

## Cristalização de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de milho

Juliana Neves Rodrigues, Carolina Anton e Luiz Antonio Gioielli\*

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas,  
Universidade de São Paulo

*A partir da mistura de óleos e gorduras e de posterior interesterificação podem ser obtidos lipídios estruturados, que são compostos que apresentam características físicas, químicas e nutricionais diferentes daquelas dos lipídios que lhes deram origem. As principais propriedades físicas destes lipídios, como consistência e plasticidade, podem ser influenciadas por sua estrutura cristalina. O objetivo deste trabalho foi observar modificações na estrutura cristalina de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de milho. As curvas de cinética de cristalização foram construídas a partir do conteúdo de gordura sólida das amostras em função do tempo. A utilização do cálculo dos parâmetros de Avrami permitiu determinar a velocidade de cristalização e os tipos de nucleação e dos cristais formados. A microscopia sob luz polarizada forneceu imagens dos cristais formados pelos métodos de resfriamento lento e rápido, a partir das quais foram determinados os seguintes itens: número de cristais, área cristalizada e dimensões fractais das amostras. A correlação obtida entre os resultados indicou que a adição de óleo de milho não provocou mudanças substanciais na estrutura da rede cristalina da gordura do leite, apenas diminuiu a quantidade de gordura cristalizada. As reações de interesterificação e a adição de óleo de milho não alteraram o tamanho e a forma dos cristais.*

### Unitermos:

- Gordura do leite
- Óleo de milho
- Mistura
- Interesterificação química
- Cristalização

### \*Correspondência:

L.A. Gioielli  
Depto. de Tecnologia Bioquímico-  
Farmacêutica  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
Universidade de São Paulo  
Av. Prof. Lineu Prestes, 580, Bloco 16  
05508-900 - São Paulo - SP  
Brasil  
E-mail: lagio@usp.br

## INTRODUÇÃO

O comportamento de cristalização de lipídios tem implicações muito importantes, principalmente no processamento industrial de produtos cujas características físicas dependem em grande parte de cristais de gorduras, como chocolates, margarinas e *shortenings* (Sato, 2001).

As velocidades de formação dos cristais, o crescimento e as transformações polimórficas são importantes para se determinar o processo e as condições de armazenamento de óleos e gorduras (Herrera *et al.*, 1998).

As gorduras plásticas consistem de uma rede cristalina em matriz oleosa contínua (Rousseau, Hill, Marangoni, 1996a). O comportamento reológico destas

gorduras é consequência das interações entre os cristais que se encontram imersos nesta matriz líquida. As principais forças que levam à formação dessa rede são as forças atrativas de London & Van der Waals. A porção líquida, que é a fase contínua dispersa entre a rede de gordura agregada, em conjunto com a fração sólida, são responsáveis pelo comportamento viscoelástico de uma gordura plástica. Assim, a quantidade de gordura cristalizada e o tipo de cristais presentes nessa matriz gordurosa têm importância primordial no comportamento reológico da gordura (Rousseau, Hill, Marangoni, 1996b).

O processo de cristalização é dividido em duas fases: nucleação e crescimento dos cristais. A nucleação envolve a formação de agregados de moléculas que excederam um tamanho crítico e são, portanto, estáveis (Herrera *et al.*, 1998; Timms, 1995). Um núcleo cristalino começa a crescer pela incorporação de outras moléculas, no cristal em crescimento. Estas moléculas provêm da camada de líquido adjacente, que é continuamente preenchida pelo líquido supersaturado que está ao redor do cristal (Hui, 1996; Larsson, 1994; Timms, 1995). Devido a interações atrativas entre os cristais, estes tendem a formar aglomerados. Os cristais muito grandes que podem ser observados durante a cristalização, são normalmente compostos por vários cristais pequenos unidos por ligações fracas (Hui, 1996).

A caracterização da cinética de cristalização de gorduras geralmente é feita utilizando-se o modelo de Avrami ou suas versões modificadas (Herrera *et al.*, 1998; Herrera *et al.*, 1999; Herrera, Gatti & Hartel, 1999; Marangoni, 1998; Metin & Hartel, 1998; Ng & Oh, 1994; Toro-Vazquez *et al.*, 2000; Wright *et al.*, 2000). A equação de Avrami dá uma indicação da natureza do processo de crescimento dos cristais:

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

onde  $CGS(t)$  descreve o conteúdo de gordura sólida como função do tempo,  $CGS(\infty)$  é o limite do conteúdo de gordura sólida conforme o tempo tende ao infinito,  $k$  é a constante de Avrami e  $n$  é o expoente de Avrami.

No estudo de gorduras, esta equação descreve um evento no qual há um período lag inicial, em que a cristalização ocorre muito lentamente, e, subsequentemente, rápido aumento da massa cristalina. A teoria de Avrami considera que a cristalização ocorre tanto pela nucleação quanto pelo crescimento dos cristais e assume que as condições de transformação são isotérmicas (Wright *et al.*, 2000).

Os parâmetros de Avrami fornecem informações sobre a natureza do processo de cristalização. A constan-

te  $k$  representa a velocidade de cristalização. Depende principalmente da temperatura de cristalização e leva em consideração tanto a nucleação quanto a velocidade de crescimento dos cristais. O expoente de Avrami  $n$  indica o mecanismo de crescimento dos cristais. Este parâmetro é uma função combinada da dependência do tempo por parte da nucleação e do número de dimensões em que o crescimento ocorre. A Tabela I mostra o valor do expoente de Avrami,  $n$ , esperado para vários tipos de nucleação (1, 2 ou 3) e crescimento (0 ou 1) (Wright *et al.*, 2000).

**TABELA I** - Valores do expoente de Avrami,  $n$ , para diferentes tipos de nucleação e crescimento

$n$	Tipo de crescimento do cristal e nucleação esperados
3+1=4	Crescimento esferulítico a partir de núcleos esporádicos
3+0=3	Crescimento esferulítico a partir de núcleos instantâneos
2+1=3	Crescimento em forma de disco a partir de núcleos esporádicos
2+0=2	Crescimento em forma de disco a partir de núcleos instantâneos
1+1=2	Crescimento em forma de agulha a partir de núcleos esporádicos
1+0=1	Crescimento em forma de agulha a partir de núcleos instantâneos

A geometria fractal surgiu como maneira de quantificar objetos naturais com estrutura geométrica complexa, em que era deficiente a quantificação pelos métodos da geometria euclidiana regular. Na geometria euclidiana clássica, os objetos têm dimensões integrais: uma linha é um objeto de uma dimensão, um plano tem duas dimensões e um volume é um objeto de três dimensões (Narine, Marangoni, 1999a).

