



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



**PARÂMETROS DE QUALIDADE NA CLARIFICAÇÃO
DA LECITINA DE SOJA**

LETÍCIA VIEIRA CASTEJON

Uberlândia – MG

2015



Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Engenharia Química
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química



PARÂMETROS DE QUALIDADE NA CLARIFICAÇÃO DA LECITINA DE SOJA

Letícia Vieira Castejon

Orientador: Dr. José Roberto Delalibera
Finzer

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química

Uberlândia – MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C347p
2015 Castejon, Letícia Vieira, 1983-
 Parâmetros de qualidade na clarificação da lecitina de soja / Letícia
 Vieira Castejon. - 2015.
 187 f. : il.

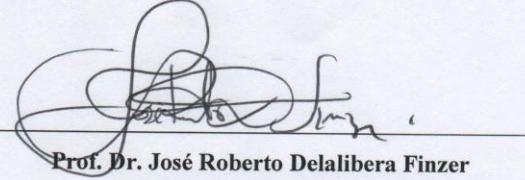
Orientador: José Roberto Delalibera Finzer.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Engenharia Química.
Inclui bibliografia.

1. Engenharia química - Teses. 2. Lecitina - Teses. I. Finzer, José
Roberto Delalibera. II. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-Graduação em Engenharia Química. III. Título.

CDU: 66.0

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO E
ENGENHARIA QUÍMICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA COM
PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE
DOUTOR EM ENGENHARIA QUÍMICA, EM 27 DE JANEIRO DE 2015.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Roberto Delalibera Finzer
Orientador (PPGEQ/UFU)

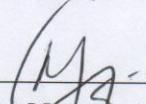
Profa. Dra. Kássia Graciele dos Santos

Co-orientadora ICTE/UFTM



Prof. Dr. Eloízio Júlio Ribeiro

PPGEQ/UFU



Prof. Dr. Mauro Luiz Begnini

EQ/UNIUBE

Prof. Dr. Ricardo Amâncio Malagoni

PPGEQ/UFU

Dedico esta Tese,
ao meu filho amado Gabriel,
ao meu marido José Flávio
e minha mãe Simone

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela oportunidade e abertura de janelas quando já não haviam mais portas.

A meu marido, José Flávio, que por vezes me substituiu no papel de mãe para cuidar de nosso amado filho Gabriel. Ao Gabriel pelos sorrisos, abraços e momentos de descontração que tanto foram necessários para diminuir a tensão do desenvolvimento da tese. Amos vocês.

À minha mãe, Simone pelo apoio e carinho dispensado a mim e minha família. À minha irmã, Fernanda, meu cunhado Francisco, minha cunhada Nayara, meu irmão Danilo, meu afilhado lindo Murilo e meu pai, Fernando. Meus amores.

Em especial aos meus amigos, Flávio Caldeira, meu irmão de alma e de jornada, à Kássia, amiga sincera e atenciosa, que tanto me deram suporte, apoio e principalmente por acreditarem em mim. Minha admiração, respeito e carinho incondicional.

Ao recente amigo e colega de trabalho Eduardo que além de acreditar, me ajudou literalmente em todos os procedimentos para o desenvolvimento da tese. Minha admiração.

A meu orientador José Roberto Delalibera Finzer que mais uma vez me orientou e deu apoio nesse trabalho. Meu respeito.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e orientações prestadas, além de compreensão.

Ao IFTM, campus Uberlândia, local em que trabalho como docente e onde realizei partes do meu experimento da tese, o laboratório foi meu refúgio. Às pessoas em que lá trabalham (Hélio Gomes e Nágila) que contribuíram de alguma forma.

Ao IFTM, campus Ituiutaba, onde trabalhei como docente e novamente abriu as portas para que eu pudesse realizar alguns procedimentos experimentais.

À empresa Caramuru Alimentos Ltda por ter disponibilizado a matéria prima lecitina de soja, objeto principal do estudo.

À UFU, Universidade Federal de Uberlândia pelo departamento de Pós-Graduação em Engenharia Química e no departamento agradeço imensamente ao professor Luis Cláudio, uma referência. E, ao professor Eloízio Júlio Ribeiro que tem corrigido meus trabalhos desde o mestrado, com grande atenção e contribuições significativas.

A muitos outros coadjuvantes da minha história, para desenvolvimento da tese, agradeço.

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Lecitina de soja	4
2.1.1 Composição da lecitina de soja	7
2.1.2 Colorimetria.....	10
2.2 Obtenção da lecitina de soja: etapa de degomagem	18
2.2.1 Reologia da lecitina de soja.....	21
2.2.2 Etapa de clarificação da lecitina de soja.....	24
2.2.2 Oxidação da lecitina de soja.....	25
2.3 Utilização da lecitina de soja como emulsificante	28
2.3.1 Balanço Hidrofílico Lipofílico	31
2.3.2 Lecitina de soja como aditivo para lecitinação e instantaneização	34
CAPÍTULO III – ETAPA DE CLARIFICAÇÃO.....	38
3.1.1 Análise de cor – Sistema Cielab L*, a*, b*, C* e H	42
3.1.2 Teste Preliminar da Solubilidade da lecitina de soja clarificada.....	45
3.1.3. Teor de Clorofila e Carotenoides	46
3.2 Resultados e Discussões	47
3.2.1 Resultados da Análise de Cor.....	47
3.2.2 Resultado Preliminar da Solubilidade da lecitina de soja clarificada.....	65
3.2.3 Resultados dos Teores de Clorofilas e Carotenoides	68
CAPÍTULO IV – AVALIAÇÃO OXIDATIVA DA ETPA DE CLARIFICAÇÃO	74
4.1 Material e Métodos	74
4.1.1 Atividade de Água.....	74
4.1.2 Índice de Acidez	75
4.1.3 Índice de Saponificação.....	76
4.1.4 Coeficiente de Extinção Específica	76
4.2 Resultados e Discussões	77

4.2.1 Resultados de Atividade de Água	77
4.2.2 Resultados do Índice de Acidez	82
4.2.3 Resultados do Índice de Saponificação	87
4.2.4 Resultados do Coeficiente de Extinção Específica	90
CAPÍTULO V – BALANÇO HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO	95
5.1 Material e Métodos	95
5.1.1 Insolúveis em Acetona	95
5.1.2 Classificação Emulsificante da lecitina de soja clarificada.....	95
5.2 Resultados e Discussões	96
5.2.1 Resultados dos Insolúveis em Acetona	96
5.2.2 Resultado da Classificação da lecitina de soja clarificada	99
CAPÍTULO VI – CARACTERIZAÇÃO DA LECITINA COMERCIAL E CLARIFICADA	102
6.1 Material e Métodos	102
6.1.1 Curvas de escoamento	102
6.1.2 Perfil de ácidos graxos	103
6.2 Resultados e Discussões	104
6.2.1 Resultados de escoamento	104
6.2.2 Resultados do perfil de ácidos graxos	108
CAPÍTULO VII – APLICAÇÃO DA LECITINA	114
7.1 Material e Métodos	114
7.1.1 Análise de cor do leite em pó	117
7.1.2 Molhabilidade.....	117
7.1.3 Solubilidade.....	118
7.1.4 Morfologia e imagem dos leites em pó	118
7.2 Resultados e Discussões	118
7.2.1 Resultados da Análise de Cor	119
7.2.2 Resultados de Molhabilidade	122
7.2.3 Resultados de Solubilidade	124
7.2.4 Resultados das imagens	125
CAPÍTULO V – CONCLUSÃO	128
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	130
REFERÊNCIAS	132

ANEXO I - ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE PRODUTO	142
APÊNDICE I – Resíduos da Variação de L^* (ΔL^*)	143
APÊNDICE II – Resíduos da Variação de a^* (Δa^*)	146
APÊNDICE III – Resíduos da Variação de b^* (Δb^*)	149
APÊNDICE IV – Resíduos da Variação de C^* (ΔC^*)	152
APÊNDICE V – Resíduos da Variação de H (ΔH)	155
APÊNDICE VI – Resíduos da Variação Total da Cor (ΔE^*)	158
APÊNDICE VII – Resíduos de Atividade de Água	161
APÊNDICE VIII – Resíduos de Índice de Acidez	164
APÊNDICE X – Resíduos de Índice de Saponificação	167

LISTA DE SÍMBOLOS

ADM	Archer Daniels Midland
R ¹	radical de ácido graxo
R ²	radical de ácido graxo
L*	Luminosidade, escala Cielab
a*	cor vermelho/verde, escala Cielab
b*	cor amarelo/azul, escala Cielab
ΔL*	Variação da luminosidade, escala Cielab
Δa*	variação da cor vermelho e verde, escala Cielab
Δb*	variação da cor amarelo e azul, escala Cielab
C*	cromaticidade ou saturação da cor, escala Cielab
H	tonalidade da cor, escala Cielab
ΔC*	variação da saturação da cor, escala Cielab
ΔH/dH	variação da tonalidade da cor, escala Cielab
ΔE*	variação total da cor, escala Cielab
L	Luminosidade, escala HunterLab
a	Cor vermelho/verde, escla HunterLab
b	Cor amarelo/azul, escala HunterLab
txy	Taxa de cisalhamento
μ	Viscosidade
μp	Viscosidade aparente
γ	Taxa de deformação
k	Índice de consistência
n	Índice de comportamento
O/A	Emulsão óleo em água
A/O	Emulsão água em óleo
BHL	Balanço Hidrofílico Lipofílico
Hf	Massa hidrofílica
Mt	Massa total
IS	Índice de Saponificação
IA	Índice de Saponificação

UHT	Ultra Hight Temperature
IFTM	Instituo Federal do Triângulo Mineiro
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
CPA	Centro de Pesquisas em Alimentos
UFG	Universidade Federal de Goiás
PCC	Planejamento Composto Central
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio ou água oxigenada
X ₁	Temperatura, °C
X ₂	Concentração de H ₂ O ₂ , %
X ₃	Tempo de agitação, s
R ²	Coeficiente de regressão
IC	Índice de cor
Aw	Atividade de água
K ₂₃₂	Coeficiente de Extinção Específica a 232 nm
K ₂₇₀	Coeficiente de Extinção Específica a 270 nm
N	Duplas ligações <i>cis</i>
T	Duplas ligações <i>trans</i>
LC	Lecitina comercial, sem clarificação
LCL	Lecitina clarificada

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Importação de lecitina de soja pela União Européia.....	5
Figura 2.2: Fosfolipídeos da lecitina de soja.....	7
Figura 2.3: Disposição dos ácidos graxos e grupamento fosfórico da fosfatidiletanolamina	8
Figura 2.4: Comparação de cor entre duas maçãs.....	11
Figura 2.5: Representação do sistema colorimétrico Cielab L^* , a^* e b^*	12
Figura 2.6: Gráfico do plano de a^* , b^* e ângulos correspondentes às tonalidades das cores ilustradas.....	14
Figura 2.7: Diferença entre cores em função dos parâmetros de cor, L^* (luminosidade).....	15
Figura 2.8: Representação do sistema CIELAB L^* , C^* , H	16
Figura 2.9: Representações gráficas do parâmetro H (tonalidade da cor).....	16
Figura 2.10: Variações dos valores numéricos para ΔH e respectivas tonalidades de cor obtidas.....	17
Figura 2.11: Fluxograma de degomagem com água e obtenção de lecitina e óleo degomado.	19
Figura 2.12: Variação da viscosidade da lecitina de soja em função do percentual de umidade.	20
Figura 2.13: Classificação do comportamento de escoamento, tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.....	22
Figura 2.14: Classificações dos fluidos em escala logarítmica.	23
Figura 2.15: Teoria dos radicais livres, formação de peróxidos e hidroperóxidos.....	26
Figura 2.16: Reação de grupamento amino livre com um aldeído.....	26
Figura 2.17: Reações de oxidação da fosfatietanolamina e da fosfatidilcolina.....	27
Figura 2.18: Consumo mundial de lecitina de soja, por segmento (produção total de 415 KMT).....	29
Figura 2.19: Tipos de emulsões.....	30
Figura 2.20: Grupos moleculares de força polar e apolar.....	30
Figura 3.21: Vista da embalagem contendo a lecitina de soja comercial, in natura, utilizada no experimento.	38
Figura 3.22: Agitador (A), impulsor (B) e banho termostato utilizados (C).....	42
Figura 3.23: Colorímetro para determinação de cor da lecitina clarificada e amostras inseridas nos copos descartáveis.....	43

Figura 3.24: Diagrama de cores obtidas na clarificação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio.....	49
Figura 3.25: Resultado da clarificação em relação às variáveis L^* , a^* e b^*	50
Figura 3.26: Superfícies de respostas para a interação da variável ΔL^* com a temperatura, tempo de agitação e concentração de peróxido de hidrogênio adicionada.....	54
Figura 3.27: Superfícies de respostas para as interações do parâmetro Δa^* (A, B e C).	55
Figura 3.28: Superfícies de respostas para o parâmetro Δb^* (A, B e C).....	56
Figura 3.29: (A) Resultados de cores obtidos em cada ponto experimental e (B) representação das cores no sistema Cielab.....	59
Figura 3.30: Variação total das cores (ΔE^*) das lecitinas clarificadas.....	61
Figura 3.31: Superfícies de respostas para a variação total de tonalidades da cor (ΔH).....	63
Figura 3.32: Superfícies de respostas da Variação Total da Saturação (ΔC^*).....	64
Figura 3.33: Superfícies de resposta da variação total da cor (ΔE^*).....	65
Figura 3.34: Resultado de insolúveis da lecitina de soja clarificada em solventes orgânicos..	66
Figura 3.35: Oxidação de pigmentos.....	73
Figura 4.36: Vista do equipamento de medida de atividade de água e os suportes fechados com as amostras de lecitina clarificadas.....	75
Figura 4.37: Superfícies de respostas (A, B e C) para a atividade de água medida em cada experimento do planejamento.....	80
Figura 4.38: Diagrama da atividade de água relacionada às alterações químicas dos alimentos.	
.....	81
Figura 4.39: Superfícies de respostas A, B e C do Índice de Acidez (<i>I.A</i>).....	85
Figura 4.40: Superfícies de respostas A, B e C sobre comportamentos da temperatura, tempo de agitação e concentração de H_2O_2 (m/v) para o índice de saponificação.....	89
Figura 4.41: Curvas de calibração, A e B para a análise espectrofotométrica dos coeficientes de extinção específica a 232 nm e a 270 nm, respectivamente.	90
Figura 4.42:Variação dos valores nos coeficientes de extinção específica a 232 nm e 270 nm.	
.....	92
Figura 4.43: Demonstrativo da teoria de radicais livres na oxidação de óleos e produto gerados.....	93
Figura 5.44: Superfícies de resposta (A, B e C) para os resultados de Insolúveis em acetona.	99
Figura 5.45: Resultados dos cálculos de BHL.....	101
Figura 6.46: Reômetro e inserção da amostra no equipamento.....	103

Figura 6.47: Resultado linear de escoamento da lecitina de soja comercial e clarificada a 25°C.....	104
Figura 6.48: Viscosidades pelas taxas de deformação da lecitina de soja comercial e clarificada	105
Figura 6.49: Resultados da viscosidade aparente da lecitina de soja comercial e clarificada.	106
Figura 6.50: Resultados de viscosidade aparente da lecitina comercial e clarificada à 50°C.	107
Figura 6.51: Estruturas moleculares dos ácidos graxos insaturados que compõem a lecitina de soja comercial e clarificada.	113
Figura 7.52: Etapa de lecitinação.	115
Figura 7.53: Amostras no momento que estavam sendo congeladas com nitrogênio líquido.	115
Figura 7.54: Liofilizador LS3000 – Terroni com amostras congeladas por nitrogênio líquido.	116
Figura 7.55: Peneiramento e maceração do leite em pó para granulometria uniforme.	116
Figura 7.56: Caixa de vidro, com corte central para lâmina de vidro, tipo alçapão e lupa na parte superior.	117
Figura 7.57: Resultados de cores dos leites liofilizados e lecitinados.	120
Figura 7.58: Aparato de vidro para análise de molhabilidade, com lupa para auxiliar na contagem de flocos de leite em pó sobre a água.	123
Figura 7.59: Micrografias dos leites em pó ((A – leite em pó sem lecitina, B – leite em pó com 0,4% de LC, C – leite em pó com 0,8% de LC, D – leite em pó com 1,0% de LC, E – leite em pó com 0,4% de LCL, F – leite em pó com 0,8% de LCL e G – leite em pó com 1,0% de LCL).	127

