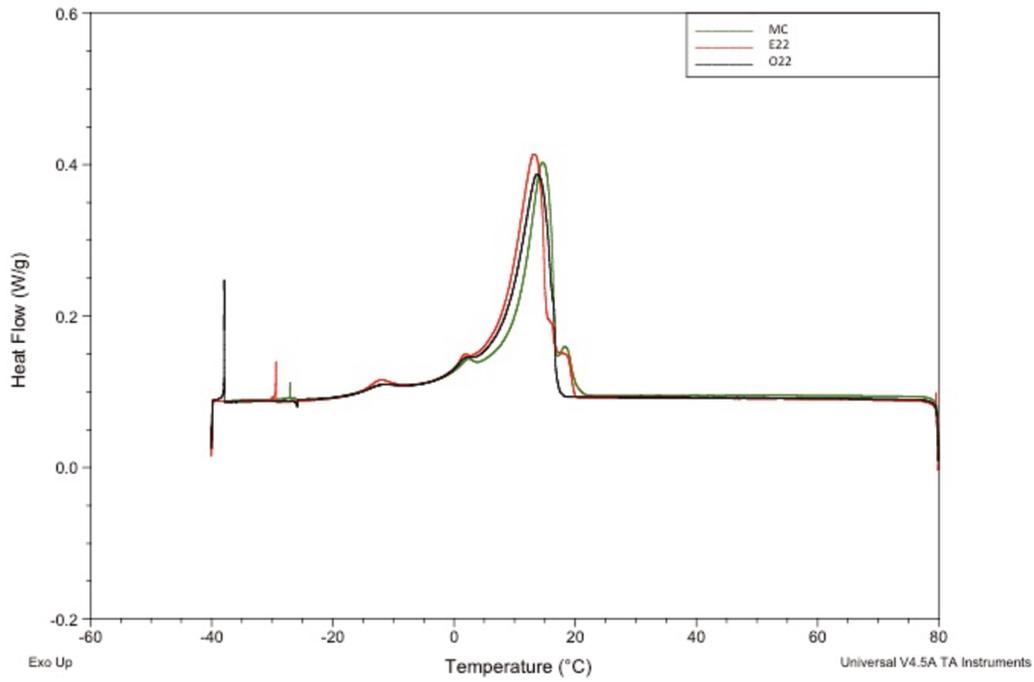


Figura D.3. Eventos de cristalização por DSC da manteiga de cacau pura (MC) e da estearina (E22) e oleína (O22) obtidas no ensaio de fracionamento #3.