A estrutura de diversos elementos (montanhas, costas de continentes, rios, o sistema vascular, géis, turbulências e redes cristalinas) não pode ser prontamente descrita pelos conceitos da geometria euclidiana. A geometria fractal permite descrever e entender muitas destas estruturas e processos (Marangoni, Rousseau, 1996).

Uma das características mais importantes dos objetos fractais é sua similaridade, ou, em outras palavras, objetos fractais parecem iguais em diferentes magnitudes, pelo menos em uma certa faixa de escalas. Em 1992,

Vreeker *et al.* demonstraram que partículas de gordura agregadas em matriz oleosa apresentavam estrutura fractal.

Lipídios estruturados podem ser definidos como triacilgliceróis reestruturados ou modificados para alterar a composição em ácidos graxos e/ou sua distribuição nas moléculas de glicerol a fim de obter alguma propriedade desejável, como valor calórico reduzido ou comportamento de fusão alterado. Os lipídios estruturados podem propiciar o meio mais efetivo de fornecimento de ácidos graxos desejados para fins nutritivos ou terapêuticos. As reações de interesterificação química e enzimática são os métodos de escolha para a produção dos lipídios estruturados (Gioielli, 2002).

O sabor da manteiga é muito apreciado pelo consumidor, o que pode ser confirmado pelo grande número de produtos com aroma de manteiga presentes no mercado (Kaylegian, 1999). Contudo, devido à presença de grande quantidade de ácidos graxos saturados e colesterol na manteiga e por existirem estudos que demonstram que os riscos de doenças do coração podem ser diminuídos baixando-se o nível de colesterol no sangue, o consumo de manteiga tem caído, devido principalmente a preocupações com a saúde e o bem-estar, já que os hábitos alimentares das pessoas mudaram drasticamente nas últimas décadas (Richards, Gioielli, 1999; Rodrigues, Gioielli, Anton, 2003). A mistura de manteiga com óleos vegetais, que são líquidos à temperatura de refrigeração pode levar a produtos que equilibram a nutrição com as características organolépticas desejáveis e custos de produção mais baixos. A principal tendência está em incorporar o máximo possível de óleo líquido monoinsaturado ou poliinsaturado a esses produtos (Rousseau *et al.*, 1996; Marangoni, Rousseau, 1998b; Rodrigues, Gioielli, 2003). O óleo de milho é tido como um dos óleos mais saudáveis, pois contém em sua maioria ácidos graxos insaturados, principalmente o ácido linoléico, um ácido graxo poliinsaturado da série  $\omega$ -6 (Hui, 1996).

O objetivo deste estudo foi observar as modificações na estrutura cristalina de lipídios estruturados obtidos a partir de gordura do leite e óleo de milho, utilizando a microscopia sob luz polarizada, e determinar a dimensão fractal das amostras.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Material

#### Matéria-prima

A gordura do leite foi obtida a partir da Manteiga Paulista Extra, por fusão completa à temperatura de

60-70 °C em forno de microondas para desfazer a emulsão e separar a fase gordurosa da aquosa e filtração em papel filtro realizada em estufa a 50 °C para retirada dos sólidos e da fase aquosa. O óleo de milho refinado Mazola foi utilizado sem tratamento adicional. Ambas as matérias-primas foram adquiridas no varejo. A composição em ácidos graxos da gordura do leite e do óleo de milho foi apresentada nos trabalhos de Rodrigues, Gioielli, Anton (2003) e de Rodrigues e Gioielli (2003). A gordura do leite contém 66,6% de ácidos graxos saturados, ao passo que o óleo de milho possui 15,9% destes ácidos graxos.

### Métodos

#### Preparação dos lipídios estruturados

As misturas de gordura do leite e óleo de milho foram preparadas nas proporções mencionadas na Tabela II, após fusão completa à temperatura de 60-70 °C e novamente solidificadas, sendo armazenadas sob resfriamento.

**TABELA II** - Planejamento experimental das misturas de gordura do leite e óleo de milho

Mistura (n°)	Componentes (Proporção em massa)	
	Gordura do leite	Óleo de milho
1	1	0
2	0,8	0,2
3	0,6	0,4
4	0,4	0,6

Os lipídios estruturados foram preparados por interesterificação de 350 g de cada mistura, previamente seca em balão de vidro, sob pressão reduzida, acoplado a um rotaevaporador em banho de água a, aproximadamente, 95 °C. A essa porção foi misturado 0,5% (m/m) de catalisador metóxido de sódio, obtido por evaporação sob pressão reduzida do álcool da solução de metóxido de sódio a 30%, em banho de água a 80 °C. A reação de interesterificação foi realizada sob agitação constante, sob pressão reduzida, a 65-70 °C em balão de três bocas imerso em banho de água a 75 °C, por 1 hora. Para interromper a reação adicionou-se água destilada. Para minimizar o escurecimento decorrente da reação e para reter a umidade foram adicionados sílica em pó e sulfato de sódio anidro, respectivamente. Os reagentes foram filtrados a quente utilizando-se papel filtro.

#### Cinética de cristalização

A cinética de cristalização foi realizada através da determinação do conteúdo de gordura sólida por ressonân-

cia magnética nuclear (RMN), utilizando aparelho Maran Ultra Bench Top NMR, de 20 MHz, segundo as normas da American Oil Chemists' Society (1992), método Cd 16b-93. As amostras foram analisadas em duplicata. O seguinte tratamento térmico foi usado: as misturas já acondicionadas nos tubos de RMN foram fundidas e mantidas a 60 °C por 15 min, depois a 40 °C por mais 15 minutos e então colocadas em banho na temperatura de cristalização. As temperaturas de cristalização foram 20, 10 e 3 °C. O conteúdo de gordura sólida foi medido como função do tempo, até 90 min. A equação de Avrami original (Wright *et al.*, 2000) foi linearizada e aplicada aos resultados obtidos.

$$\ln \left\{ -\ln \left[ 1 - \frac{CGS(t)}{CGS(\infty)} \right] \right\} = \ln k + n \ln t$$