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1: Parâmetros físico-químicos internacionais da lecitina de soja	6
Tabela 2.2: Componentes majoritários da composição de lecitina de soja	8
Tabela 2.3: Composição triglicerídica simplificada da lecitina de soja	9
Tabela 2.4: Componentes em menor fração (%) na lecitina de soja	10
Tabela 2.5: Classificação da variação total da cor de madeiras	13
Tabela 2.6: Métodos de cálculo de BHL, valores e ações correspondentes.....	32
Tabela 2.7: Valores numéricos dos grupos definidos por Davies.	34
Tabela 2.8: Composição centesimal média de leites	35
Tabela 3.9: Planejamento Composto Central da lecitina de soja clarificada.....	40
Tabela 3.10: Resultados experimentais de cor, parâmetros L^* , a^* e b^*	48
Tabela 3.11: Valores calculados de variação de luminosidade (ΔL^*), cor verde/vermelho (Δa^*) e azul/amarelo (Δb^*).	51
Tabela 3.12: ANOVA para as variações dos parâmetros ΔL^* , Δa^* e Δb^*	53
Tabela 3.13: Valores de L^* (Luminosidade), C^* (saturação) e H (tonalidade).....	57
Tabela 3.14: Resultados calculados da variação total de cor (ΔE^*), variação total da saturação (ΔC^*), variação total da tonalidade (ΔH).	60
Tabela 3.15: ANOVA dos resultados da variação total da tonalidade (ΔH), da saturação (ΔC^*) e variação total da cor (ΔE^*).	62
Tabela 3.16: Resultados das análises de clorofila “a” (mg/g), clorofila “b” (mg/g), carotenóides (mg/g) e do Índice de Cor (<i>I.C</i> , mg/g) nas lecitinas clarificadas e na comercial.	69
Tabela 3.17: Variáveis, modelos ajustados e coeficientes de regressão ajustados aos resultados experimentais.....	71
Tabela 3.18: Parâmetros do modelo.	72
Tabela 4.19: Atividade de água determinada em cada experimento da clarificação.....	78
Tabela 4.20: Resultados da ANOVA para a resposta de atividade de água e os efeitos significativos.....	79
Tabela 4.21: Resultados de Índice de Acidez das lecitinas clarificadas.....	83
Tabela 4.22: ANOVA do Índice de Acidez das lecitinas clarificadas.....	84
Tabela 4.23: Planejamento Experimental e resultados de Índice de Saponificação (<i>I.S</i>).....	87
Tabela 4.24: ANOVA dos resultados obtidos do índice de saponificação.....	89
Tabela 4.25: Resultados em cada experimento dos coeficientes de extinção específica.	91

Tabela 5.26: Resultados de Insolúveis em Acetona em cada experimento do planejamento.	97
Tabela 5.27: ANOVA dos resultados obtidos do índice de saponificação.....	98
Tabela 5.28: Valores de BHL e classificações quanto à emulsão em cada ponto experimental.	100
Tabela 6.29: Valores dos índices de comportamento (n) e consistência da lecitina comercial e clarificada à 25°C.	106
Tabela 6.30: Valores dos índices de comportamento (n) e consistência da lecitina comercial e clarificada à 25°C.	108
Tabela 6.31: Composição percentual de ácidos graxos que compõem a lecitina de soja comercial e clarificada.....	109
Tabela 6.32: Perfil de ácidos graxos que compõem a lecitina comercial e lecitina clarificada.	110
Tabela 7.33: Resultados de cores das amostras de leite lecitinadas e liofilizadas.	120
Tabela 7.34: Resultados das variações dos parâmetros de cores (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* , ΔH e ΔE^*).....	121
Tabela 7.35: Resultados da ANOVA para os leite lecitinados à concentrações diferentes. ..	122
Tabela 7.36: Resultados de análise qualitativa de molabilidade.	123
Tabela 7.37: Percentual insolúvel de leites lecitinados.	124

RESUMO

A lecitina de soja é um complexo de fosfolipídeos em óleo de soja, sendo denominada de lecitina de soja comercial. Sua coloração é âmbar, apresenta alta viscosidade, cheiro e gosto característicos. É bastante utilizada como emulsificante, possui características próprias devido a modificações física, químicas ou de processos de obtenção. O presente trabalho teve por objetivo avaliar fisico-quimicamente lecitinas de soja clarificadas, pela adição de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), a temperatura e agitação controladas. Avaliar os aspectos qualitativos e de coloração, para posterior aplicação em leite integral UHT e verificação das características de pó (molhabilidade e insolubilidade). A etapa de clarificação foi planejada experimentalmente, através de um Planejamento Composto Central, cuja lecitina de soja comercial, sem tratamento com peróxido foi analisada quanto à reologia, apresentando comportamento pseudoplástico a 25°C e newtoniano à 50°C. Sua composição de ácidos graxos foi de elevado teor de insaturados conforme análise cromatográfica. A clarificação produziu lecitinas mais claras do que a lecitina comercial e foi selecionada a lecitina clarificada com maior valor de luminosidade (L^*) para análise reológica, a qual mostrou mesmos comportamentos reológicos da lecitina comercial, porém com ligeiros aumentos na viscosidade aparente. Resultado das avaliações sobre a coloração foram realizadas, mostrando os efeitos da temperatura, tempo de agitação sob rotação constante e concentrações de H₂O₂ (%), obtendo-se colorações mais vermelhas e amarelas, intensas e de tonalidade tendendo ao amarelado. O ponto experimental em que se obteve maior luminosidade, cor branca, foi a 50°C, 520 segundos de agitação e adição de 2,3% de peróxido de hidrogênio, 35% (m/v). Um modelo de cor foi elaborado para predizer quais parâmetros de cor influenciam sobre a cor aparente, para isso foram analisados compostos carotenoides e clorofilas, chegando-se à conclusão que outras substâncias, como substâncias marrons e tocoferóis, se determinadas melhorariam o ajuste. Os resultados das avaliações da qualidade oxidativa das lecitinas clarificadas, mostraram os efeitos das variáveis do planejamento sobre as respostas de índice de saponificação, coeficiente de oxidação, índice de acidez e atividade de água, os resultados mostraram que em condições extremas, foram mantidos bons estados de oxidação lipídica. A aplicação da lecitina mais clarificada no leite mostrou que a cor do leite em pó ficou mais clara. A melhor solubilidade e menor tempo de molhabilidade foram obtidos para concentração adicionada de lecitina igual a 1,0% (m/m) sobre a massa aplicada e

as micrografias dos pós mostraram que o aumento no teor de lecitina de soja deixa os grânulos menores e o pó mais granuloso.

Palavras-chave: coloração da lecitina; oxidação da lecitina; viscosidade da lecitina; lecitinação.

ABSTRACT

Soy lecithin is a complex phospholipid in soybean oil, being called commercial soybean lecithin. Its color is amber, high viscosity, smell and taste characteristic. It is widely used as an emulsifier, has its own characteristics due to physical changes, chemical or production processes. This study aimed to assess physico-chemically clarified soy lecithins, by adding hydrogen peroxide to 35% (v / v), the controlled temperature and agitation. It was considered qualitative aspects and also in color, for later use in UHT whole milk and verification of powder characteristics (wettability and solubility). The clarification step is designed experimentally, using a central composite design, the commercial soybean lecithin without peroxide treatment rheology was analyzed, showing pseudoplastic behavior at 25°C and the Newtonian at 50°C, the composition of fatty acids was higher unsaturated content as chromatographic analysis. Clarification produced lighter than lecithin and commercial lecithin was clarified lecithin selected with higher brightness value (L^*) to rheological analysis, which showed the same rheological behavior of commercial lecithin, but with slight increases in apparent viscosity. Reviews staining were performed, showing the effects of temperature under constant stirring rotation time and H₂O₂ concentration (% w/v) to give more red dyes and yellow, intense tint and tended to yellow. The experimental point was obtained in higher brightness, white color at 50°C was 520 seconds of stirring and addition of 2.3% hydrogen peroxide, 35% (w/v). A color model is designed to predict which color parameters influence on the apparent color, for that were analyzed carotenoids and chlorophyll compounds, coming to the conclusion that other substances, such as brown substances and tocopherols, if certain improve the fit. The evaluation of oxidative quality of clarified lecithins have shown the effects of the design variables on the saponification number of responses, oxidation rate, and acid value of water activity, the results showed that in axial conditions are maintained good oxidation states lipid. The application of more clarified lecithin in milk showed that the color of milk powder became clearer. The best solubility and shorter wettability were obtained for added lecithin concentration equal to 1.0% of the applied mass and the powders micrographs showed that the increase in soy lecithin content leaves the smaller beads and the most granular powder.

Keywords: color lecithin; oxidation lecithin; viscosity lecithin; lecithination.

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO

A lecitina comercial corresponde a um conjunto de fosfolipídeos que normalmente são extraídos de fontes oleaginosas. A soja é a principal fonte de obtenção da lecitina utilizada como emulsificante em alimentos. A etapa de obtenção da lecitina de soja denomina-se degomagem e normalmente consiste na adição de 1% a 3% de água ao óleo bruto aquecido a 60-70°C com agitação lenta. A degomagem ocasiona a formação de um precipitado denominado de borra, que é removida do óleo por centrifugação a 5.000-6.000 rpm.

Pode ser classificada em diversos tipos e geralmente quantificam-se os fosfatídeos (Insolúveis em acetona), viscosidade (mais ou menos viscosa, com óleo ou sem óleo de soja), clarificada ou não (em escala de cor Gadner) e como emulsificante hidrofílico ou lipofílico (BHL). É interessante destacar que na alteração em um desses parâmetros, ocorre a modificação nos demais, sendo preciso padronizá-los, obtendo-se assim, uma gama imensa de tipos de lecitinas para as diversas aplicações industriais.

Basicamente, a lecitina é composta pelos fosfolipídeos, fosfatidilcolina (maior componente), fosfatidilinositol e fosfatidiletanolamina, pode conter ácidos fosfatídicos livres, ácidos graxos livres, triglicerídeos do óleo, clorofilas, carotenóides, tocoferóis, entre outras substâncias lipossolúveis e algumas substâncias hidrossolúveis que se hidratam rapidamente, como proteínas de baixo peso molecular e açúcares simples.

As lecitinas classificadas como aditivos emulsificantes possuem os fosfolipídeos como agentes ativos em estruturas apolares e polares, portanto, lipofílicos e hidrofílicos, que contêm em suas estruturas ácidos fosfóricos ligados a bases nitrogenadas (aminas secundárias ou primárias) e ao polialcool cíclico, inositol, formando as estruturas como a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol.

Simplificadamente, o acréscimo de pequena quantidade de fosfolipídeos na lecitina pode diminuir sua hidrofilicidade tornando-a excelente emulsificante A/O (água em meio óleo), já o contrário possibilita emulsões do tipo O/A (óleo/água). Não somente esse aspecto interferirá na emulsão, mas sua composição como um todo, por exemplo, a quantidade de substâncias hidrossolúveis ou lipossolúveis.

Sabe-se que além de sua propriedade de emulsão e alta viscosidade (maior que dos óleos), sua coloração chama a atenção, pois é âmbar e assim como o mel, que a depender da sua origem pode ser mais clara, podendo depender também do seu processamento (degomagem e clarificação) pode ser mais clara. Isso amplia ainda mais sua aplicação.

Normalmente a lecitina é utilizada como emulsificador lipofílico, estabilizante e espessante em diversos produtos como: margarinas, biscoitos, chocolates, coberturas, caramelos, leite em pó, café solúvel, em bolachas recheadas, pães, suplementos dietéticos e até em rações animais ou para tintas e cosméticos.

É relevante destacar que como todo produto oleaginoso, a lecitina apresenta baixa ou nenhuma oxidação e valor nutricional, além, da sua comprovada ação emulsificante. Portanto, existe a necessidade de trabalhos científicos que visem a ampliação da caracterização físico-química, qualitativa, reológica, fenomenológica e cinética das alterações em parâmetros qualitativos das diferentes lecitinas de soja comercializadas e, principalmente quando adicionada a alimentos.

Em virtude dessa relevância, o presente trabalho teve como **objetivo geral**, estudar a clarificação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), visando a qualidade do produto final, ao se avaliar principalmente a coloração, a oxidação, a emulsificação antes de ser aplicada no leite integral e avaliar coloração, solubilidade, molhabilidade e morfologia, do leite na forma de pó.

Para alcançar-se o objetivo geral da presente pesquisa, os objetivos específicos ao longo do trabalho, foram:

- Delimitar as condições de operação da clarificação da lecitina comercial;
- Elaborar o Planejamento Composto Central da clarificação;
- Verificar os efeitos da coloração da lecitina de soja após processo de clarificação;
- Relacionar a clarificação com a quantificação de pigmentos que a compõem a lecitina;
- Verificar os efeitos oxidativos das lecitinas clarificadas por análises físico-químicas;
- Classificar as lecitinas clarificadas quanto ao valor de BHL;
- Caracterizar a lecitina de soja comercial e clarificada reologicamente;
- Verificar o perfil de ácidos graxos da lecitina de soja comercial e clarificada;

- Lecitinar leite UHT integral com lecitina de soja comercial e clarificada e secar o leite por liofilização;
- Verificar a coloração dos leites em pó lecitinados;
- Relacionar as propriedades de solubilidade e molhabilidade com o processo de clarificação;
- Verificar a morfologia dos grânulos de leite em pó.

Para alcançar os objetivos propostos, o trabalho de investigação experimental foi organizado em capítulos da seguinte forma:

Capítulo 1, Introdução;

Capítulo 2, Revisão Bibliográfica, que apresenta descrição e a explicação da temática e o estado da arte para compreensão e entendimento do estudo que se propõem;

Capítulo 3, Material e Métodos, descrição dos materiais utilizados experimentalmente e dos métodos executados para o alcance dos objetivos específicos;

Capítulo 4, Resultados e Discussão, apresentação dos resultados obtidos e discussão, comparando-os com resultados relevantes de trabalhos publicados.

Capítulo 5, Conclusão, sucintamente apresentar os resultados obtidos e correlacionar com os objetivos propostos.

Capítulo 6, Sugestões para Trabalhos Futuros, proposição de trabalhos a serem explorados cientificamente dando continuidade ao objeto em estudo, a lecitina.

Por fim, as Referências, descrição completa e organizada das principais obras e trabalhos utilizados na composição desse trabalho.

Apresentação dos Anexos e Apêndices, materiais relevantes para suporte da revisão, metodologia e discussão dos resultados.

CAPÍTULO II – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No presente capítulo foram apresentadas as principais temáticas sobre a lecitina de soja, definição, composição, obtenção, clarificação, qualidade físico-química, aplicação industrial, principalmente como emulsificante alimentar e agente instantaneizante em produtos em pó.

2.1 Lecitina de soja

A lecitina de soja é mundialmente utilizada e conhecida como emulsificante, principalmente alimentício. É um subproduto da linha de produção do óleo vegetal refinado que possui alto valor agregado. Existe uma diversidade muito grande de tipos de lecitinas encontradas no mercado, à disposição para consumo, com características físico-químicas e reológicas diferentes dependendo da finalidade de uso ou aplicação industrial.

A Europa impossibilitada de suprir sua demanda por lecitina de soja, nas mais diversas aplicações industriais, desde 2002 importa de outros países, como o Brasil, a lecitina de soja. As projeções de importação pela União Européia desde 2002 a 2012, podem ser verificadas na Figura 2.1 (Nieuwenhuyzen, 2014).

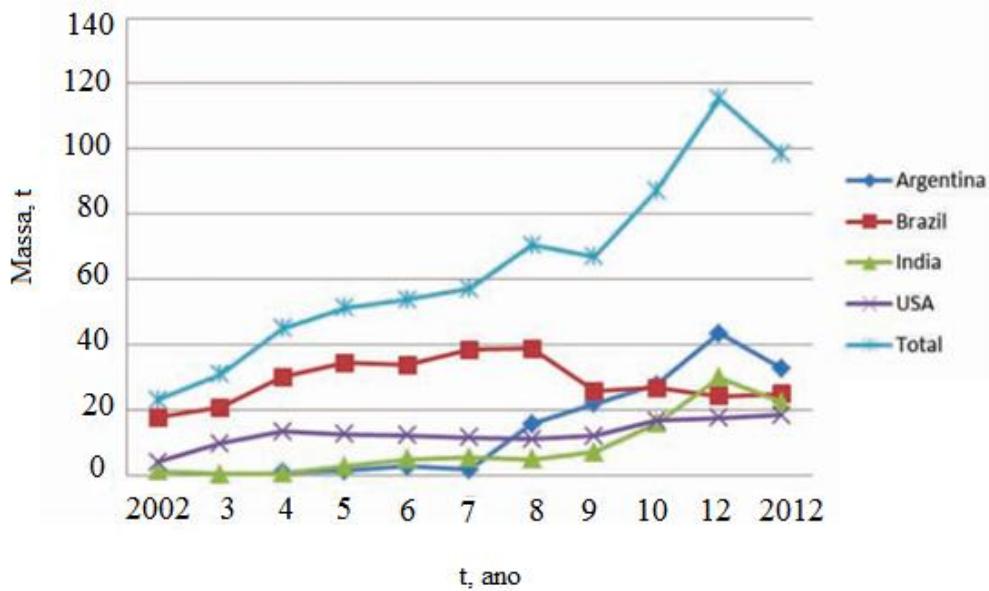


Figura 2.1: Importação de lecitina de soja pela União Européia.

Fonte: NIEUWENHUYZEN, (2014).

Como mostra os dados na Figura 2.1, cerca de 100 toneladas de lecitina foram importadas a cada ano de 2010 a 2012 pela União Européia, sendo o Brasil e Índia os principais exportadores de lecitina de soja e a Argentina, exportadora de lecitina de girassol (NIEUWENHUYZEN, 2014).

Em 2014, a demanda mundial por lecitina de soja comercial foi de 64,5 Mt e a demanda estimada para 2015 é de 69,0 Mt, informando que a lecitina de soja tem mercado consumidor e diversas aplicações (NORN, 2015).