Onde:

CGS(t) = conteúdo de gordura sólida no tempo t

CGS(∞) = conteúdo de gordura sólida máximo, obtido quando a cristalização foi finalizada

k = constante de Avrami (min<sup>-1</sup>)

t = tempo (min)

n = expoente de Avrami

#### Microscopia sob luz polarizada

As amostras, para observação por microscopia, foram fundidas e usando um tubo capilar foi colocada uma gota de gordura sobre uma lâmina de vidro pré-aquecida a 50 °C e cobriu-se com uma lamínula. O resfriamento das lâminas preparadas foi realizado de duas maneiras:

- Resfriamento rápido: A lâmina preparada foi colocada em banho de água a 15 °C, por duas horas. As amostras foram, então, observadas em microscópio de luz polarizada com aumento de 100 vezes.
- Resfriamento lento: A lâmina preparada foi colocada em estufa a 15 °C por 24 horas. As amostras foram observadas com aumento de 40 vezes.

O microscópio de luz polarizada (Olympus) é ligado a uma câmera de vídeo (Sony). A imagem é digitalizada pelo programa de computador Image Pro-Plus versão 1.3.2 (Media Cybernetics). A partir das imagens vistas através do microscópio, para cada lâmina foi escolhido um campo representativo da lâmina. A esta imagem digitalizada foi aplicada a ferramenta "threshold" com um valor fixo de 90/255, o que permite que todos os elementos microestruturais sejam vistos da cor branca, abrangendo os elementos sólidos que estão fora de foco, e todo o líquido se restrinja à cor preta. Foram determinados os diâmetros dos cristais, a razão entre a área cristalizada e a área total e as dimensões fractais (Simões, Gioielli, 1999b; Simões, Gioielli, 2000; Sotero-Solis, Gioielli, 2001).

#### Dimensão fractal

A partir das imagens digitalizadas da microestrutura das amostras obtidas pela microscopia sob luz polarizada realizou-se o cálculo das dimensões fractais a partir da seguinte equação (Narine, Marangoni, 1999a, 1999b):

$$\log[N(R)] = \log c + D \log R$$

Onde:

[N(R)] = número de partículas no fractal de longitude R;

c = constante;

D = dimensão fractal;

R = longitude de um lado do segmento, longitude de um lado do quadrado ou longitude de um lado do cubo que cobre o fractal.

Para o cálculo da dimensão fractal, realizou-se a contagem de elementos microestruturais, N(R), projetados em um quadrado de lado R. Esta contagem representa o número de partículas presentes em um cubo de longitude R através do fractal (Narine, Marangoni, 1999a, 1999b). Os resultados obtidos a partir deste método atingem valor máximo de 2, não sendo adequado para caracterização volumétrica do material a ser analisado, em decorrência do cálculo ser baseado em imagem de até duas dimensões.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1, 2, 3 e 4 apresentam as curvas de cinética de cristalização das misturas 1, 2, 3 e 4, respectivamente, antes e depois da interesterificação, que foram construídas a partir do conteúdo de gordura sólida em função do tempo.

As curvas de cinética de cristalização da gordura do leite (mistura 1) a 3 e a 10 °C não apresentaram o período de indução descrito pelo modelo de Avrami, na qual a cristalização ocorre lentamente. As curvas apresentaram duas fases de aumento rápido no CGS: uma no início, seguida de um período de pequeno aumento no CGS, que pode ser devido à liberação de calor proveniente da cristalização de grande parte dos triacilgliceróis da gordura do leite; outra fase de aumento rápido no CGS e, finalmente, o equilíbrio atingido no ponto máximo de cristalização. A 20 °C o período de indução foi observado e a curva apresentou formato sigmoidal, característico do modelo de Avrami.

Segundo Herrera, Gatti, Hartel (1999), para resfriamento lento das misturas de gordura do leite, com temperaturas de cristalização acima de 25 °C, as curvas de CGS em função do tempo apresentaram formato sigmoidal com um período de indução de cristalização no começo. Para resfriamento rápido, a temperaturas abaixo de 25 °C, não

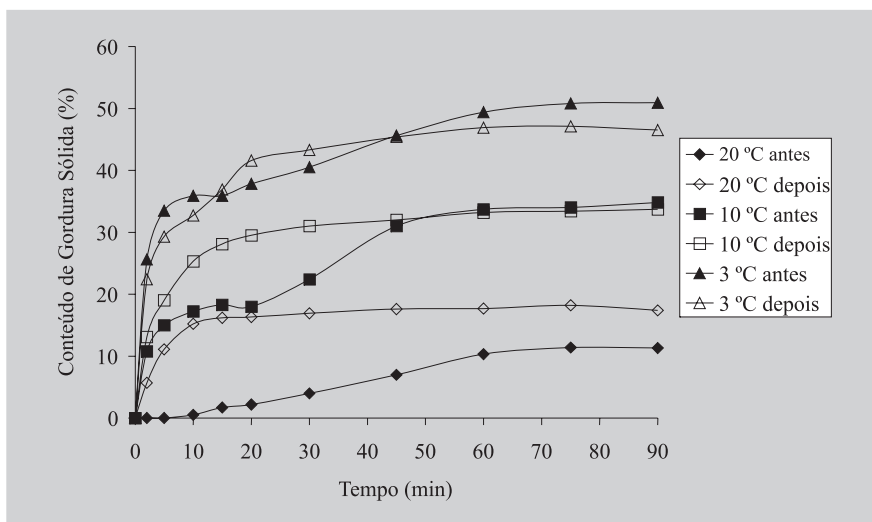


FIGURA 1 - Cinética de cristalização da mistura 1 (gordura do leite) antes e depois da interesterificação.