Indústrias como a Cargill, ADM e Caramuru Alimentos Ltda, publicam em seus respectivos sites, uma lista completa de tipos de lecitinas e respectivos parâmetros avaliados para distingui-las, tais como: índice de acidez, índice de saponificação, insolúveis em acetona, insolúveis em hexano ou tolueno, umidade, cor em escala Gardner, viscosidade e índice de peróxidos. Todos esses índices possuem quantidades mínimas e máximas toleráveis para a comercialização, estipulados pela União Européia, FAO/WHO (*Food and Agriculture Organization/ World Health Organization*) e demais órgãos competentes que consideram a lecitina de soja como emulsificante alimentar natural (ADM, 2014). Na Tabela 2.1, os parâmetros físico-químicos da lecitina de soja foram especificados de acordo com cada órgão regulamentador.

Tabela 2.1: Parâmetros físico-químicos internacionais da lecitina de soja.

Pureza	FAO/WHO Código Alimentar	União Européia E 322	Código de Química Alimentar
Insolúveis em acetona (%)	>60	>60 Hidrolisada >56	>50
Insolúveis em hexano (%)	-	-	<0,3
Insolúveis em tolueno	<0,3	<0,3	-
Umidade (%)	-	-	<1,5
Matéria seca (%)	<2,0	<2,0	-
Acidez titulável (mg KOH/g)	<36,0	<35,0	<36,0
Índice de peróxido (meqO ₂ /Kg)	<10,0	<10,0	<10,0
Arsênico (ppm)	<3,0	<3,0	-
Chumbo (ppm)	<10,0	<5,0	<1,0
Mercúrio (ppm)	-	<1,0	-
Metais pesados totais (ppm)	<40,0	<10,0	-

Fonte: KJELLIN; JOHANSSON, (2010).

Nota-se na Tabela 2.1, de modo geral, que o percentual de insolúveis em acetona é variável (50 a 60%), o conteúdo de metais pesados na ordem de 10⁻⁶mg/kg de produto, há uma considerável quantidade de ácidos graxos livres (36 mg KOH/g), a depender do teor de umidade (1%) e normalmente apresenta baixa oxidação lipídica (10 meqO₂/kg).

A lecitina de soja comercial é padronizada com óleo de soja e classificada como emulsificante por possuir em sua composição cerca de 60% de matéria insolúvel em acetona, ou seja, fosfolipídeos, que segundo STOPPER; SAFFER; BAUER, (1953) são compostos por fosfatidilcolina, fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina e açúcares. Possuem características de natureza polar e, portanto, insolúveis em acetona. Existem outros compostos polares que podem ser extraídos pelo processo de degomagem e constituírem as lecitinas, são proteínas e sais catiônicos, de cálcio, magnésio e ácidos fosfóricos livres (BEI, 2005).

2.1.1 Composição da lecitina de soja

HASENHUETTL, HARTEL, (2008) e SZUHAJ, (1989) mostram em suas obras, as estruturas moleculares e características da lecitina de soja, suas modificações industriais, processos de obtenção e aplicações. Na Figura 2.2, tem-se a estrutura básica de um fosfolipídeo e seus ligantes, formando a fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfoglicerídeo e ácido fosfórico.

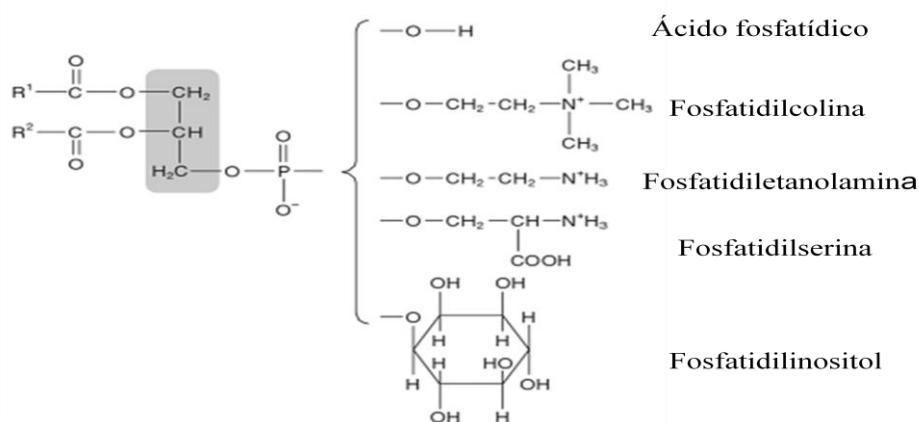


Figura 2.2: Fosfolipídeos da lecitina de soja.

Fonte: POKORNY; SCHMIDT, (2011)

Na Figura 2.2, R¹ e R² correspondem a radical de ácidos graxos, que podem ser iguais ou diferentes (saturados ou insaturados, de cadeias curtas ou longas). Os fosfolipídeos ou fosfatídeos são definidos estruturalmente pela presença de um radical de glicerol, esterificado com ácidos graxos e com ácido fosfórico. O ácido fosfórico apresenta-se também esterificado com um álcool aminado (colina e etanolamina) ou um aminoácido (serina) ou mesmo um polialcool cíclico chamado de inositol (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Os ácidos graxos das moléculas de fosfolipídeos variam quanto ao número de insaturações e comprimento da cadeia. Normalmente, os ácidos graxos esterificados no centro da molécula do fosfolipídeo são insaturados, já os ácidos graxos localizados na extremidade da molécula, no lado oposto ao sítio hidrofílico, ácido fosfórico, são ácidos graxos saturados (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007). A Figura 2.3, mostra a estrutura molecular espacial da lecitina de soja, especificamente da fosfatidiletanolamina, com o ácido graxo saturado C15:0, ácido pentadecanóico e o ácido graxo insaturado, hexadecenóico, C16:1.

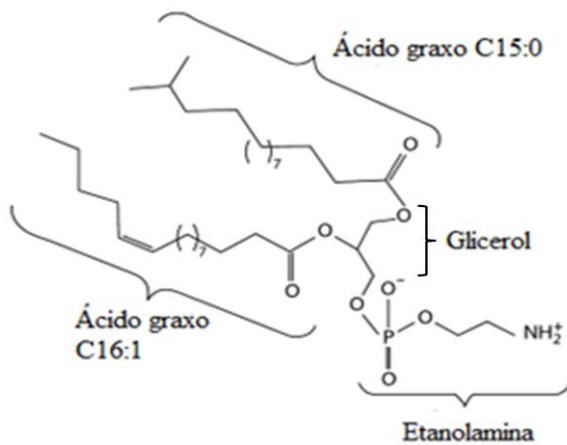


Figura 2.3: Disposição dos ácidos graxos e grupamento fosfórico da fosfatidiletanolamina.

Fonte: POKORNY; SCHMIDT, (2011).

Na Figura 2.3 tem-se a fosfatidiletanolamina a qual apresenta-se na lecitina de soja em concentrações menores que a fosfatidilcolina segundo diversos autores como mostrado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2: Componentes majoritários da composição de lecitina de soja

Componentes	Fração (%)			
	SCHOLFIELD, (1981)	SZUHAJ, (1989)	CEVC, (1993)	OTHMER, (2007)
Fosfatidilcolina	19,0-21,0	12,0-21,0	15,5	10,0-17,0
Fosfatidiletanolamina	8,0-20,0	8,0-9,5	12,7	9,0-12,0
Fosfatidilinositol	20,0-21,0	1,7-7,0	9,9	8,0-10,0
Outros fosfolipídeos	5,0-11,0	7,0	24,9	8,0-12,0
Óleo de soja	30,0-35,0	-	36,0	40,0
Esteróis	2,0-5,0	-	-	5,0
Carboidratos	5,0	-	-	3,0
Umidade	1,0	-	0,6	1,0

A lecitina de soja possui em sua composição elevada quantidade de matéria graxa, óleo de soja, contendo ácidos graxos saturados e insaturados, que é inserida para adequação físico-química e diminuição da viscosidade. Nessa matéria graxa, além dos ácidos graxos (triglicerídeos), podem ser quantificados os não-triglicerídeos derivados tais como clorofilas, carotenóides, carboidratos, proteínas, sais e outros componentes hidratáveis, além dos fosfolipídeos.

Outros autores verificaram percentualmente os ácidos graxos que compõem a lecitina de soja, como mostrado na Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Composição triglycerídica simplificada da lecitina de soja

Componentes	Fração (%)		
	SZUHAJ, (1989)	EL-SHATTORY <i>et al.</i> , (1999)	OTHMER, (2007)
Mirístico (C14:0)	1,9	3,5	-
Palmítico (C16:0)	18,9	17,9	18,4
Palmitoléico (C16:1)	8,6	23,1	-
Esteárico (C18:0)	4,3	47,8	4,0
Olílico (C18:1)	9,8	7,7	10,7
Linoléico (C18:2)	20,0	-	58,0
Linolênico (C18:3)	1,6	-	6,8
Araquídico (C20:0)	2,3	-	-

Como se verifica na Tabela 2.3 os conteúdos de ácidos graxos insaturados são elevados em comparação aos demais saturados, portanto a lecitina de soja é considerada suplemento nutracêutico.

Todos os componentes da lecitina de soja comercial contribuem significativamente para a coloração característica e na modificação físico-química do produto, que implica em sua aplicação industrial.

Resumidamente foi apresentado por Oliveira, (2001), os pigmentos de maior relevância que são removidos dos óleos brutos e que compõem a lecitina comercial de soja com suas respectivas colorações características são:

Clorofilas e tocoferóis: verde;

Carotenóides: amarelo, vermelho;

Produtos da degradação de proteínas e carboidratos: marrom.

As clorofilas e carotenóides correspondem à maior proporção, já os tocoferóis, agentes antioxidantes, mostram-se na ordem de 1 a 2% (JUNG et al., 1989).

Na Tabela 2.4, a composição aproximada dos componentes coloríferos da lecitina de soja.

Tabela 2.4: Componentes em menor fração (%) na lecitina de soja

Componentes	Fração (%)		
	SCHOLFIELD, (1981)	SHOLFIELD; DUTTON, (1954)	CASTEJON, (2010)
Tocoferóis	1,3 mg/g	-	-
Clorofila	-	-	0,2 mg/g
Carotenóides	-	5 mg/kg	3,3 mg/kg
Substâncias Marrons	-	-	0,03 mg/g

Na Tabela 2.4 são mostrados autores que quantificaram compostos não-glicerídicos derivados presentes na lecitina de soja comercial, onde os componentes coloríferos que estavam em maior quantidade foram tocoferóis e clorofilas.

As clorofilas são bastante estudadas em trabalhos científicos, em folhosas, forrageiras e em ervas, sendo sempre observada sua degradação que resulta na perda de coloração do produto em estudo, já os tocoferóis e carotenoides são muito estudados como antioxidantes em óleos e a degradação desses podem resultar na oxidação do produto, pela consequente alteração na cor.

2.1.2 Colorimetria

A determinação de cor nos alimentos é análise qualitativa e pode tornar-se quantitativa ao se estimar valores numéricos relacionados ao frescor, prazo de validade, alterações bioquímicas e de operações, com os valores quantificáveis da cor. Muitos são os trabalhos que caracterizam a cor de determinados alimentos e preconizam a qualidade dos mesmos.

A cor precisa ser determinada numericamente, para não se ter subjetividade na avaliação. Uma maçã para dois observadores pode ter tonalidade, intensidade e brilho diferentes, como mostra a Figura 2.4.



Figura 2.4: Comparação de cor entre duas maçãs.

Fonte: MINOLTA, (2007), adaptado.

Segundo Jha (2010), os parâmetros de cor são calculados e podem ser obtidos modelos por regressão ou matemáticos, e empíricos para caracterizar e descrever o objeto em estudo da coloração. Em ambos os modelos, a cor deve ser mensurada numericamente por equipamentos como colorímetros ou espectrofotômetros dependentes da fonte luminosa.

Segundo Ohta; Robertson (2005), a fonte luminosa ou luz, é uma radiação na forma de ondas eletromagnéticas que conforme seu comprimento de onda e frequência pode ser visualizada pelo olho humano (sentido da visão) e interpretada em cores.

Existem vários sistemas para determinação dos espectros de cor, por exemplo, lovibond, Hunterlab (L , a e b), XYZ, Cielab e outros. Dentre os vários sistemas para a determinação e descrição da cor de um objeto ou ambiente, os sistemas Cielab e o Hunterlab destacam-se como os mais utilizados para a determinação da cor de objetos como cerâmicas, madeiras, argamassas e alimentos.

Em 1976, foi definido o espaço de cor denominado de CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage*, ou Comissão Internacional de Iluminação), o qual classifica a cor de determinado objeto pelo espaço nas coordenadas retangulares (Figura 2.5), L^* (Luminosidade), a^* (verde a vermelho) e b^* (azul a amarelo).

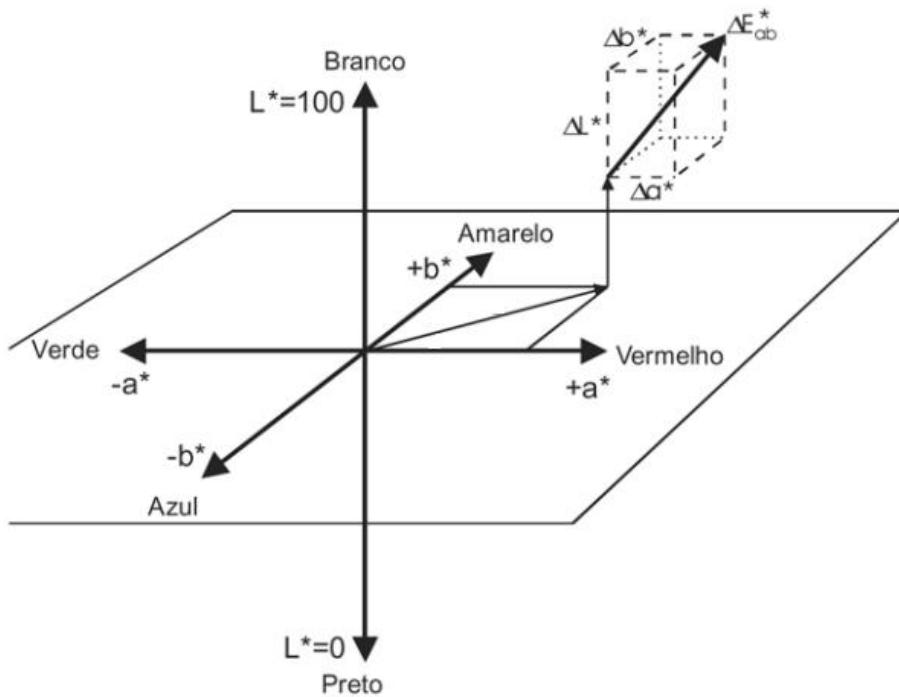


Figura 2.5: Representação do sistema colorimétrico Cielab L^* , a^* e b^* .

Fonte: VARELA *et al.*, (2005)

No sistema Cielab, a^* refere-se à variação de cor do vermelho ($+a^*$) ao verde ($-a^*$). Para valores positivos, o objeto apresentará coloração vermelha, e negativos, para objetos que possuam a cor verde. Já o parâmetro b^* , refere-se à cor azul, quando se obtêm valores negativos e à cor amarela quando se tem valores de b^* positivos, como mostra a Figura 2.5 (MINOLTA, 2007).

Tem-se que a luminosidade (L^*) varia de 0 (cor preta) a 100 (cor branca). A luminosidade é representada no eixo central, onde a parte inferior refere-se à cor preta e a extremidade superior à cor branca. Segundo Ohta; Robertson, (2005), luminosidade pode ser descrita através da percepção visual como brilho.

Colorimetricamente, Malheiros, (2007), verificou os parâmetros de cor, pelo sistema Cielab L^* , a^* e b^* , na degradação da clorofila e verificou que a sua degradação levou a um aumento no valor de luminosidade (L^*), ou seja, as amostras de erva de chimarrão ficaram mais claras, os parâmetros a^* (cor verde/vermelho) e b^* (azul/amarelo) foram diminuindo com a degradação das clorofilas “a” e “b”.

Lina *et al.*, (2013) mensuraram a degradação dos carotenóides que compõem o azeite de pequi em função do tempo de fritura, mantendo-se a temperatura à 180°C. Verificaram um aumento na luminosidade, diminuição no valor de a^* (menos

vermelho) e aumento no valor de b^* (mais amarelo) pela modificação oxidativa dos carotenoides. Portanto, as clorofilas quando degradadas, diminuíram os parâmetros a^* e b^* e aumentam L^* , já os carotenóides quando degradados, aumentam L^* e b^* e diminui a^* . Para compreensão dos parâmetros de cor torna-se necessária explanação do sistema Cielab.

Observa-se a notação do parâmetro ΔE^* , a qual refere-se à variação total da cor em função das demais variações. A diferença total de cor (ΔE^*) é um valor numérico que determina o quanto diferente são as amostras em relação ao padrão, mas não como as cores são diferentes, necessitando-se verificar os demais parâmetros de cor. Leva-se em consideração para o cálculo da variação total da cor, a variação total da luminosidade, da cor vermelho/verde e da cor azul/amarelo, elevados ao quadrado.

Por exemplo, Lima *et al.*, (2013), ao estudarem a coloração da madeira perante indução do envelhecimento, estabeleceram parâmetros limites para a variação total da cor em relação à aceitabilidade da madeira pelos consumidores, como mostra a Tabela 2.5.

Tabela 2.5: Classificação da variação total da cor de madeiras

Variação total da cor (ΔE^*)	Classificação
0,0 – 0,5	Desprezível
0,5 – 1,5	Ligeiramente perceptível
1,5 – 3,0	Notável
3,0 – 6,0	Apreciável
6,0 – 12,0	Muito apreciável

Fonte: LIMA *et al.*, (2013).

Para julgar a diferença entre as cores de uma amostra e outra, deve-se verificar todos os parâmetros retangulares e cilíndricos da cor, para assim distinguir uma cor da outra e afirmar-se o quanto diferente as amostras são. Na Figura 2.6 têm-se as cores definidas segundo coordenadas cilíndricas e retangulares da cor no sistema Cielab.

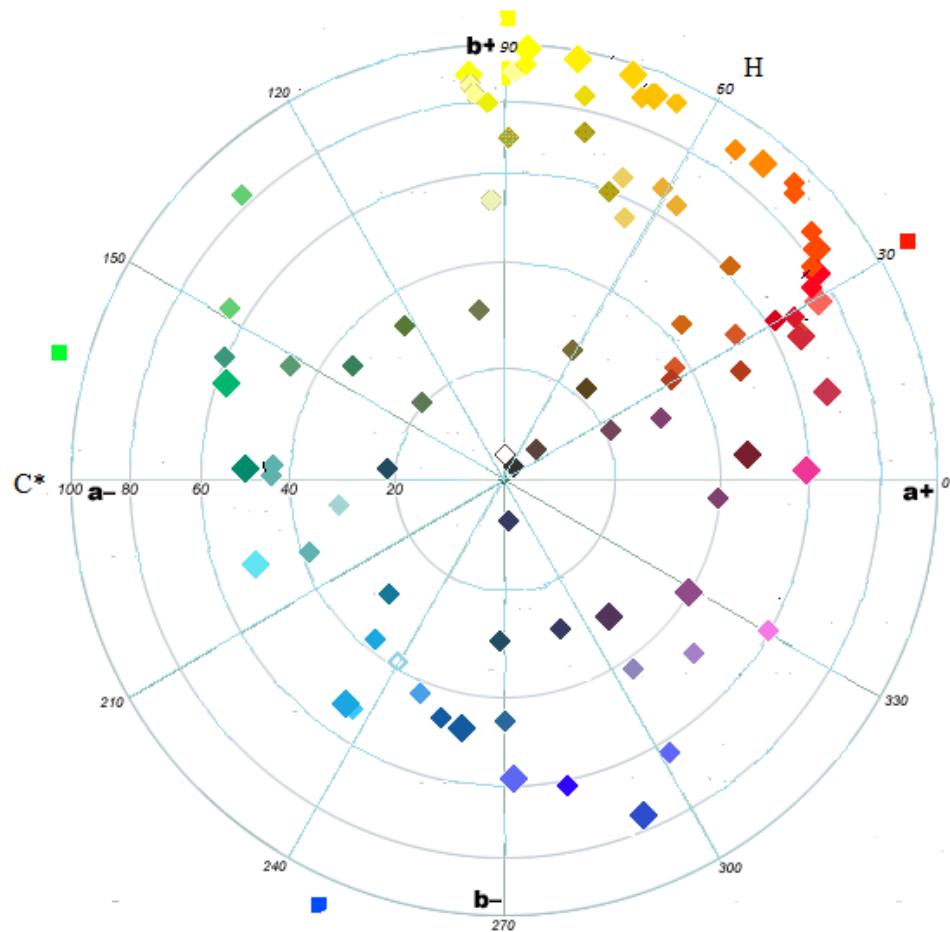


Figura 2.6: Gráfico do plano de a^* , b^* e ângulos correspondentes às tonalidades das cores ilustradas.

Fonte: MACEVOY, (2013).

No centro da Figura 2.6, tem- se a luminosidade (brilho), uma escala de cinza, do branco à cor preta e de acordo com a luminosidade ter-se-á um plano diferente de cores, tonalidades e intensidades diferentes. Na Figura 2.7 vê-se claramente as variações de cores a depender da luminosidade.

Em coordenadas cilíndricas (Figura 2.7) tem-se os parâmetros de L^* (luminosidade), H (tonalidade cromática ou ângulo de tonalidade) e C^* (fator de croma ou saturação da cor). Tanto nas coordenadas retangulares e cilíndricas, o L^* (Luminosidade), possuem o mesmo significado físico (OHTA; ROBERTSON, 2005).

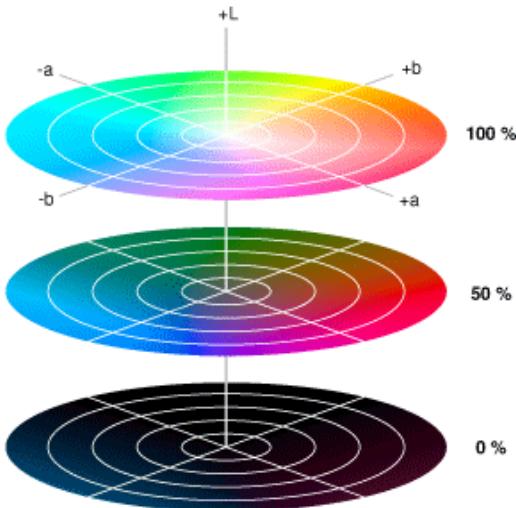


Figura 2.7: Diferença entre cores em função dos parâmetros de cor, L^* (luminosidade).

Fonte: MACEVOY, (2013).

Na Figura 2.8 mostram-se as variações (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) no sistema Cielab L^* , a^* e b^* , que correspondem às diferenças de cor entre uma amostra e um padrão, sugerindo que a amostra pode ser mais ou menos luminosa, amarela ou azul e verde ou vermelha.

Sobre a tonalidade da cor, o parâmetro H (tonalidade cromática ou ângulo de tonalidade ou *hue*), descreve a cor de um objeto a depender do ângulo em que se observa o objeto, varia no sentido anti-horário no sistema Cielab e é dependente dos valores de a^* e b^* . H é dado pelo ângulo inverso à tangente dos parâmetros a^* e b^* e varia na proporção dos quadrantes do sistema de cor Cielab, 0° é relativo a $+a^*$ (cor vermelha), 90° refere-se a $+b^*$ (cor amarela), 180° a $-a^*$ (cor verde) e 270° a $-b^*$ (cor azul), como se verifica na Figura 2.9 (MINOLTA, 2007).

O valor numérico do arctang é positivo nos quadrantes 1 e 3 e possui valores negativos nos quadrantes 2 e 4. Já o fator C^* (cromaticidade ou saturação) é 0 no centro e aumenta de acordo com a maior distância do centro, de forma radial, sofre variação na saturação a cada incremento em 10 unidades no valor numérico obtido em relação ao centro, como mostrado na Figura 2.9 (MINOLTA, 2007).

Variações de saturação e tonalidade entre uma amostra e um padrão podem ser obtidas. A variação total da cromaticidade (ΔC^*) é obtida pela diferença entre a amostra e o padrão, denotando maior intensidade ou não na cor do objeto em análise.

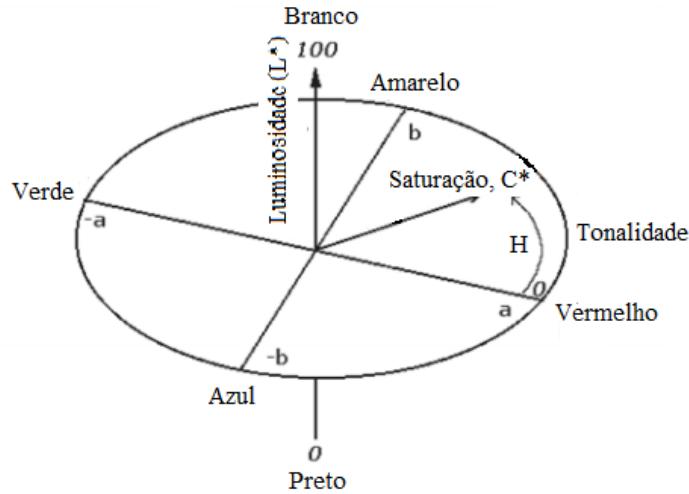


Figura 2.8: Representação do sistema CIELAB L^* , C^* , H .

Fonte: KIKUTI *et al.*, (2004)

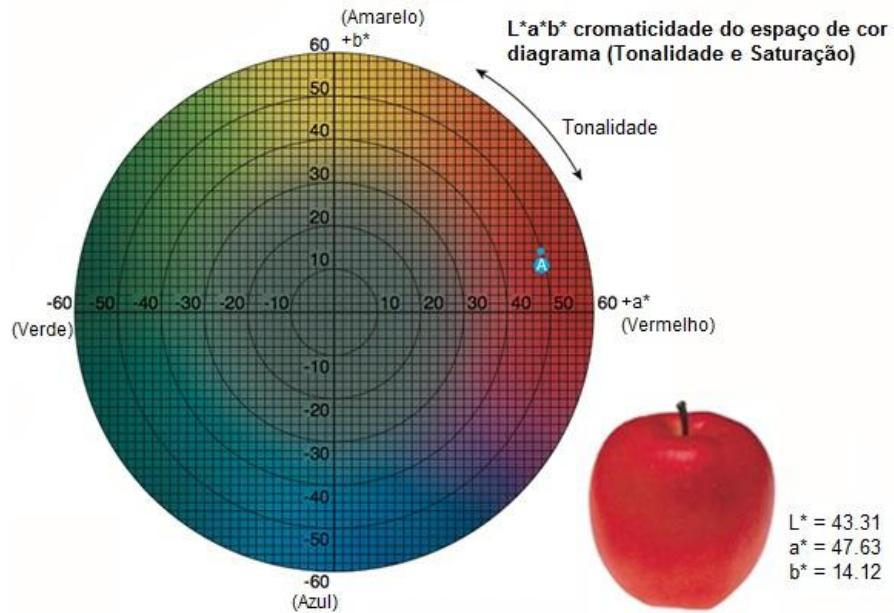


Figura 2.9: Representações gráficas do parâmetro H (tonalidade da cor).

FONTE: MINOLTA, (2014).

A variação total da tonalidade (ΔH), Figura 2.10, é a descrição da cor medida nas coordenadas cilíndricas, levando-se em consideração parâmetros de variação da luminosidade (ΔL^*), da saturação (ΔC^*) e da variação total da cor (ΔE^*).



Figura 2.10: Variações dos valores numéricos para ΔH e respectivas tonalidades de cor obtidas.

Fonte: ANGHINONI, (2011).

Como mostram as variações de tonalidades (dH ou ΔH), na Figura 2.10, as variações sobre os valores numéricos positivos e negativos de ΔH .

De acordo com Melchiades; Boshi, (1999), a determinação de cor vai depender do equipamento que se utiliza na determinação, da superfície do objeto em que se mede a cor e a fonte de luz. Para as determinações de cor recomenda-se realizá-las sempre no mesmo horário, local e com padronização da luminosidade artificial ou natural do ambiente. O recipiente em que a determinação de cor ocorre pode também ser uma variável e influenciar na leitura da cor, portanto, justificar a utilização do recipiente em função da física óptica, seja oportuno.

Castejon, (2010) estudou a clarificação da lecitina de soja com peróxido de benzoíla e peróxido de hidrogênio ressaltando analiticamente as variações dos pigmentos clorofila, carotenóides e substâncias marrons com a variação na concentração de agentes clarificantes adicionados. Os resultados encontrados por esse autor mostraram que a clarificação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio é mais viável do que a clarificação com peróxido de benzoíla, tendo-se obtido melhor valor qualitativo em termos de índice de saponificação, acidez e coeficiente de extinção específica a 232 nm e a 270 nm e de pigmentos coloríferos que dão cor à lecitina de soja.

Entretanto, o autor citado acima não determinou a diferença de coloração das clarificações efetuadas, bem como, não verificou se essas alterações significam modificações em sua aplicação como emulsificante.

2.2 Obtenção da lecitina de soja: etapa de degomagem

Alguns autores afirmam que a degomagem é a primeira etapa do refino do óleo bruto, entretanto há quem afirme que é apenas uma etapa de pré-refino. Mas, partindo do princípio que o refino tem por objetivo a remoção de todas as estruturas lipídicas derivadas dos triacilgliceróis (três moléculas de ácidos graxos esterificadas com uma molécula de glicerol), tem-se a degomagem como a primeira etapa do refino e a principal, pois é responsável pela remoção de 3 a 5% de compostos hidrofílicos do óleo bruto (MORETTO; FETT,1998).

A degomagem tem por finalidade, remover do óleo bruto principalmente fosfolipídeos, proteínas e substâncias coloidais, além de produzir óleos degomados para etapas subsequentes do refino. Sem a etapa de degomagem, não é possível proceder a outras etapas de refino como a neutralização (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O processo de degomagem com água consiste basicamente na adição de 1 a 3% de água ao óleo bruto aquecido a 60-70°C e agitação durante 20 a 30 minutos. Forma-se um precipitado que é removido do óleo por centrifugação a 5000-6000 rpm. As gomas obtidas, que contém cerca de 50% de umidade, são secas sob vácuo (aproximadamente 100 mmHg de pressão absoluta) à temperatura de 70 a 80°C. O produto chamado de lecitina de soja comercial consiste em 60% de fosfolipídeos, 38% de óleo e 2% de umidade, entretanto, existem outros constituintes em menor quantidade (MORETTO; FETT, 1998).

A Figura 2.11 refere-se a uma planta de remoção da lecitina (fosfolipídeos) do óleo bruto com a água.

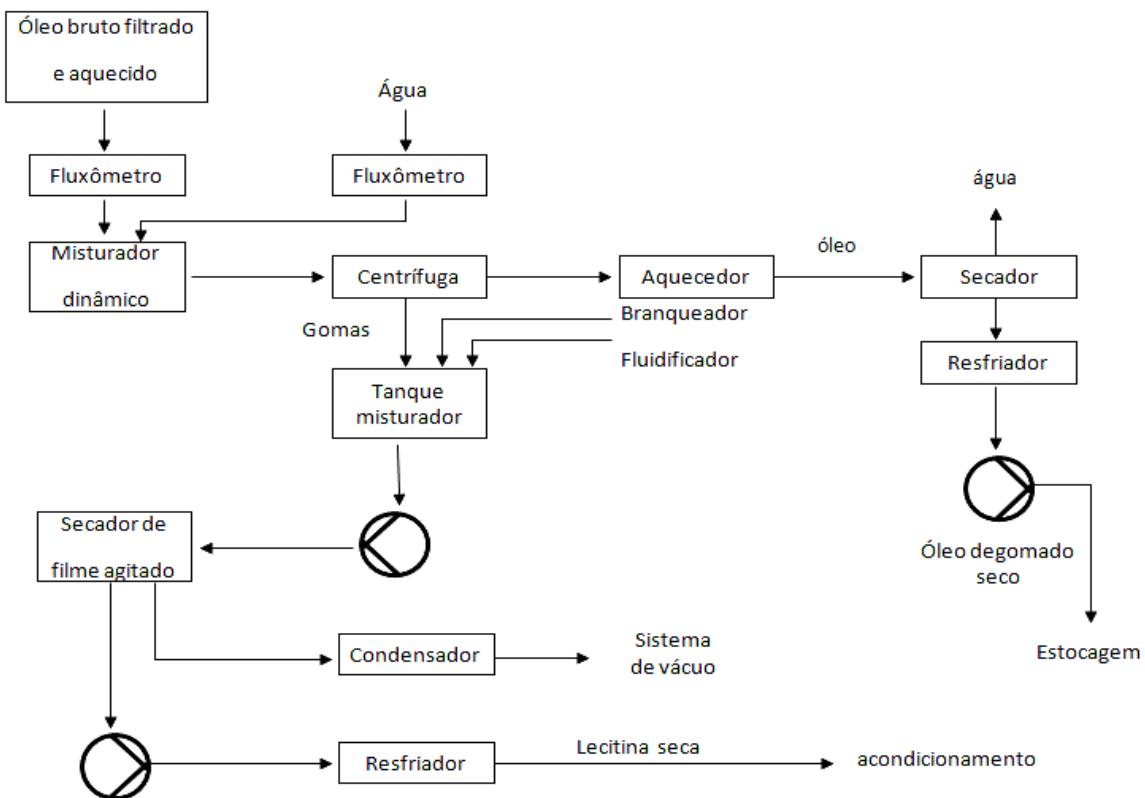


Figura 2.11: Fluxograma de degomagem com água e obtenção de lecitina e óleo degomado.

FONTE: DORSA, (2004).

A Figura 2.11 é um fluxograma de uma instalação contínua de degomagem com água. Precaução deve ser despendida à temperatura, pois uma baixa temperatura irá produzir uma melhor degomagem, mas, causando maiores perdas de óleo arrastado nas gomas. Numa alta temperatura, ocorrem menos arrastes de óleo nas gomas, mas, mais gomas permanecerão no óleo sem hidratação e não serão separadas no processo. A temperatura ótima de operação estimada para a etapa de degomagem é na faixa de 70 a 80°C (DORSA, 2004).

A lecitina proveniente do processo de degomagem úmida arrasta consigo um alto teor de umidade, da ordem de 50%. As gomas úmidas são suscetíveis à fermentação microbiana e requerem secagem imediata. As gomas ainda úmidas das centrífugas são transferidas para um tanque de mistura e podem ser adicionadas de agentes branqueadores de agentes de fluidez ou ambos podem ser adicionados. Com ou sem aditivos, as gomas úmidas, contendo aproximadamente 50% de água devem então ser secas até no máximo de 1% de umidade (DORSA, 2004).