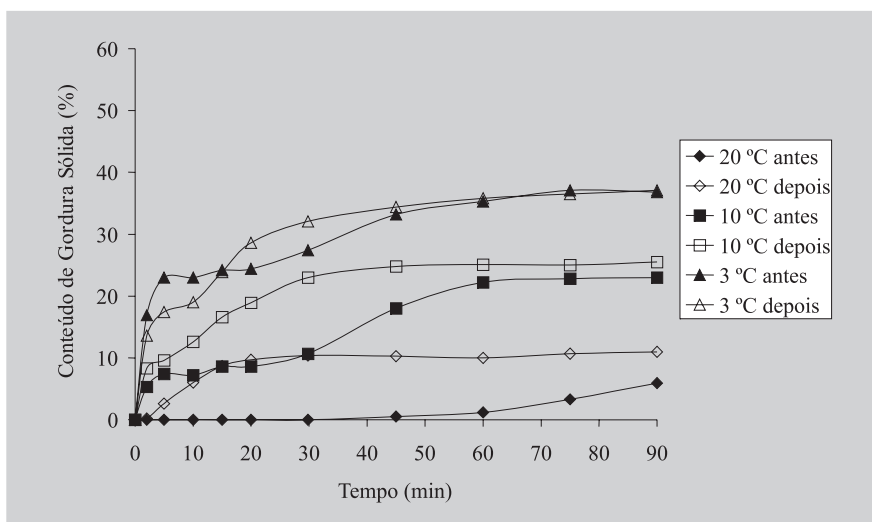


FIGURA 2 - Cinética de cristalização da mistura 2 (80:20) antes e depois da interesterificação.

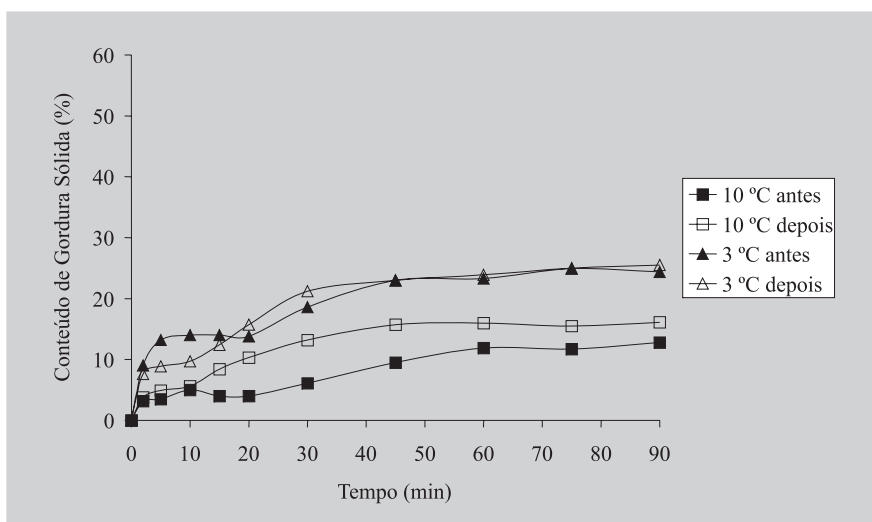
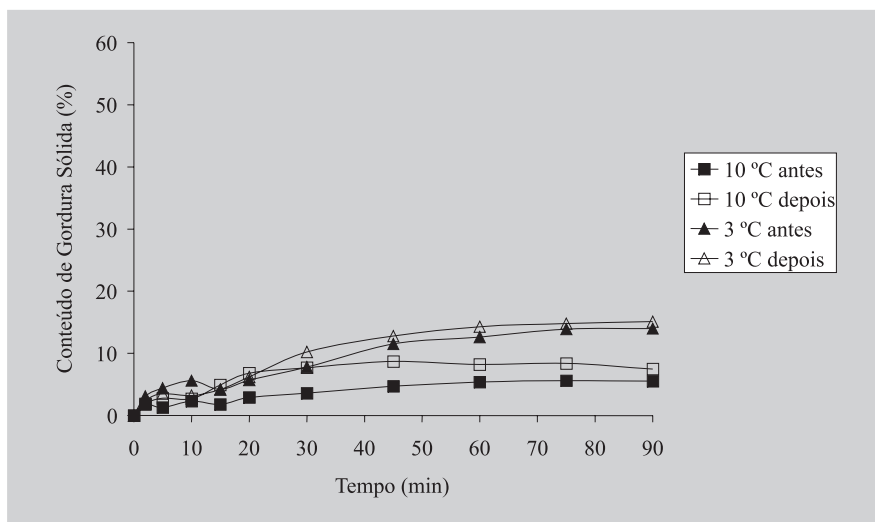


FIGURA 3 - Cinética de cristalização da mistura 3 (60:40) antes e depois da interesterificação.





**FIGURA 4** - Cinética de cristalização da mistura 4 (40:60) antes e depois da interesterificação.

se observou período de indução e a cristalização ocorreu rapidamente.

As misturas 2 e 3, contendo 20 e 40% de óleo de milho, respectivamente, apresentaram o mesmo comportamento da mistura 1, porém os conteúdos de gordura sólida atingidos no equilíbrio foram menores. A 20 °C, a mistura 3 já não apresentou sólidos. As curvas de cinética de cristalização da mistura 4 não apresentaram formato condizente com o modelo de Avrami, possivelmente porque o CGS máximo atingido foi de 14% a 3 °C, valor que por ser muito baixo, pode levar a erros. Conclui-se, então, que a adição de até 40% de óleo de milho não modificou o formato das curvas de cristalização das misturas, apenas diminuiu seu CGS durante todo o tempo da análise.

A interesterificação, por outro lado, modificou o formato das curvas da gordura do leite a 10 e a 20 °C. Nestas temperaturas, esta gordura interesterificada apresentou curva hiperbólica, provavelmente pelo fato de a interesterificação desfazer o grupo de triacilgliceróis que cristalizou neste período na gordura do leite original, liberando calor e produzindo uma curva sigmoidal. A 3 °C, porém, não houve mudança no formato da curva, cujo comportamento foi igual ao da gordura do leite antes da reação.

No caso da mistura 2, a interesterificação não modificou o comportamento das curvas. A 20 °C a curva também apresentou formato sigmoidal, porém com período de indução muito mais curto. A mistura 3 interesterificada, assim como antes da reação, não apresentou sólidos a 20 °C. A 3 e a 10 °C a reação não modificou o formato das curvas, que não apresentaram período de indução e tiveram as duas fases de aumento de CGS já comentadas. Não foram observadas mudanças no comportamento da mistura 4 depois da interesterificação.

A Tabela III apresenta os parâmetros de Avrami das misturas 1, 2, 3 e 4 antes e depois da interesterificação. A constante de velocidade de cristalização de Avrami ( $k$ ) das misturas 1, 2 e 3 antes e depois da interesterificação aumentou com a diminuição da temperatura, já que este processo ocorre mais rapidamente quanto mais baixa for a temperatura. O valor de  $k$  decresce conforme a porcentagem de gordura do leite diminui, pois no processo de cristalização é necessária a supersaturação da solução a uma dada temperatura (Simões, Gioielli, 1999a). Em misturas com menores teores de gordura de leite a cristalização foi dificultada, devido à menor supersaturação do meio, causando diminuição da velocidade de cristalização. Não foi possível verificar a influência da interesterificação na velocidade de cristalização, pois os valores de  $k$  apresentaram oscilações. Porém, observando-se as curvas de cinética de cristalização, verifica-se que a maioria das misturas depois da reação, apresentava maior porcentagem de gordura sólida ao final da cristalização.

O expoente de Avrami ( $n$ ), que indica o mecanismo de crescimento dos cristais, não apresentou diferenças substanciais com a diminuição da temperatura de cristalização, nem com a adição de óleo de milho para todas as misturas nas três temperaturas analisadas. Os valores de  $n$  permaneceram na mesma faixa, indicando o mesmo tipo de nucleação e formato de cristais, não atingindo valores maiores que 1,0, caracterizando cristais tipo agulha. A gordura do leite à temperatura de 20 °C apresentou valor de  $n$  de 2,01, que também caracteriza cristais tipo agulha, segundo indicado na Tabela I.

Wright *et al.* (2000) obtiveram resultados da constante de Avrami ( $k$ ) e do expoente de Avrami ( $n$ ) para misturas de gordura do leite. Para 20 e 10 °C, respectiva-

mente, obtiveram valores de  $4,0 \times 10^{-3}$  e  $1,7 \times 10^{-1} \text{ min}^{-1}$  para a constante  $k$  e 1,52 e 0,61 para o expoente  $n$ . Comparando-se estes resultados aos valores obtidos na cinética de cristalização para  $k$  e  $n$  da mistura 1, verifica-se que há excelente concordância entre os resultados.

**TABELA III** - Constante de Avrami ( $k$ ), expoente de Avrami ( $n$ ) e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) das misturas antes e depois da interesterificação

Temperatura (°C)	$k$ ( $\text{min}^{-k}$ )	$n$	$R^2$
Mistura 1 (100:0)			
20	$4,7 \times 10^{-3}$	2,05	0,981
10	$1,9 \times 10^{-1}$	0,60	0,800
3	$4,9 \times 10^{-1}$	0,40	0,859
Mistura 1ie (100:0)			
20	$2,8 \times 10^{-1}$	0,73	0,730
10	$3,2 \times 10^{-1}$	0,63	0,991
3	$4,1 \times 10^{-1}$	0,54	0,968
Mistura 2 (80:20)			
20	-	-	-
10	$1,2 \times 10^{-1}$	0,63	0,706
3	$4,2 \times 10^{-1}$	0,41	0,821
Mistura 2ie (80:20)			
20	$1,8 \times 10^{-2}$	1,43	0,860
10	$1,5 \times 10^{-1}$	0,80	0,923
3	$2,4 \times 10^{-1}$	0,62	0,939
Mistura 3 (60:40)			
20	-	-	-
10	$1,3 \times 10^{-1}$	0,60	0,650
3	$2,8 \times 10^{-1}$	0,51	0,823
Mistura 3ie (60:40)			
20	-	-	-
10	$1,0 \times 10^{-1}$	0,87	0,839
3	$1,5 \times 10^{-1}$	0,67	0,880

ie = interesterificada

A Figura 5 mostra a estrutura cristalina das amostras antes e depois da interesterificação por cristalização rápida a 15 °C. A partir da análise destas imagens, foi elaborada a Tabela IV, que mostra o número total de cristais contados em uma imagem, os valores médios dos diâmetros dos cristais das misturas, e as razões entre a área cristalizada e a área total da imagem.

A Tabela IV mostra que tanto a adição de óleo de milho quanto a interesterificação não provocaram diferença significativa entre os diâmetros dos cristais das amostras. É provável que o aplicativo Image Pro Plus tenha considerado aglomerados de cristais das misturas 1, 2 e 3

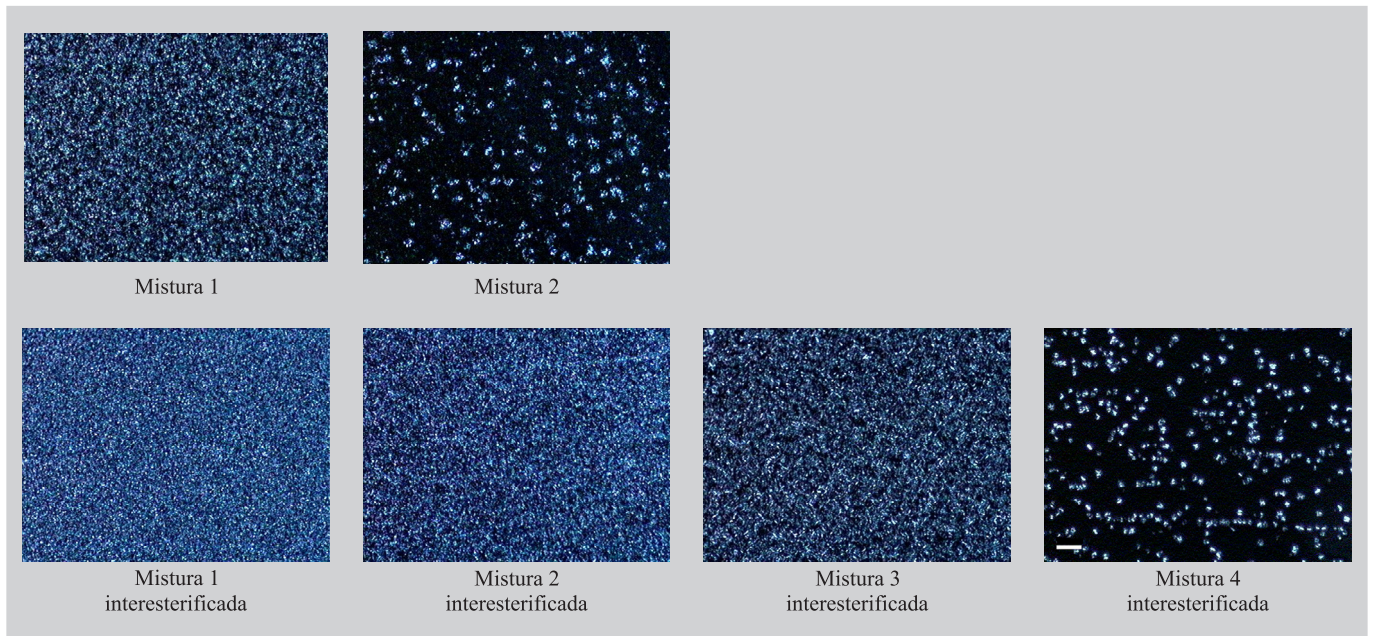
como sendo um único cristal. Dessa forma, os diâmetros reais talvez sejam efetivamente menores que os valores descritos na Tabela IV. A mesma justificativa pode ser aplicada ao número total de cristais. Para as misturas após a interesterificação, o número total de cristais diminuiu em grande extensão para a mistura 4.