Tendo em vista a alta viscosidade da mistura e a impossibilidade de utilização de elevadas temperatura na etapa de secagem é importante a utilização de um evaporador de filme agitado no processo, utilizando-se como fluido de aquecimento água quente à temperatura controlada (60°C) e vácuo (DORSA, 2004).

O comportamento da viscosidade da lecitina de soja em função da umidade é indicado na Figura 2.12 onde o aumento na viscosidade começa com aproximadamente 20% de umidade, chega a 8%, e então cai rapidamente entre 7 e 4% de umidade.

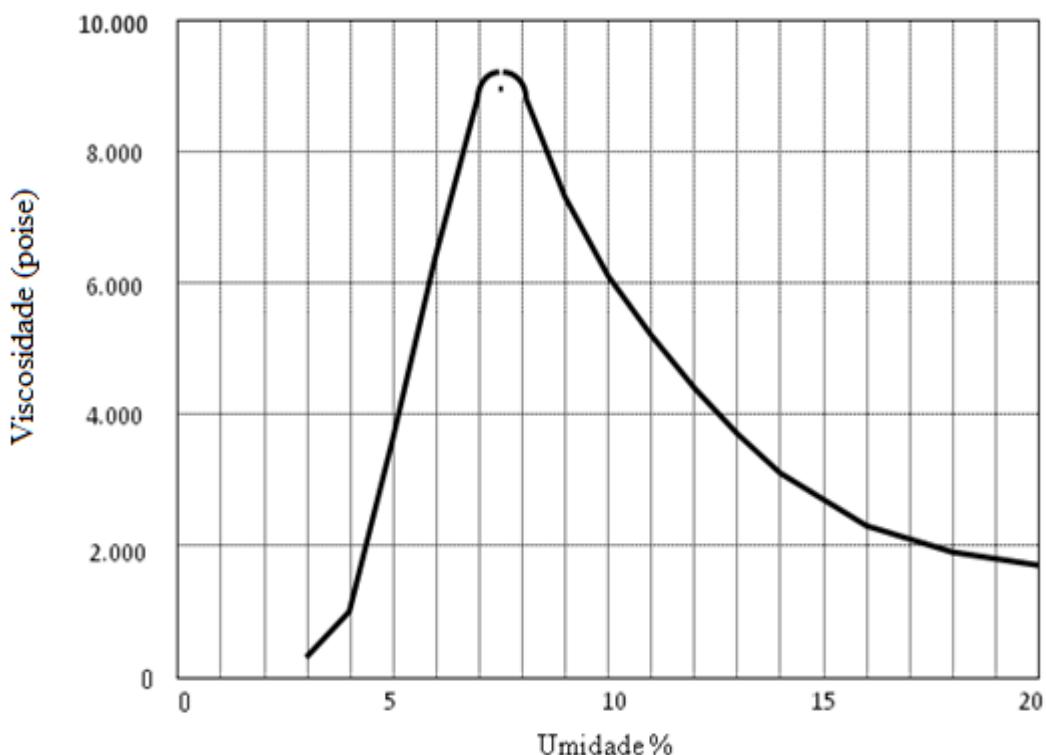


Figura 2.12: Variação da viscosidade da lecitina de soja em função do percentual de umidade.

Fonte: DORSA, (2004); GUSTONE; HARWOOD; DIJKSTRA, (2007)

A menor ou maior viscosidade da lecitina de soja pode alterar o escoamento do produto em etapas subsequentes da obtenção da lecitina. O estudo do comportamento de escoamento da lecitina, não só influencia nas instalações e equipamentos, mas também na sua aplicação industrial.

2.2.1 Reologia da lecitina de soja

Lambourne *et al.*, (1999) relataram que a viscosidade da lecitina de soja, durante a secagem sob vácuo e agitação, aumenta consideravelmente quando a umidade se encontra entre 5 a 15%, fazendo com que processos como os de aspersão ou instantaneização sejam prejudicados. Portanto, investigaram a reologia da lecitina adicionada de água e de óleo. A lecitina com água mostrou comportamento de fluido de Bingham e com óleo comportou-se como fluido pseudoplástico, com o decréscimo da umidade.

Os fluidos de Bingham e os pseudoplásticos são fluidos denominados de não newtonianos e apresentam como característica comum, a não uniformidade entre a taxa de cisalhamento e a taxa de deformação do fluido, à uma mesma temperatura e pressão, quando em movimento (SHIROMA, 2012). As Equações (1) e (2) regem os comportamentos, para o fluido pseudoplástico e de Bingham, respectivamente.

$$\tau_{xy} = -k \left(\frac{dv_x}{dy} \right)^n, \quad \frac{dv_x}{dy} = \gamma \quad (1)$$

$$\tau_{xy} = \pm \tau_L - \mu_p \left(\frac{dv_x}{dy} \right), \quad |\tau_{xy}| > |\tau_L| \quad (2)$$

onde k , refere-se ao índice de consistência, n ao índice de comportamento do fluido e γ à taxa de deformação, segundo modelo de *Ostwald de Waelle* ou modelo de *Power Law* (Equação 1). Na Equação 2, há a descrição do fluido de Bingham, onde τ_L é a tensão de cisalhamento crítica (N/m^2) e μ_p é a viscosidade aparente do comportamento plástico (Pa.s).

São exemplos de fluidos pseudoplásticos, as polpas de frutas. Já a margarina, manteiga, catchup e pasta de dentes são exemplos de fluídos de Bingham (SHIROMA, 2012).

A lecitina de soja é constituída por uma diversidade de moléculas com elementos diferentes (carboidratos, carotenóides, tocoferóis, clorofilas, fosfolipídeos e ácidos graxos), como os fosfolipídeos e que influenciam no seu comportamento reológico.

Os fluídos newtoniano, cujo valor do índice de comportamento do fluido (n), por exemplo, pode ser igual a 1, coeficiente de fluidos newtonianos. Os fluídos newtonianos são descritos pela Equação (3).

$$\tau_{xy} = -\mu \frac{dv_x}{dy} \quad (3)$$

Mas de modo geral pela Lei de Potência, descrita por *Ostwald de Waelle* os fluidos são descritos pela Equação (4).

$$\tau = k(\gamma)^n \quad (4)$$

onde, τ é a tensão de cisalhamento, k é o índice de consistência do fluido, γ é a taxa de deformação e n é o índice de comportamento do fluido ao escoar. O valor de k expressa a natureza do fluido, características físicas, que podem variar termodinamicamente e n classifica os perfis de escoamento. Os perfis de escoamento dos fluidos equacionados e outros podem se visualizados na Figura 2.13.

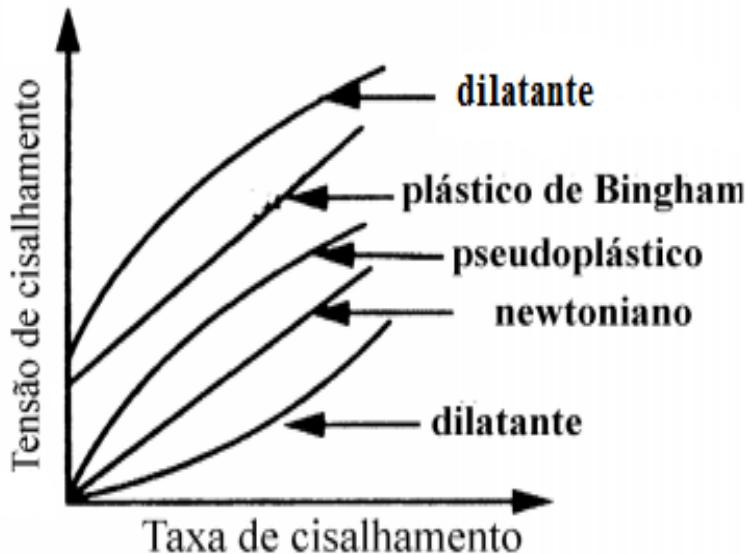


Figura 2.13: Classificação do comportamento de escoamento, tensão de cisalhamento em função da taxa de cisalhamento.

Fonte: FERREIRA *et al.*, (2005).

Na Figura 2.14 podem ser verificados os perfis de escoamento dos fluidos em escala logarítmica.

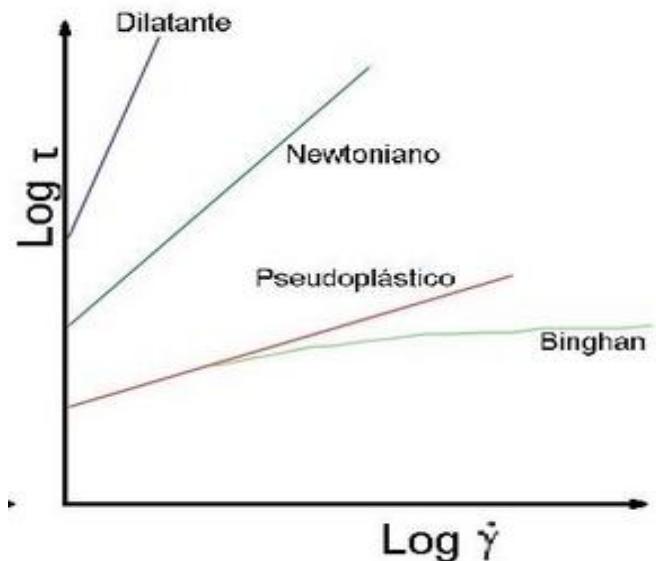


Figura 2.14: Classificações dos fluidos em escala logarítmica.

Fonte: SANTANA, (2014).

A fluidodinâmica pode ser alterada por diversos fatores e um deles pode ser devido à composição do produto que escoa. Na etapa de degomagem os fosfolipídeos removidos podem ser classificados em hidratáveis e não hidratáveis. Os hidratáveis são a fosfatidilcolina e o fosfatidilinositol, já a fosfatidiletanolamina é considerada não hidratável facilmente, pois se complexa com sais iônicos presentes no óleo bruto e hidratáveis (BEI, 2005).

Portanto, ao final da secagem, obtendo-se lecitina com elevada viscosidade, ocorre uma padronização da lecitina em termos de viscosidade, índice de insolúveis em acetona (fosfolipídeos) e insolúveis em tolueno ou hexano. A padronização é realizada com a finalidade primária de diminuir a viscosidade pela adição de óleo de soja ou óleo da mesma matéria-prima da lecitina. Secundariamente, intenciona-se a padronização do produto em função do conteúdo de fosfolipídeos e ação emulsificante, pelo cálculo do BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico). Essa padronização é monitorada pela análise de insolúveis em hexano ou tolueno que mensura a quantidade de triglicerídeos adicionados e segundo órgãos regulamentadores não deve ser superior a 0,3% (GUSTONE et al., 2007).

Após a secagem e padronização, há a etapa de filtração que é opcional, mas pode agregar valor à lecitina, pois segundo Gustone; Harwood; Dijkstra, (2007), a lecitina filtrada possui mais brilho ao retirar-se partículas dispersas.

Antes de filtrar a lecitina, essa pode ser clarificada através da adição de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v) em até 1,5% sobre o conteúdo de lecitina ou duplamente clarificada pela adição de até 0,5% de peróxido de benzoíla, após ter sido adicionada de peróxido de hidrogênio (GUSTONE et al., 2007).

2.2.2 Etapa de clarificação da lecitina de soja

Szuhaj (1989) descreveu a clarificação da lecitina de soja pela aplicação de 0,3 a 1,5% de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v), mantendo-se a lecitina de soja sob agitação constante por 30 a 60 minutos, à temperatura de 50 a 60°C. O percentual de peróxido de hidrogênio, segundo Miyasaka; Medina, (1981), adicionado na lecitina de soja para clarificação pode ser de até 2,0%. Já Chakrabarty, (2003) relatou que a adição de peróxido de benzoíla pode ser de até 1,5%, sendo que este reduz os compostos de coloração vermelha e o peróxido de hidrogênio, as substâncias de cor marrom.

Akoh; Min; Dekker, (2002) relataram que a adição de 1,5% de peróxido de hidrogênio, com agitação constante por 30 a 60 minutos, elevando-se a temperatura de 50-60°C para 60-80°C não modifica substancialmente as características oxidativas da lecitina de soja, mas principalmente auxilia no escoamento e agitação da lecitina na etapa de clarificação.

Em 1985, a FDA (*Food and Drug Administration*) nos Estados Unidos, estudaram a toxicologia dos resíduos de peróxidos de hidrogênio na lecitina de soja a 30% (v/v), mostrando que até 2,0% de adição não corresponderam a alterações nos resultados biológicos (em ratos) coletados. Também estudaram a utilização de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), atestando que a aplicação desse não compromete toxicologicamente o produto, sendo assegurado um limite máximo de resíduos de 0,1 ppm de peróxido de hidrogênio (MITCHELL, 1988).

Rahman, (2007) relatou diversos estudos em que a adição de peróxido de hidrogênio puro em quantidades de 0,03 a 0,05% no leite para a preservação do prazo de validade, mostraram promissores resultados mediante a adição associada a temperaturas elevadas isentando o produto de microrganismos, equiparando-se ao processo de pasteurização.

De acordo com o informe técnico n. 34 da ANVISA, é permitida a adição de 0,03 a 0,08 mg de H₂O₂ em 1 litro de leite, sem causar danos à saúde públicas dos

consumidores. O JECFA (*Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*), pela RDC 13, determinou o peróxido de hidrogênio, coadjuvante de tecnologia para a clarificação de açúcares, toxicologicamente seguro à ingestão, referindo-se à Ingestão Diária Admissível (IDA) de peróxido de hidrogênio expressa em mg/kg de peso corpóreo por dia (BRASIL, 2008; BRASIL, 2007b).

A lecitina de soja clarificada com peróxido de hidrogênio ou peróxido de benzoíla deve possuir qualidade oxidativa, ou seja, possuir integridade em sua estrutura molecular, sem clivagens ou quebra de ligações e a formação de compostos que possam interferir na textura, aroma, sabor e aspectos nutricionais do produto. A simples adição dos peróxidos altera a estrutura lipídica da lecitina, observada pela modificação na coloração, no entanto análises físico-químicas e demais estudos devem ser realizados para verificar-se as alterações de oxidação na lecitina clarificada.

2.2.2 Oxidação da lecitina de soja

De acordo com Shahadi (2006), após a secagem, a coloração da lecitina é marrom, âmbar, devido à maior concentração de carotenoides, substâncias marrons e clorofilas. A adição de peróxido de hidrogênio degrada ou oxida esses compostos coloríferos, obtendo-se coloração amarelada na lecitina clarificada com peróxido de hidrogênio.

Os triglicerídeos adicionados à lecitina de soja na etapa de padronização em presença de peróxido de hidrogênio, agente clarificante, podem ser oxidados e formam compostos primários (peróxidos e hidroperóxidos) e secundários (epóxidos, aldeídos, cetonas), de acordo com a teoria dos radicais livres, como mostrado na Figura 2.15.

Gustone; Harwood; Dijkstra, (2007) afirmaram que a coloração marrom da lecitina se deve às reações de Maillard entre os grupos aminados livres (proteínas) reagindo com a fosfatidiletanolamina e à caramelização de açúcares simples presentes na lecitina na etapa de secagem, por isso o rígido controle de temperatura.

Entende-se que o mecanismo de reação mostrado na Figura 2.16 ocorre normalmente na lecitina devido à presença de proteínas ou grupamentos amino livres de proteínas desnaturadas pela elevada temperatura do processo de degomagem e são extraídas pela água inserida no processo.

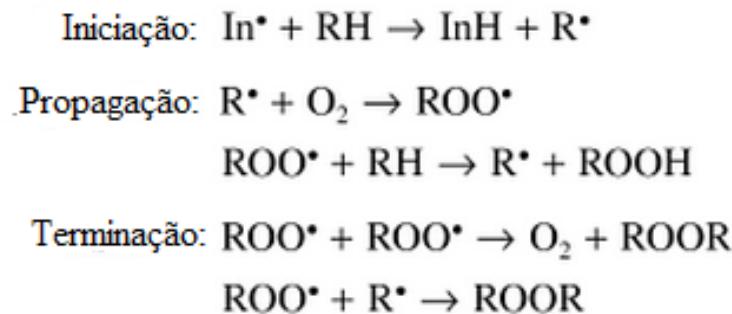


Figura 2.15: Teoria dos radicais livres, formação de peróxidos e hidroperóxidos.

Fonte: AKOH; WRIGHT; ALEJANDRO G. MARANGONI, (2006).

Pokorny; Schmidt, (2011) esquematizaram a reação entre ácidos graxos livres e grupos aminados livres na lecitina, como mostrado na Figura 2.16.