Pela Figura 5, observa-se que houve formação de aglomerados irregulares de pequenos cristais nas amostras com até 40% de óleo de milho (mistura 3). A maioria dos cristais apresentou diâmetro na faixa de 5 - 8  $\mu\text{m}$ . Os altos valores do desvio-padrão em relação à média do diâmetro, ou seja, altos coeficientes de variação, são característicos de gorduras cristalizadas quando observadas sob luz polarizada (Rousseau, Hill, Marangoni, 1996a).

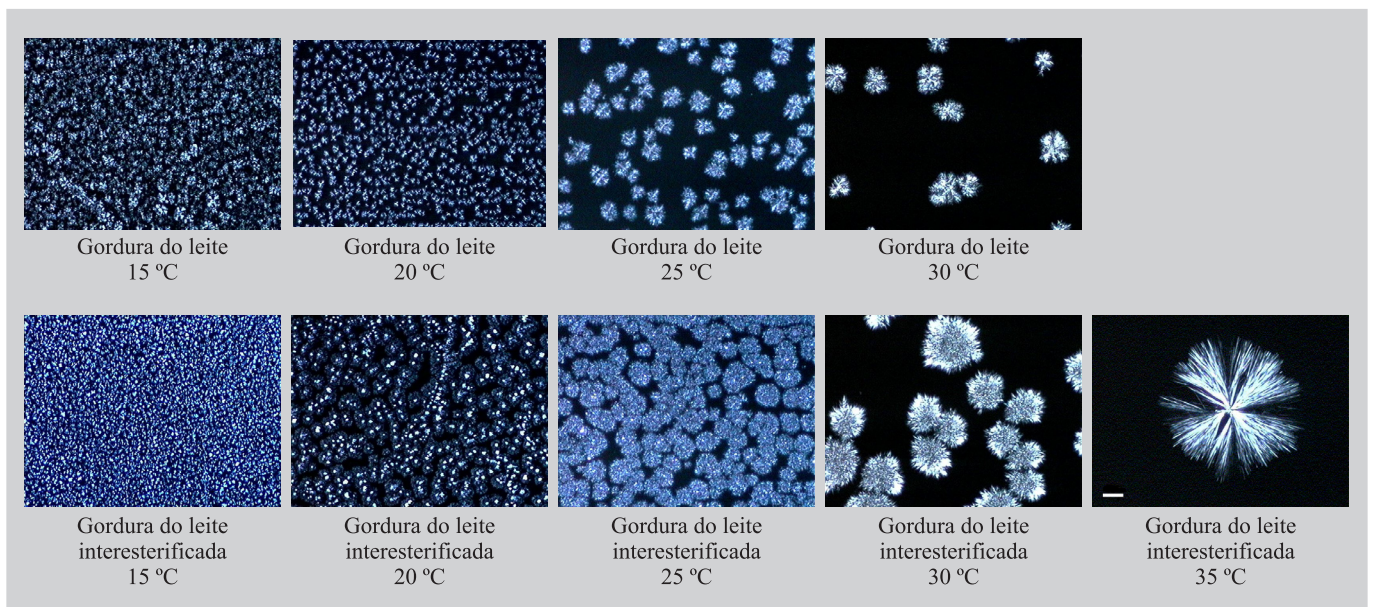
As áreas de gordura cristalizada, apresentadas na Tabela IV, diminuíram com a adição de óleo de milho. Assim, a adição de óleo de milho provocou diminuição da quantidade de gordura cristalizada, porém, sem provocar alterações na microestrutura da rede cristalina. Esta afirmação pode ser confirmada pelos valores obtidos para os parâmetros de Avrami, da cinética de cristalização. A constante de Avrami ( $k$ ), que representa a velocidade de cristalização das gorduras, em geral diminuiu com a adição de óleo de milho para amostras cristalizadas à mesma temperatura. Se a velocidade de cristalização diminuiu, foram formados cristais em menor quantidade. O expoente de Avrami ( $n$ ), que representa a forma de nucleação e tipo dos cristais, apresentou valores próximos de 1 para todas as misturas (com exceção da mistura 1 a 20 °C, que apresentou  $n = 2,05$ ), o que significa que não houve mudança da estrutura dos cristais com a adição de óleo de milho.

O resfriamento rápido a baixa temperatura seguido de agitação intensa leva à formação dos cristais pequenos encontrados na margarina, na faixa de 0,1 a 20  $\mu\text{m}$  (Timms, 1995; Gioielli, 1996). Os processos industriais de fabricação de manteiga e de *spreads* em geral se utilizam da cristalização rápida das gorduras (Richards, Gioielli, 1999). Por este motivo o método de resfriamento rápido das lâminas foi o escolhido para se realizarem as análises quantitativas relativas à cristalização.

A Figura 6 mostra imagens da gordura do leite pura antes e depois da interesterificação cristalizada pelo método lento em diferentes temperaturas, desde 15 °C até que não houvesse mais formação de cristais. O aumento da temperatura provocou aumento no tamanho dos cristais. Pelo fato de a taxa de nucleação aumentar exponencialmente com o aumento da supersaturação e a taxa de crescimento dos cristais aumentar apenas proporcionalmente à supersaturação, o número de cristais aumenta e o tamanho dos cristais diminui quando a cristalização ocorre a baixas temperaturas (Timms, 1995).