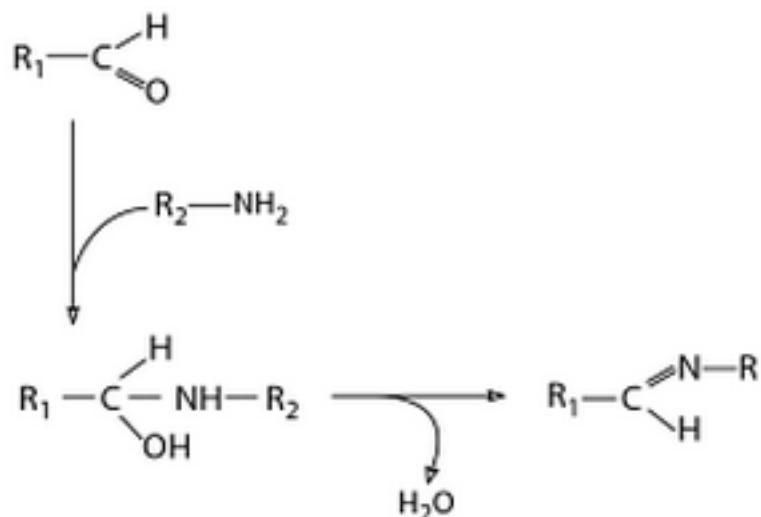


Figura 2.16: Reação de grupamento amino livre com um aldeído.

Fonte: POKORNY; SCHMIDT, (2011).

Na Figura 2.16, R_1 corresponde a um radical de ácido graxo livre. Outras reações de oxidação, quebra de duplas ligações, localizadas nos ácidos graxos insaturados dos triglicerídeos ou esterificados na molécula dos fosfolipídeos, podem ser verificadas na Figura 2.17.

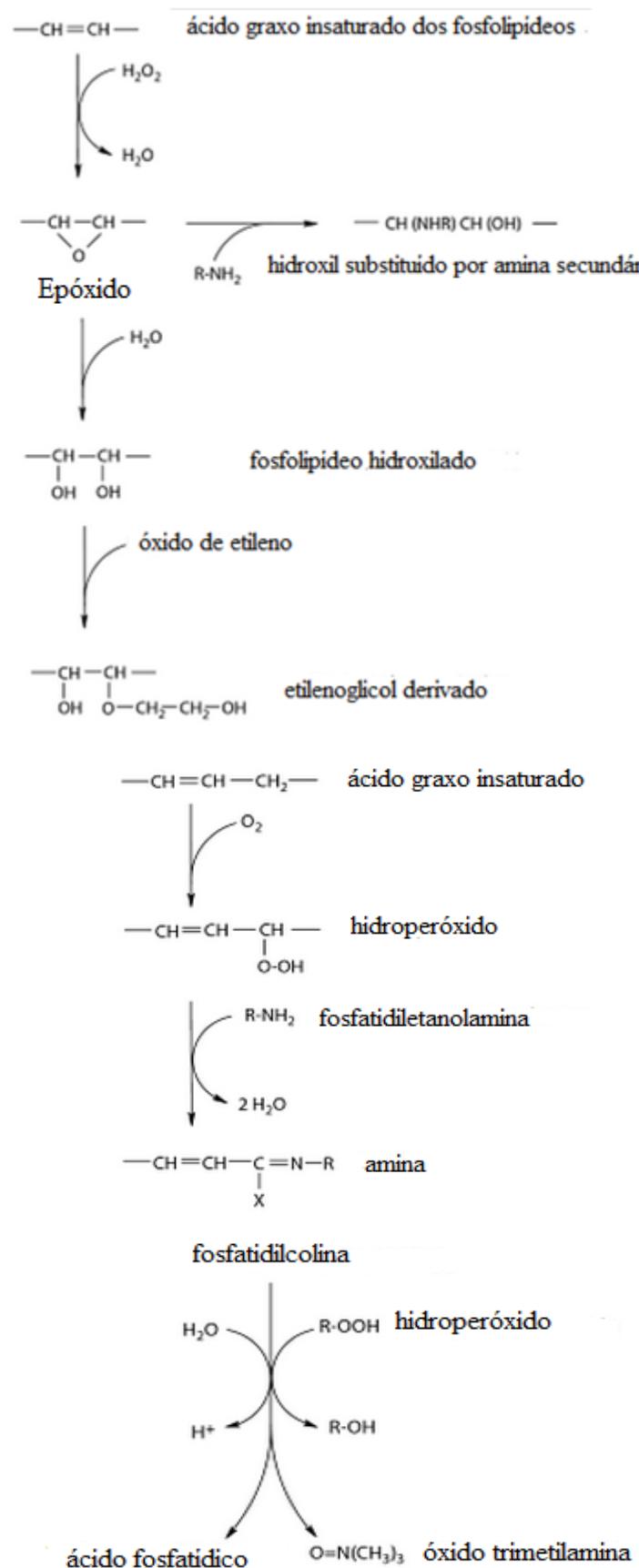


Figura 2.17: Reações de oxidação da fosfatietanolamina e da fosfatidilcolina

Fonte: POKORNY; SCHMIDT, (2011).

As duplas ligações oxidadas com peróxido de hidrogênio na etapa de clarificação podem formar epóxidos e hidroperóxidos, os quais reagem com a fosfatidiletanolamina, preferencialmente, formando iminas insaturadas altamente reativas com melanoidinas. A fosfatidilcolina também é clivada formando óxidos de trimetilaminas, como mostrados na Figura 2.17. Amino grupos dos fosfolipídeos, principalmente da fosfatidiletanolamina, reagem com açúcares simples e outros produtos de degradação dos açúcares simples, polimerizando em melanoidinas, as quais podem novamente sofrer oxidações e tornarem a cor da lecitina amarelada/marrom (POKORNY; SCHMIDT, 2011).

A adição de peróxido de hidrogênio além de oxidar os compostos coloríferos, também degradam as duplas ligações dos ácidos graxos insaturados esterificados nos fosfolipídeos, diminuindo a qualidade nutricional da lecitina, ao saturar as moléculas de ácidos graxos. Porém, essa reação aumenta a estabilidade às demais oxidações e favorece a formação de emulsões do tipo A/O (água em meio óleo) (SATUFFER, 1990).

2.3 Utilização da lecitina de soja como emulsificante

O Ministério da Saúde e Secretaria de Vigilância Sanitária, pela Portaria n. 540 (BRASIL, 1997) estabeleceram regulamento técnico para aditivos adicionados em alimentos, no qual definiu-se emulsificantes ou emulsionantes, como toda substância que torna possível a formação ou a manutenção uniforme, em uma única fase, duas ou mais fases imiscíveis nos alimentos. Pela Instrução Normativa n. 42 (BRASIL, 2010) foi estabelecido o uso da lecitina de soja como emulsificante, estabilizante e antioxidante, sem restrições à adição.

Verificando-se a rotulagem dos alimentos, na lista de ingredientes de cada produto alimentício embalado, pode-se verificar que a lecitina de soja é adicionada em chocolates, barras de cereais, biscoitos, torradas, barras de proteínas, margarinas e em produtos light (teor reduzido). Como agente dispersante ou instantaneizante é aplicada em refrescos em pó, leite em pó, cacau em pó, achocolatados, café solúvel, sopas e suplementos alimentares (CANON ADITIVOS PARA ALIMENTOS LTDA, 2013).

Norn, (2015) publicou os percentuais de aplicação e utilização da lecitina de soja nos mais diversos segmentos como verificado na Figura 2.18.

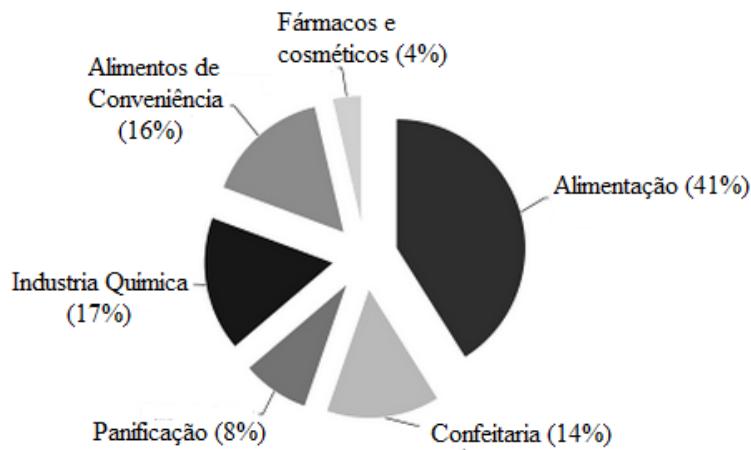


Figura 2.18: Consumo mundial de lecitina de soja, por segmento (produção total de 415 KMT)

Fonte: NORN, (2015).

Nota-se na Figura 2.18 elevado percentual de aplicação da lecitina de soja em alimentos, como agente emulsificante principalmente. A adição de emulsificante ou a combinação de mais de um emulsificante tem por objetivo promover a estabilidade da emulsão. A emulsão consiste em um sistema de líquidos imiscíveis que emulsionados (adicionados de emulsificantes) e utilizando-se energia mecânica de agitação para a formação de gotículas da fase dispersa com diâmetros variando de 0,1 a 100 μm , visualmente formam apenas uma fase (MC CLEMENTS, 1999).

Segundo Araújo, (2011), o emulsificante servirá para manter a emulsão estável, cuja natureza ampifílica ou anfótera do emulsificante, em interage com a água e com o óleo. Em sua obra, relacionou o aspecto visual da emulsão com os diâmetros das gotículas dispersas na fase dispersante. Para a emulsão com aparência visual de transparência, as gotículas de água ou de óleo devem possuir diâmetros igual ou inferior a 0,03 μm , emulsões com coloração opaca para diâmetros de 0,3 μm e cor de óleo (amarelado) gotículas com 3 μm .

As emulsões podem ser classificadas de acordo com a distribuição de suas fases: óleo e água. Se as gotículas forem de óleo em meio água, tem-se uma emulsão do tipo O/A e se o contrário, tem-se emulsão A/O. Na Figura 2.19, verifica-se modelos dos dois tipos de emulsão (ARAÚJO, 2011).

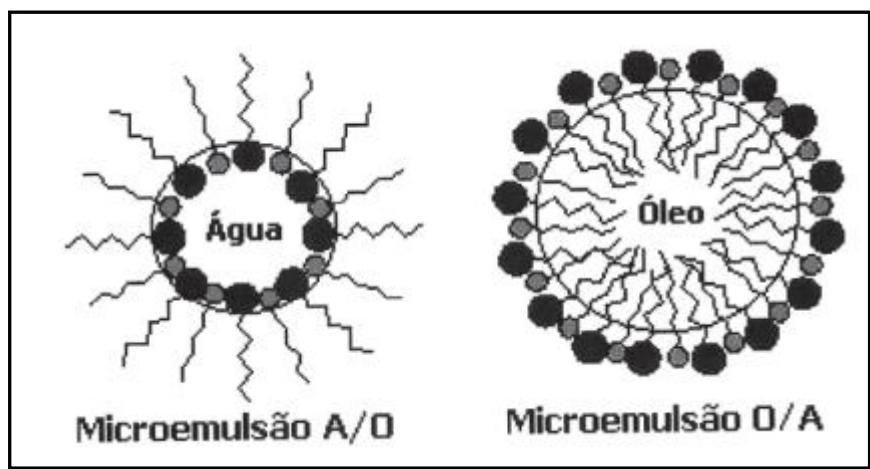


Figura 2.19: Tipos de emulsões.

Fonte: OLIVEIRA *et al.*, (2004).

Emulsões do tipo óleo/água são estabilizadas por emulsificantes solúveis em água, ao passo que as emulsões água/óleo são estabilizadas por emulsificantes solúveis em óleo. Existem diversos sistemas de classificação de emulsificantes de acordo com suas propriedades físico-químicas, entre eles o baseado na solubilidade do emulsificante no óleo e, ou, na água, fundamentado na relação entre grupos lipofílicos e hidrofílicos, como mostrado na Figura 2.20 (ARAÚJO, 2011).

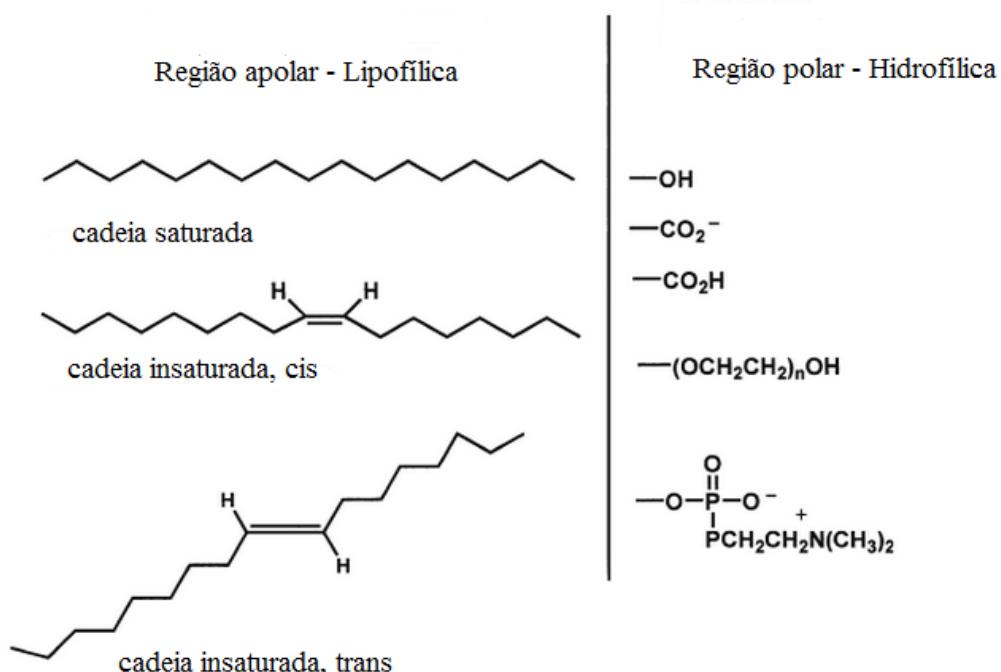


Figura 2.20: Grupos moleculares de força polar e apolar.

Fonte: HASENHUETTL; HARTEL (2008).

O BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico) é um valor numérico estimado pelas forças polares e apolares que a molécula do emulsificante apresenta, o qual indica a afinidade relativa da molécula do emulsificante pela água ou pelo óleo. Altos valores de BHL indicam que a molécula do emulsificante possui afinidade com a água e, portanto, possui grande quantidade de porções hidrofílicas e baixos valores correspondem a grandes quantidades de porções lipofílicas nas moléculas dos emulsificantes (ARAÚJO, 2011).

A lecitina de soja comercial normalmente apresenta cerca de 65% de fosfolipídeos, 30% de óleo (triglicerídeos) e 5% de substâncias outras que podem possuir característica polar e apolar. A determinação do conteúdo de fósforo no óleo bruto e na lecitina de soja refere-se diretamente à quantidade de fosfolipídeos e normalmente realiza-se a análise de insolúveis em acetona, para estimar a quantidade de substâncias polares, pois os ácidos graxos (triglicerídeos) são solúveis em acetona, obtenha-se na análise gravimétrica a quantidade de matéria insolúvel (WHITEHURST, 2004).

2.3.1 Balanço Hidrofílico Lipofílico

Segundo Pomeranz, (1991) existem diversos tipos de cálculos para se determinar o valor de BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico) dos emulsificantes levando-se em consideração as porções hidrofílicas/lipofílicas das moléculas.

Na Tabela 2.6 são mostradas três equações, a primeira consiste numa relação entre a massa estimada da porção hidrofílica (H_f) pela massa total do emulsificante, multiplicado por 20. Observa-se que os percentuais entre a porção hidrofílica e lipofílica somam-se 100%, correspondente à massa total do emulsificante.

A segunda equação, Tabela 2.6, o BHL é obtido pela porção hidrofílica mássica (H_f) dividida por 5, nessa forma de cálculo apresenta-se um comportamento do emulsificante na emulsão, variando na escala de 1 a 20.

A terceira equação foi criada por Willian C. Griffin em 1940, ao propor uma classificação para os surfactantes do tipo de emulsão A/O. Por se tratar de emulsificantes oleosos, correlacionou análises físico-químicas de qualidade de óleos e gorduras, como índice de saponificação (IS) com o índice de acidez (IA), diminuindo o valor por 1 e multiplicando o resultado por 20 (COURTNEY et al., 1997). A equação

apresentada não é modulada, mas de acordo com Kabri *et al.*, (2011) que ao aplicar a fórmula utilizou a função de módulo para obtenção dos seus resultados de BHL.

Tabela 2.6: Métodos de cálculo de BHL, valores e ações correspondentes.

BHL = (Hf/Mt)20		BHL = Hf/5		BHL = 20(1-IS/IA)
% Hidrofílico	% Lipofílico	Valor BHL	Comportamento	Campo de aplicação
0	100	1	Não dispersa	Antiespumante
10	90	2		
20	80	4	Baixa dispersão	Emulsificante A/O
30	70	6		
40	60	8	Dispersão turva	
50	50	10	Estável dispersão turva	
60	40	12	Dispersão transparente	
70	30	14		Emulsificante O/A
80	20	16		
90	10	18	Solução coloidal	
100	0	20		

Fonte: POMERANZ, (1991)

O índice de acidez indica a quantidade estimada de ácidos graxos livres, ou seja, hidrolisados da ligação de esterificação com o radical de glicerol das moléculas de triglycerídeos ou dos fosfolipídeos (HERTRAMPF; PEIDAD-PASCUAL, 2000). Analiticamente corresponde à quantidade de miligramas de KOH requeridos para neutralizar os ácidos graxos livres em 1 g de gordura (NIGAM; AYYAGARI, 2007; NIELSEN, 2010).

O índice de saponificação é definido como a quantidade de miligramas de KOH necessários para saponificar 1 g de gordura, o excesso é titulado com ácido clorídrico (NIELSEN, 2010). O índice de saponificação estima o peso molecular dos ácidos graxos esterificados nas moléculas de triglycerídeos ou de fosfolipídeos (RANKEN *et al.*, 1997). Ácidos graxos esterificados com baixo peso molecular requerem uma maior quantidade de álcali para a saponificação e ácidos graxos de elevados pesos moleculares requerem pequena quantidade de álcali durante a saponificação da amostra (NIGAM; AYYAGARI, 2007). O índice de saponificação de

óleos e gorduras são similares, não diferem substancialmente entre os tipos de matérias oleaginosas e por isso, não é utilizado como único método qualitativo (RANKEN et al., 1997).

A equação de Griffin nem sempre pode ser utilizada, pois os triglicerídeos são lipofílicos e auxiliam na emulsão do tipo A/O. O óleo de soja refinado, segundo a RDC n. 482, possui índice de acidez de 0,2 mgKOH/g e índice de saponificação igual 189 mgKOH/g. Se aplicarmos esses valores na equação de Griffin o valor encontrado será negativo e elevado, que na escala de BHL corresponde a emulsões do tipo O/A (BRASIL, 1999).

Assim, Davies com a intenção de validar a equação de Griffin, criou outro método de determinação do valor de BHL ao designar valores de BHL para os grupos hidrofílicos e lipofílicos de um emulsificante (COURTNEY et al., 1997). O valor de BHL é dado pelo somatório das contribuições dos grupos hidrofílicos e dos grupos lipofílicos, como mostra a Equação (5).

$$BHL = 7 + \sum (\text{valores dos grupos hidrofílicos}) - \sum (\text{valores dos grupos lipofílicos}) \quad (5)$$

Os valores foram tabelados por Davies de acordo com cada grupo, como pode ser visualizado na Tabela 2.7.

Como pode ser verificado, todos os métodos de cálculos mostrados são estimativas do valor de BHL dos emulsificantes, são formas qualitativas para designar o tipo de emulsão que determinado emulsificante possui ação. Normalmente nos alimentos industrializados são utilizados mais de um tipo de emulsificante para manter a estabilidade da emulsão a depender do prazo de validade do produto e a que se destina (ARAÚJO, 2011).

Nos alimentos, a lecitina de soja tem sido utilizada como emulsificante em alimentos em pó finos como leites, cafés e achocolatados, mas também como agente dispersante, solubilizante ou instantaneizante.

Tabela 2.7: Valores numéricos dos grupos definidos por Davies.

Hidrofílicos	Valores	Lipofílicos	Valores	Grupos derivados	Valores
-SO ₃ Na	38,7	-CH ⁻	-0,47	-(CH ₂ -CH ₂ -O) ⁻	0,33
-COOK	21,1	-CH ₂ ⁻	-0,47	-(CH ₂ -CH ₃ -CH ₂ -O) ⁻	0,15
-COONa	19,1	-CH ₃ ⁻	-0,47		
-N ⁺³	9,4	=CH ⁻	-0,47		
-COO ⁻ (Soritol)	6,8	-	-		
Ester livre	2,4	-	-		
-COOH	2,1	-	-		
-OH	1,9	-	-		
-O ⁻	1,3	-	-		
-OH (sorbitol)	0,5	-	-		

Fonte: COURTNEY; RIEGER; RHEIN, (1997)

2.3.2 Lecitina de soja como aditivo para lecitinação e instantaneização

O processo de instantaneização tem por objetivo a rápida dispersão de produtos como cafés, achocolatados, leites e outros em água, seja em temperatura ambiente ou quente. Para as dispersões de substâncias imiscíveis, por exemplo o café, que possui óleos essenciais que fornecem aroma e sabor à bebida, é necessário adicionar um agente emulsificante para ocorrer a dissolução do mesmo em água.

O processo de instantaneização é associado ao processo de aglomeração de partículas em pó, pela aspersão do fluido emulsificante que as encapsula e as aderem umas às outras. Nesse processo são formadas partículas de diversos tamanhos, com dutos pelos quais a água irá entremear, molhar, imergir, dispersar e solubilizar as pequenas partículas no líquido dispersante (GAVA, 2007).

Gava (2007) descreveu duas operações de aglomeração, uma por reumedecimento e outra por acoplamento. No reumedecimento o pó é seco a 3% de umidade, depois reumedecido com 6-12%, aplicado agente dispersante/emulsificante ou não e em seguida seco novamente até 3% de umidade. Já o processo de acoplamento, o pó sai do atomizador com umidade maior (6-12% de umidade), aplicado agente dispersante/emulsificante ou não e seco até atingir 3% de umidade. A aplicação do agente dispersante/emulsificante na etapa de aglomeração pode ocorrer ou não, caso o

agente já tenha sido aplicado anteriormente na etapa de lecitinação ou mesmo para obtenção de aspectos diferenciados no produto.

Na etapa de lecitinação, a lecitina de soja, emulsificante, agirá como um revestimento físico das partículas, principalmente daquelas que contêm gordura em sua composição, de tal forma que com o óleo em meio aquoso, promova uma redução da tensão superficial entre as fases sólida e líquida. A diminuição na tensão superficial entre as fases faz com que estas se misturem formando apenas uma fase (VISSOTTO et al., 2006).

Produtos em pó com certa quantidade de gordura apresentam molhabilidade ruim em água, mesmo passando pelo processo de aglomeração, pois a gordura fica na superfície das partículas, por exemplo, no caso do leite em pó, a matriz proteica fica revestida pela gordura, a qual é imiscível em água. Nesse caso, a lecitina tem sido bastante utilizada e tem sido o principal emulsificante/dispersante do leite em pó (GAVA, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008).

O leite é um produto alimentício que possui alto valor nutricional, considerado completo em nutrientes. Possui sua composição centesimal alterada pela raça do animal, alimentação, ambiente e outros fatores. De modo geral, na Tabela 2.8, podem ser visualizados os constituintes médios do leite em que observa-se os tipos de leite e os teores lipídicos e respectivas autorias.

Tabela 2.8: Composição centesimal média de leites

Produtos	Composição Centesimal (g/100g)					Autores
	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos	
Leite A	87,27	0,74	3,80	3,28	4,91	
Leite B	87,31	0,56	3,80	3,22	5,11	
Leite C	87,95	0,54	3,10	3,24	5,17	TORRES <i>et al.</i> , (2000)
Leite em pó integral	2,98	5,34	25,72	25,68	40,20	
Leite em pó desnatado	3,00	8,5	1,90	35,60	51,00	PERRONE, (2010)
Leite UHT integral	86,57	0,73	2,47	2,21	8,02	NOGUEIRA; CANNIATTI-BRAZACA,
Leite UHT desnatado	88,88	0,74	0,28	2,56	7,54	(2008)

Na Tabela 2.8 observa-se os tipos de leite e principalmente os teores de lipídeos, pois a lecitina irá interagir com essa fração na etapa de lecitinação.

O processo de lecitinação consiste basicamente na adição de lecitina de soja a um determinado produto, como chocolate, sucos, leites e demais produtos em que a lecitina atue como emulsificante, estabilizante, umectante, antioxidante, na função de aditivo alimentar. A adição pode se dar por aspersão da lecitina fluida ao pó como foi realizado por Vissotto *et al.* (2006), ou por mistura/agitação da lecitina no leite fluido, como realizado por Fonseca *et al.*, (2011) que determinou a massa de lecitina a ser adicionada em função do teor de sólidos do leite.

Independente do modo de adição da lecitina de soja, os produtos finais obtidos estão na forma de pó, ou seja, passaram por processo de secagem. A secagem pode ser realizada por diversos métodos e normalmente, o leite em pó é seco por atomização (*spray dryer*), mas outros métodos como de criosecagem ou liofilização podem ser realizados (GAVA, 2007).

Segundo Almeida *et al.* (2008) são etapas de elaboração do leite em pó, a pasteurização ou esterilização, concentração do teor de sólidos por evaporação sob vácuo até 40-50%, homogeneização, atomização/nebulização e instantaneização. E, na etapa de instantaneização ocorre a adição de lecitina de soja, geralmente por atomização (*spray dryer*), cuja temperatura é em torno de 180°C do ar de entrada e diâmetros dos orifícios do atomizador de 1,5 mm.

De acordo com Francisco (2011), o método de secagem para leite em pó mais utilizado industrialmente é por *spray dryer* ou atomização, mas o *free drying* tem sido citado apesar de ser um método de elevado custo por apresentar a vantagem de principalmente não alterar as propriedades organolépticas do produto.

Sobre o método de *free drying* ou liofilização, Finzer, (2002) cuidadosamente descreveu a fenomenologia do processamento, ressaltando a importância da etapa de congelamento para se obter bons resultados no uso dessa tecnologia. Os métodos de congelamento são diversos, citando-se a utilização de nitrogênio líquido como opção rápida e eficaz para congelamento de amostras.

Martins *et al.*, (2011) ressaltou a importância da liofilização em manter as propriedades do leite inalteradas, proteínas, vitaminas, minerais, dentre outros componentes, ao abordar a conservação e aumento da quantidade de leite materno para bebês prematuros.

Para manter a qualidade sensorial do leite pelo processo de liofilização, e as propriedades físicas de molhabilidade, solubilidade ou dispersabilidade, pois segundo Millqvistfureby; Smith, (2007) são características observadas pelos consumidores de produtos em pó ao solubilizarem em água produtos como cafés, sopas, refrescos, cremes e leites. Ressalta-se a lecitinação como importante etapa para obter-se molhabilidade e dispersabilidade, tornando rápida e prática a interação dos sólidos solubilizados no fluido que normalmente é a água (polar).

CAPÍTULO III – ETAPA DE CLARIFICAÇÃO

A lecitina de soja utilizada na pesquisa foi fornecida pela empresa Caramuru Alimentos Ltda, nos anos de 2012 a 2013, para a realização do presente trabalho. Na Figura 3.21, tem-se a vista da embalagem contendo a lecitina comercial utilizada.



Figura 3.21: Vista da embalagem contendo a lecitina de soja comercial, in natura, utilizada no experimento.

Juntamente com a lecitina de soja tipo 150 BS, a empresa enviou laudo do produto, no qual constam análises físico-químicas (Cor Gardner máx. 15, Insolúveis em Acetona mín. 63%, Insolúveis em hexano máx. 0,30%, Umidade máx. 0,7%, índice de acidez máx. 28 mgKOH/g, índice de peróxidos máx. 20 meqO₂/kg e viscosidade a 25°C máx. 150 poise), segundo metodologia da AOCS (*American Oil Society Chemistry*). A cópia do documento expedido pela empresa encontra-se no Anexo I.

Os procedimentos experimentais foram realizados e conduzidos em parceria com o Instituto Federal de Educação do Triângulo Mineiro - IFTM, Campus Uberlândia, o qual cedeu espaço físico, o laboratório de análises físico-químicas, bem como vidrarias, equipamentos e alguns reagentes. Houve também a participação de alunos bolsistas Institucionais do IFTM que contribuíram na execução das análises sob a forma de projetos de pesquisas aprovados em editais específicos.

Mas, outros laboratórios contribuíram com resultados ou empréstimo e uso de equipamentos, como o IFTM, campus Itutiutaba, Instituto de Química da UFU, LabMulti e CPA da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Os métodos utilizados e execução experimental foram organizados de forma sistemática e iniciados pela elaboração do Planejamento Composto Central para proceder à etapa de clarificação e enfim, extrair respostas da etapa para aplicação no leite em pó da lecitina clarificada.

Neste trabalho foi realizado um Planejamento Composto Central (PCC), utilizando o *software Statistic® 7.0*, com o intuito de avaliar a influência conjunta das variáveis, concentração peróxido de hidrogênio, temperatura e tempo de agitação, em relação às respostas desejadas de: coloração, índice de iodo, coeficiente de extinção específica, BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico), índice de acidez, índice de saponificação, atividade de água e insolúveis em acetona.

Este tipo de planejamento estatístico visa estudar os efeitos das variáveis isoladas e suas interações em relação às respostas esperadas. Cada variável foi estudada em 5 diferentes níveis ($-\alpha$, -1 , 0 , 1 , $+\alpha$), cada nível possui seu respectivo valor nominal. O α utilizado foi ortogonal, cujo valor foi de 1,525, sendo a composição do PCC de 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 6 pontos centrais, totalizando 20 pontos experimentais. Foi considerado o ponto 21, como os resultados da lecitina de soja sem tratamento, ou seja, adição de H_2O_2 , temperatura e o tempo de agitação.

Os níveis das variáveis estudadas foram colocados na forma codificada (adimensionalizada), utilizando-se a equação geral de codificação, Equação (6).

$$X_n = (X - X_0) / \frac{X_{+1} - X_{-1}}{2} \quad (6)$$

Sendo, X_n é o valor da variável no experimento na forma codificada, X_1 é a temperatura ($^{\circ}C$), X_2 é a concentração percentual de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) e X_3 , o tempo de agitação (s); X é o valor real da variável a ser calculado; X_0 é o valor real da variável no ponto central; X_{+1} é o valor real da variável no nível superior; X_{-1} é o valor real da variável no nível inferior.

Na Tabela 3.9 tem-se o Planejamento Composto Central relativo à clarificação da lecitina de soja comercial clarificada com peróxido de hidrogênio sob variação da temperatura de $24,70^{\circ}C$ ($-\alpha$) a $55,25^{\circ}C$ (α), de concentração de peróxido de hidrogênio

a 35% (v/v) de 0,28% (-α) a 2,72% (α) e o tempo de 15,07 s (-α) a 624,93 s (α) sob agitação constante a 600±20 rpm.

Tabela 3.9: Planejamento Composto Central da lecitina de soja clarificada

Experimentos	Valor Real (Valor Codificado)		
	Temperatura (°C) X₁	Conc. de H₂O₂ (%) X₂	Tempo (s) X₃
1	30,00 (-1)	0,70 (-1)	120,00 (-1)
2	30,00 (-1)	0,70 (-1)	520,00 (1)
3	30,00 (-1)	2,30 (1)	120,00 (-1)
4	30,00 (-1)	2,30 (1)	520,00 (1)
5	50,00 (1)	0,70 (-1)	120,00 (-1)
6	50,00 (1)	0,70 (-1)	520,00 (1)
7	50,00 (1)	2,30 (1)	120,00 (-1)
8	50,00 (1)	2,30 (1)	520,00 (1)
9	24,70 (-α)	1,50 (0)	320,00 (0)
10	55,20 (α)	1,50 (0)	320,00 (0)
11	40,00 (0)	0,28 (-α)	320,00 (0)
12	40,00 (0)	2,72 (α)	320,00 (0)
13	40,00 (0)	1,50 (0)	15,07 (-α)
14	40,00 (0)	1,50 (0)	624,93 (α)
15	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)
16	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)
17	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)
18	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)
19	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)
20	40,00 (0)	1,50 (0)	320,00 (0)

Trabalhou-se com a variação na concentração de peróxido de hidrogênio (0,28%; 0,70%; 1,50%; 2,30% e 2,72%, m/v), temperaturas (25°C; 30°C; 40°C; 50°C e 55°C) e o tempo de agitação sob rotação constante (15 s; 120 s; 320 s; 520 s e 625 s) para a clarificação, a fim de se verificar a influência desses parâmetros ao final do planejamento experimental.

A clarificação da lecitina de soja foi realizada conforme Planejamento Composto Central (PCC), analisando-se o efeito da temperatura, concentração de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) adicionado e tempo de agitação à rotação constante.

Os resultados das clarificações da lecitina foram comparados e discutidos para se obter condições e variáveis que correspondam aos maiores valores de luminosidade, menor oxidação, melhor ação emulsificante para aplicação no leite em pó.

Para a etapa de clarificação foram definidos limites máximos e mínimos sobre a temperatura, tempo de agitação e principalmente adição de peróxido de hidrogênio, conforme informações disponíveis da literatura.

Na unidade experimental para execução da clarificação foi utilizado banho termostatizado ultra da Nova Ética para homogeneidade da temperatura da lecitina, termômetro tipo espeto Waterproof Digital para aferição da temperatura, aquecedor de cerâmica com display digital da temperatura da marca IKA CMAG HS4, para manter a temperatura durante processo de clarificação.

O agitador elétrico utilizado foi da Nova Instrumento NI 1137, com impulsor do tipo placa (1,40 X 39,92 X 29,92 mm) com 4 orifícios de diâmetro de 8,12 mm, como pode-se verificar na Figura 3.22. Para realizar a mistura, sendo mantida a rotação em 600 ± 20 rpm, constante e aferida com o aparelho tacômetro, marca Shimpo modelo DT-205B.

Como resposta imediata da etapa de clarificação, obteve-se os resultados de cor das lecitinas clarificadas e paralelamente foram realizadas demais análises quanto à quantidade de compostos coloríferos, ácidos graxos livres, matéria saponificável, solubilidade da lecitina adicionada de peróxido de hidrogênio, compostos primários e secundários da oxidação lipídica, estimativa da quantidade de compostos polares nas lecitinas clarificadas e a classificação dessas sobre a formação de emulsões.