**FIGURA 5** - Imagens digitalizadas das misturas 1 e 2 antes da interesterificação e das misturas 1, 2, 3 e 4 depois da reação, por resfriamento rápido a 15 °C, com aumento de 100x. A barra representa 50  $\mu$ m.



**FIGURA 6** - Imagens digitalizadas da mistura 1 antes e depois da interesterificação, por resfriamento lento a 15, 20, 25, 30 e 35°C, com aumento de 40x. A barra representa 50  $\mu$ m.

A gordura do leite apresentou uma densa rede de esferulitos irregulares de tamanhos variados, em geral, pequenos a baixas temperaturas. Outras formas irregulares e mal definidas também puderam ser observadas.

O método de cristalização lenta apresenta pouca reprodutibilidade, sendo encontradas grandes divergências entre a mesma amostra cristalizada sob as mesmas condições em experimentos diferentes.

A Tabela V apresenta as dimensões fractais das misturas 1 e 2 antes da interesterificação e das misturas 1, 2, 3 e 4 depois da reação, resfriadas pelo método rápido a 15 °C. Assim como o expoente de Avrami ( $n$ ), as dimensões fractais das misturas apresentaram pequena variação, de 1,69 a 2,00. Narine e Marangoni (1999a, 1999b) obtiveram resultado semelhante, em que a gordura do leite apresentou valor de 2,01 e a gordura do leite interesterifi-



**TABELA IV** - Diâmetro e área dos cristais das misturas antes e depois da interesterificação, por cristalização rápida a 15 °C

Mistura	Contagem Total (n°)	D <sub>Med</sub> ± DP (µm)	Área ± DP (%)
Antes			
1	4.264	7,51 ± 3,75	19,79 ± 1,24
2	1.677	6,90 ± 3,22	3,54 ± 0,65
Depois			
1	5.572	6,05 ± 2,00	32,19 ± 0,91
2	5.170	5,83 ± 1,94	28,28 ± 7,90
3	4.097	5,42 ± 1,83	15,04 ± 3,27
4	681	8,98 ± 3,27	6,22 ± 0,47

Contagem total = número total de cristais presentes em uma imagem; D<sub>Med</sub> = média dos diâmetros dos cristais; Área = razão entre a soma das áreas de todos os cristais e a área total da imagem; DP = desvio padrão.

**TABELA V** - Dimensão fractal das misturas a 15 °C antes e depois da interesterificação

Mistura	Dimensão fractal ± DP
Antes	
1	1,98 ± 0,02
2	1,69 ± 0,01
Depois	
1	1,93 ± 0,08
2	1,95 ± 0,10
3	1,99 ± 0,01
4	2,00 ± 0,21

cada quimicamente apresentou valores de 1,96. Richards (2001) observou valores da dimensão fractal da gordura do leite na mesma faixa, variando de 1,81 a 2,15.

A Figura 7 é um exemplo do cálculo das dimensões fractais das misturas, exemplificada para a gordura do leite antes da interesterificação a 15 °C.

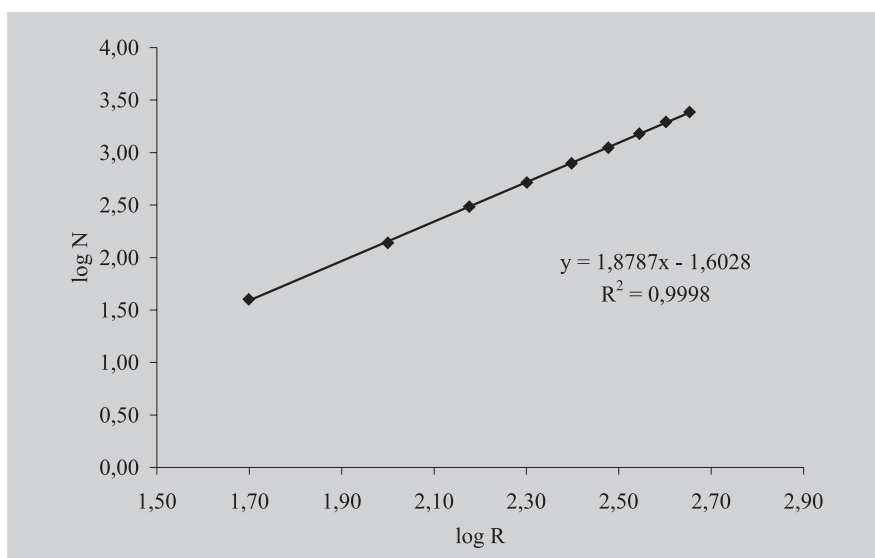
## CONCLUSÕES

A adição de óleo de milho não provocou mudanças substanciais na estrutura da rede cristalina da gordura do leite, apenas diminuiu a quantidade de gordura cristalizada. A interesterificação provocou aumento na proporção de gordura cristalizada nas misturas, além de tornar a cristalização mais homogênea.

## ABSTRACT

### Crystallization of structured lipids from milkfat and corn oil

*Structured lipids can be obtained by blending and chemical interesterification of fats and oils, resulting in products with physical, chemical and nutritional characteristics that are different from the original lipids. The most important physical properties of these lipids, such as consistency and plasticity, may be influenced by their crystalline structure. The objective of this study was to observe the changes in the crystal network of structured lipids obtained from milkfat and corn oil. The kinetic crystallization curves were plotted from the solid fat content of the samples as a function of time. From the*

**FIGURA 7** - Determinação da dimensão fractal (D) para a gordura do leite a 15 °C.

calculation of the Avrami parameters, the crystallization rates and the types of nucleation and crystal growth were determined. Polarized light microscopy provided images of crystals obtained by high and low cooling rate methods, from which the number of crystals, crystallized area and fractal dimension of the samples were determined. The correlation between the results indicated that the addition of corn oil did not cause substantial changes in the crystal network structure, but only decreased the content of crystallized fat. The interesterification reactions and the addition of corn oil did not alter the size and shape of the crystals.

**UNITERMS:** Milkfat. Corn oil. Blend. Chemical interesterification. Crystallization.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio financeiro e pelas bolsas concedidas aos autores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. *Official methods and recommended practices*. 4. ed. Champaign: AOCS, 1992. 2v.
- GIOIELLI, L. A. Lipídios Estruturados. In: CURI, R.; POMPEIA, C.; MIYASAKA, C.K.; PROCÓPIO, J., eds. *Entendendo a gordura: os ácidos graxos*. Barueri: Manole, 2002. cap.33, p.455-466.
- GIOIELLI, L. A. Margarinas e cremes vegetais: composição e tecnologia. *Óleos e Grãos*, São Caetano do Sul, v.7, n.33, p.21-27, 1996.
- HERRERA, M. L.; FALABELLA, C.; MELGAREJO, M.; AÑÓN, M. C. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil. 1. Nucleation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.75, n.10, p.1273-1280, 1998.
- HERRERA, M. L.; FALABELLA, C.; MELGAREJO, M.; AÑÓN, M. C. Isothermal crystallization of hydrogenated sunflower oil. 2. Growth and solid fat content. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.75, n.11, p.1617-1624, 1999.
- HERRERA, M. L.; GATTI, M. L.; HARTEL, R. W. A kinetic analysis of crystallization of a milkfat model system. *Food Res. Int.*, Amsterdam, v.32, n.4, p.289-298, 1999.
- HUI, Y. H., ed. *Bailey's industrial oil and fat products*. 5. ed. New York: Wiley, 1996. v.2, p.125-158, v.3, p.1-63.
- KAYLEGIAN, K. E. The production of specialty milk fat ingredients. *J. Dairy Sci.*, Savoy, v.82, n.7, p.1433 - 1439, 1999.
- LARSSON, K. A. *Lipids: molecular organization, physical functions and technical applications*. Dundee: The Oily Press, 1994. 237 p.
- MARANGONI, A. G. On the use and misuse of the Avrami equation in characterization of the kinetics of fat crystallization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.75, n.10, p.1465-1467, 1998.
- MARANGONI, A. G.; ROUSSEAU, D. Is plastic fat rheology governed by the fractal nature of the fat crystal network? *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.73, n.8, p.991-994, 1996.
- MARANGONI, A. G.; ROUSSEAU, D. The influence of chemical interesterification on physicochemical properties of complex fat systems. 1 Melting and crystallization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.75, n.10, p.1265-1271, 1998b.
- METIN, S.; HARTEL, R. W. Thermal analysis of isothermal crystallization kinetics in blends of cocoa butter with milk fat or milk fat fractions. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.75, n.11, p.1617-1624, 1998.
- NARINE, S. S.; MARANGONI, A. G. Factors affecting the texture of plastic fats. *INFORM*, Champaign, v.10, n.6, p.565-570, 1999a.
- NARINE, S. S.; MARANGONI, A. G. Fractal nature of fat crystal networks. *Phys. Rev. E*, Lancaster, v.59, n.2-B, p.1908-1920, 1999b.
- NG, W. L.; OH, C. H. A kinetic study on isothermal crystallization of palm oil by solid fat content measurements. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.71, n.10, p.1135-1139, 1994.

- RICHARDS, N. S. P. S. *Desenvolvimento e caracterização de manteigas aromatizadas*. São Paulo, 2001. 225 p. [Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo].
- RICHARDS, N. S. P. S.; GIOIELLI, L. A. Características de identidade de manteigas comerciais e misturas manteiga-margarina disponíveis no mercado brasileiro. *Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 54, n. 309, p. 204-210, 1999.
- RODRIGUES, J. N.; GIOIELLI, L. A.; ANTON, C. Propriedade físicas de lipídios estruturados obtidos de misturas de gordura do leite e óleo de milho. *Ciênc. Tecn. Alim.*, Campinas, 2003 (no prelo).
- RODRIGUES, J. N.; GIOIELLI, L. A. Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends. *Food Res. Int.*, Amsterdam, v.36, n.2, p.149-159, 2003.
- ROUSSEAU, D.; FORESTIERE, K.; HILL, A. R.; MARANGONI, A.G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 1. Melting behavior and triacylglycerol modifications. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.73, n.8, p.963-972, 1996.
- ROUSSEAU, D.; HILL, A. R.; MARANGONI, A. G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 2. Microstructure and polymorphism. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.73, n.8, p.973-981, 1996a.
- ROUSSEAU, D.; HILL, A. R.; MARANGONI, A. G. Restructuring butterfat through blending and chemical interesterification. 3. Rheology. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.73, n.8, p.983-989, 1996b.
- SATO, K. Crystallization behaviour of fats and lipids - a review. *Chem. Eng. Sci.*, Oxford, v.56, n.7, p.2255-2265, 2001.
- SIMÕES, I. S.; GIOIELLI, L. A. Cristalização e polimorfismo de gorduras. *Óleos e Grãos*, São Caetano do Sul, v.8, n.50, p.20-29, 1999a.
- SIMÕES, I. S.; GIOIELLI, L. A. Crystal morphology of binary and ternary mixtures of hydrogenated fats and soybean oil. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, Curitiba, v.43, p.241-248, 2000.
- SIMÕES, I. S.; GIOIELLI, L. A. Microscopia da cristalização parcial de misturas de gorduras hidrogenadas e óleo de soja. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, São Paulo, v.35, p.259-266, 1999b.
- SOTERO-SOLIS, V. E.; GIOIELLI, L. A. Estrutura cristalina de las grasas hidrogenadas del aceite de castaña de Brasil (*Bertholletia excelsa*). *Alimentaria*, Madrid, v.38, n.322, p.131-137, 2001.
- TIMMS, R. E. Crystallisation of fats. In: HAMILTON, R. J., ed. *Developments in oils and fats*. London: Chapman & Hall, 1995. cap.8, p.204-223.
- TORO-VAZQUEZ, J. F.; BRICEÑO-MONTELONGO, M.; DIBILDOX-ALVARADO, E.; CHORÓ-ALONSO, M.; REYES-HERNÁNDEZ, J. Crystallization kinetics of palm stearin in blends with sesame seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.77, n.3, p.297-310, 2000.
- VREEKER, R.; HOEKSTRA, L. L.; DEN BOER, D. C.; AGTEROF, W. G. M. The fractal nature of fat crystal networks. *Colloids and Surfaces*, Amsterdam, v.65, n.2-3, p.185-189, 1992.
- WRIGHT, A. J.; HARTEL, R. W.; NARINE, S. S.; MARANGONI, A. G. The effect of minor components on milk fat crystallization. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, v.77, n.5, p.463-475, 2000.

Recebido para publicação em 12 de junho de 2002.