Os resultados de coloração foram determinantes para se definir a lecitina clarificada a ser aplicada no leite UHT, proceder-se à secagem por liofilização e às análises qualitativas do leite em pó, comparando-se com o leite em pó lecitinado com lecitina comercial.

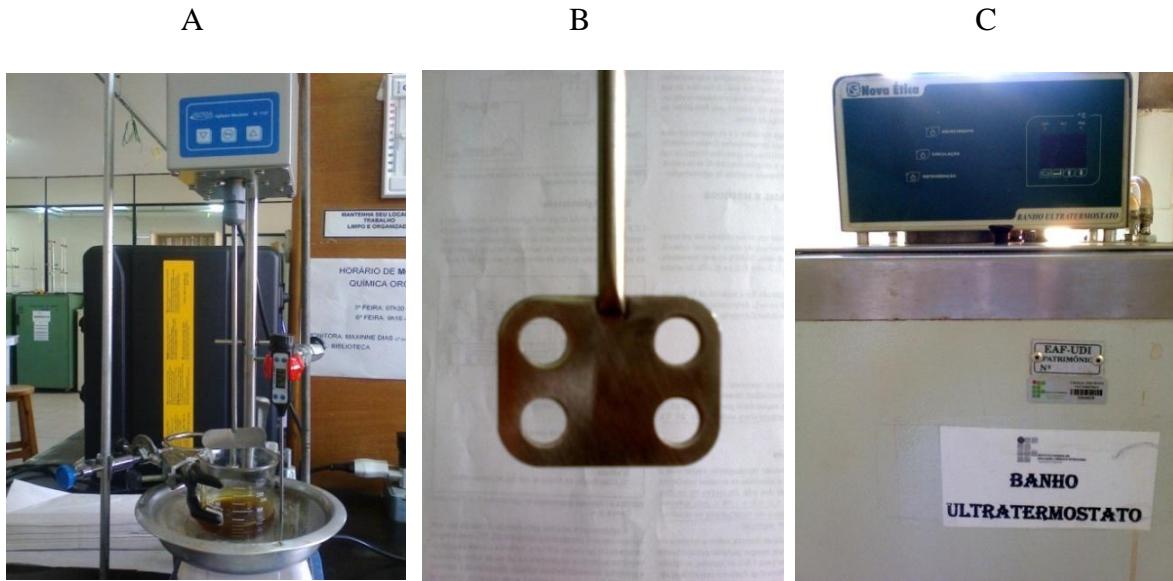


Figura 3.22: Agitador (A), impulsor (B) e banho termostato utilizados (C).

3.1.1 Análise de cor – Sistema Cielab L^* , a^* , b^* , C^* e H

Em cada experimento do planejamento obteve-se uma lecitina clarificada, que foi analisada quanto à cor, com o colorímetro Cromameter Konica Minolta CR 400, calibrado com placa de porcelana branca e iluminante D65. A análise foi realizada sempre num mesmo local, em dias ensolarados e no período da tarde, para se evitar que variações externas do ambiente pudessem influenciar na determinação da cor e em quadruplicata.

As lecitinas obtidas foram colocadas em copos descartáveis brancos, com volume máximo de 50 mL, cerca de 25 g de amostra foram inseridas nesses copos e o colorímetro posicionado 2 cm acima da superfície de cada amostra, como mostra a Figura 3.23.

Na Figura 3.23, foram enumerados os componentes do colorímetro utilizado, onde 1 refere-se ao mecanismo de disparo de fonte de luz, do iluminante D65, 2 ao local de posicionamento da amostra, 3 à amostra (lecitina clarificada) e 4 processador de dados em display LED, com bobina acoplada para impressão do resultado. Ressalta-se que o equipamento 4 é opcional à realização da análise, pois os parâmetros de cor podem ser visualizados no display LED do equipamento 1, devendo o instrumentista realizar a anotação dos resultados manualmente.

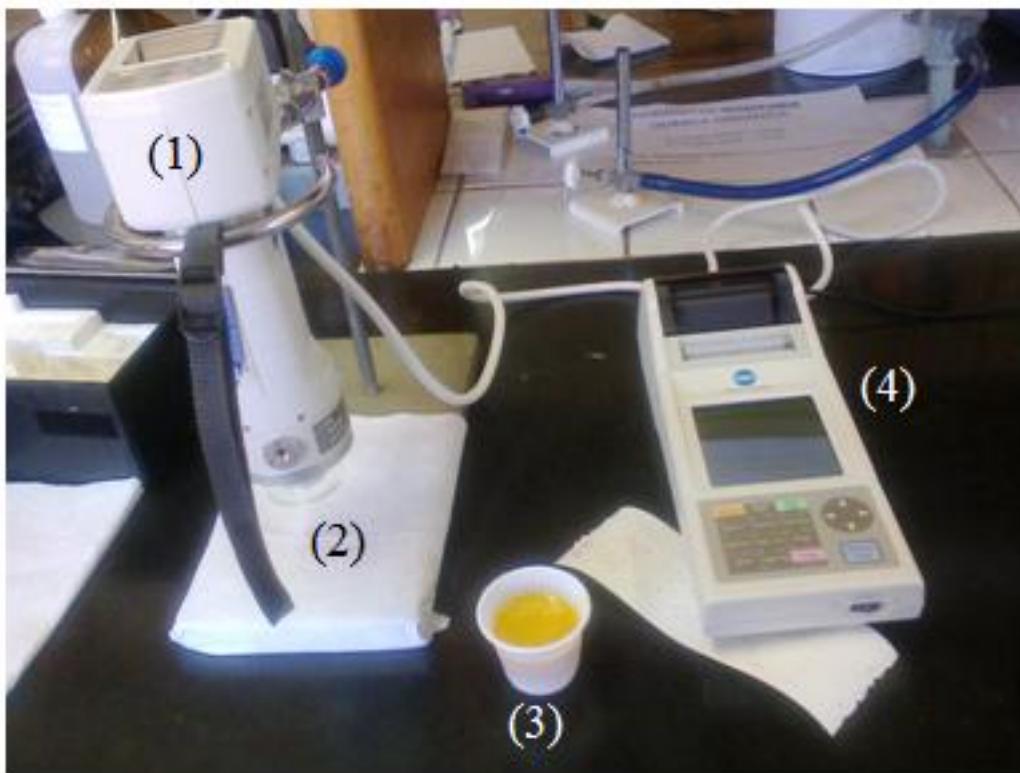


Figura 3.23: Colorímetro para determinação de cor da lecitina clarificada e amostras inseridas nos copos descartáveis.

Realizou a leitura dos valores de L^* (luminosidade), a^* (cor vermelho para valores positivos de a^* e verde para valores negativos de a^*) e b^* (cor amarela para valores positivos e cor azul para valores negativos de b^*). Os demais parâmetros de cor, como saturação da cor (C^*), tonalidade (H), variações de L^* , a^* e b^* (ΔL^* , Δa^* e Δb^*) em relação à lecitina não clarificada, variação total da cor (ΔE^*), variação total da saturação (ΔC^*) e variação total da tonalidade (ΔH), foram calculados.

A tonalidade da cor (H) pôde ser obtida matematicamente pela Equação (7).

$$H = \left(\arctan \left(b^* / a^* \right) \right) 180 / \pi \quad (7)$$

O valor numérico do arctang será positivo nos quadrantes 1 e 3 e possuirá valores negativos nos quadrantes 2 e 4 quadrantes. Em termos do valor do ângulo, a tonalidade, H , assume valores de 0° a 360° , aumenta no sentido anti-horário e a cada valor tem-se uma cor com tonalidade diferente.

A Equação (8) mostra o cálculo utilizado para determinar o valor da variação total da tonalidade.

$$\Delta H = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{1/2} \quad (8)$$

O valor de C^* pode ser obtido com as coordenadas retangulares, valores de a^* e b^* , conforme a Equação (9).

$$C^* = [(a^{*2} + b^{*2})]^{1/2} \quad (9)$$

Para comparar as lecitinas clarificadas obtidas no Planejamento Composto Central, com a lecitina de soja comercial, não adicionada de peróxido, utilizou-se as Equações de (10) a (13).

$$\Delta a^* = a^*_{amostra} - a^*_{padrão} \quad (10)$$

$$\Delta b^* = b^*_{amostra} - b^*_{padrão} \quad (11)$$

$$\Delta L^* = L^*_{amostra} - L^*_{padrão} \quad (12)$$

$$\Delta C^* = C^*_{amostra} - C^*_{padrão} \quad (13)$$

Com as diferenças de cores obtidas nas Equações de (10) a (13), pôde-se determinar a variação total da cor (ΔE^*), pelo cálculo da Equação (14).

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (14)$$

Os resultados foram analisados estatisticamente, verificando-se os efeitos das variáveis (temperatura, X_1 , concentração de peróxido, X_2 e tempo de agitação, X_3) sobre os parâmetros de cor.

Definiu-se o parâmetro de luminosidade (L^*) que varia de zero (referente a cor preta) a 100 (referente à cor branca), como limitante para designar em qual experimento obteve-se a lecitina de soja mais clara e essa ser aplicada no leite.

3.1.2 Teste Preliminar da Solubilidade da lecitina de soja clarificada

Para a condução da análise do teor de clorofilas e carotenoides foi necessário realizar um teste preliminar sobre a solubilidade da lecitina clarificada para selecionar o solvente a ser utilizado na determinação de carotenoides e clorofilas, bem como para posterior análise de estruturas primárias e secundárias (Coeficiente de Extinção Específica) formadas durante a peroxidação. Através de metodologia modificada procedeu-se à determinação da solubilidade da lecitina de soja.

Os testes preliminares foram realizados no laboratório de físico-química do Instituto Federal do Triângulo Mineiro campus Uberlândia.

A metodologia modificada refere-se à determinação de Umidade a 105°C descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2002). Foram adicionados em cada solvente as diferentes concentrações de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), respectivamente, 0,5%; 1,0%; 1,5% e 2,0% sobre uma massa de 100 g de lecitina de soja. A cada solvente foram testadas as adições de peróxido e o teste realizado em duplicata. Amostras de 1 g foram pesadas em bêqueres de vidro de 250 mL. A adaptação no método oficial consistiu na utilização filtros de papel secos em estufa a 105°C (três para cada solvente, triplicata) por 1 hora e mais 30 minutos em dessecador de vidro com sílica gel, com massa quantificada e identificados, em detrimento às cápsulas de porcelanas originalmente utilizados na metodologia.

Os filtros de papel previamente pesados e identificados após tempo de estufa e dessecação foram inseridos em funis de vidro suportados em erlermeyers de 500 mL nas condições ambientes. As amostras de lecitina de soja comercial foram diluídas na proporção de 1+2 ou 1:3, ou seja, uma parte de soluto para o dobro da quantidade de solvente orgânico testado. Quantificou-se a massa final dos filtros de papel, após a filtração dos conteúdos líquidos por duas horas e secagem desses em estufa a 105°C por uma hora e de 30 em 30 minutos, quantificadas suas massas. Este procedimento foi repetido até obtenção de massa constante. O resíduo do filtro foi convenientemente denominado de insolúveis seguido do respectivo nome do solvente.

3.1.3. Teor de Clorofila e Carotenoides

De acordo com Lezerovich, (1985) os principais componentes que fornecem cor à lecitina de soja são clorofilas, carotenóides e substâncias marrons, essas últimas formadas durante o processo de degomagem. Castejon, (2010) determinou a quantidade de substâncias marrons na lecitina comercial e verificou que o teor não é maior do que 0,5 mg/g e que diminui com o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio ou peróxido de benzoíla, agentes de clarificação utilizados. Foram também apresentados os teores de clorofilas e carotenóides, os quais foram significativamente maiores do que o conteúdo de substâncias marrons.

A metodologia utilizada para determinar o conteúdo de clorofilas e carotenóides na lecitina de soja foi o método de Dere; Gunes; Sivaci, (1998) no qual comparou tipos de solventes para quantificação de clorofilas e carotenóides em algas. Assim, amostras de 0,2 g de lecitinas clarificadas foram pesadas e solubilizadas em 10 mL de acetona P.A., realizadas leituras em espectrofotômetro RAY LEIGH UV 1800, em cubetas de quartzo de 1 cm e em triplicata. Foram realizadas leituras à absorbância de 645, 662 e 470 nm. Os resultados das absorbâncias lidas foram inseridos nas Equações de (15) a (17), obtidos os valores de clorofilas “a” e “b”, e de carotenóides (DERE et al., 1998).

$$Ca = 11,75A_{662} - 2,350A_{645} \quad (15)$$

$$Cb = 18,61A_{645} - 3,960A_{662} \quad (16)$$

$$Cc = 1000A_{470} - 2,270Ca - 81,4 Cb/227 \quad (17)$$

onde, Ca é a quantidade de clorofilas “a”, mg/g, Cb de clorofilas “b”, mg/g e Cc , quantidade de carotenoides, mg/g. Os resultados calculados das absorbâncias obtidas foram utilizados para predizer um modelo de ajuste à etapa de clarificação da lecitina de soja em função dos parâmetros de cor do sistema Cielab obtidos, através da soma dos compostos analisados (Ca , Cb e Cc) pelo IC (índice de cor).

3.2 Resultados e Discussões

3.2.1 Resultados da Análise de Cor

No Planejamento Composto Central (PCC) as variáveis, temperatura (X_1), concentração de peróxido de hidrogênio a 35%, *m/v* (X_2) e tempo de agitação (X_3) à rotação constante (600 ± 20 rpm) foram sistematicamente medidas e controlados, e verificados os efeitos dessas variáveis sobre a luminosidade (L^*), cor verde/vermelho (a^*) e cor azul/amarelo (b^*) do sistema Cielab $L^*a^*b^*$, como indicados os resultados na Tabela 3.10.

Observa-se que para os valores obtidos de luminosidade (L^*), o maior valor foi do Experimento 8 relativo à temperatura de 50°C, concentração de peróxido de hidrogênio de 2,3% (*m/v*) e tempo de agitação de 520 segundos. O segundo e terceiro, maiores valores para esse parâmetro foram os Experimentos 12 (maior concentração de peróxido de hidrogênio) e 6 (elevada temperatura e tempo de agitação), seguido do Experimento 10, cuja temperatura é de 55°C.

Analizando os resultados do Experimento 9, verifica-se que a diminuição na concentração de peróxido e agitação são suficientes para se obter um aumento da luminosidade (L^*) à lecitina de soja comercial, uma vez que a clarificação ocorreu à temperatura ambiente (25°C).

Na determinação da cor verde/vermelho, nota-se na Tabela 3.10 que a lecitina de soja comercial possui coloração verde ($a^* = -0,3743\pm0,205$) e que se adicionada de peróxido de hidrogênio passa a ter coloração vermelha (valores positivos de a^*) e maior coloração amarela (valores maiores de b^*). O resultado do ponto Experimental 13 foi o que obteve menor valor numérico para o parâmetro a^* e b^* , pois possuiu o menor tempo de agitação, de 15 segundos, indicando que o tempo foi insuficiente para ocorrer uma clarificação efetiva.

Depois de mensuradas as cores, as amostras foram fotografadas, com máquina fotográfica simples, de resolução 1600x1200 pixels, sem flash. Visualmente podem ser verificadas as modificações nas cores das lecitinas clarificadas, conforme Figura 3.24.

Sholfield; Dutton (1954), avaliaram a cor da lecitina de soja e determinaram cores como amarelo, amarelo claro e vermelho claro, efetuando vários ensaios e por espectrofotometria relacionando as cores obtidas à presença de carotenóides.

Tabela 3.10: Resultados experimentais de cor, parâmetros L^* , a^* e b^*

Experimentos	Variáveis			Respostas		
	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	L^*	a^*	b^*
1	30	0,70	120	30,827±0,24	1,125±0,32	21,425±0,59
2	30	0,70	520	33,062±0,06	1,490±0,24	23,087±0,87
3	30	2,30	120	31,775±0,51	1,367±0,29	21,817±0,81
4	30	2,30	520	33,937±0,26	1,525±0,77	23,807±0,78
5	50	0,70	120	33,030±0,28	1,450±0,37	22,750±1,01
6	50	0,70	520	36,247±0,29	1,767±0,23	27,017±0,66
7	50	2,30	120	34,020±0,25	1,577±0,42	24,305±0,89
8	50	2,30	520	39,815±0,92	2,647±0,60	30,072±0,92
9	25 (- α)	1,50	320	29,872±0,79	1,100±0,25	20,575±0,84
10	55 (+ α)	1,50	320	37,652±0,98	2,030±0,77	28,277±0,91
11	40	0,28	320	31,475±0,82	1,450±0,24	22,002±0,89
12	40	2,72	320	38,535±0,77	2,092±0,45	29,005±0,86
13	40	1,50	15	27,795±0,48	0,910±0,11	17,607±0,93
14	40	1,50	625	38,935±0,58	2,165±0,32	29,372±0,50
15	40	1,50	320	35,203±0,70	1,593±0,79	25,187±0,22
16	40	1,50	320	35,203±0,32	1,563±0,77	25,483±0,50
17	40	1,50	320	35,280±0,57	1,593±0,99	26,263±0,74
18	40	1,50	320	35,247±0,85	1,537±0,84	25,380±0,90
19	40	1,50	320	35,143±0,58	1,550±0,93	25,133±0,66
20	40	1,50	320	35,247±1,01	1,523±0,69	25,170±0,60
Lecitina comercial	25	0	0	18,536±089	-0,374±0,20	3,796±0,78

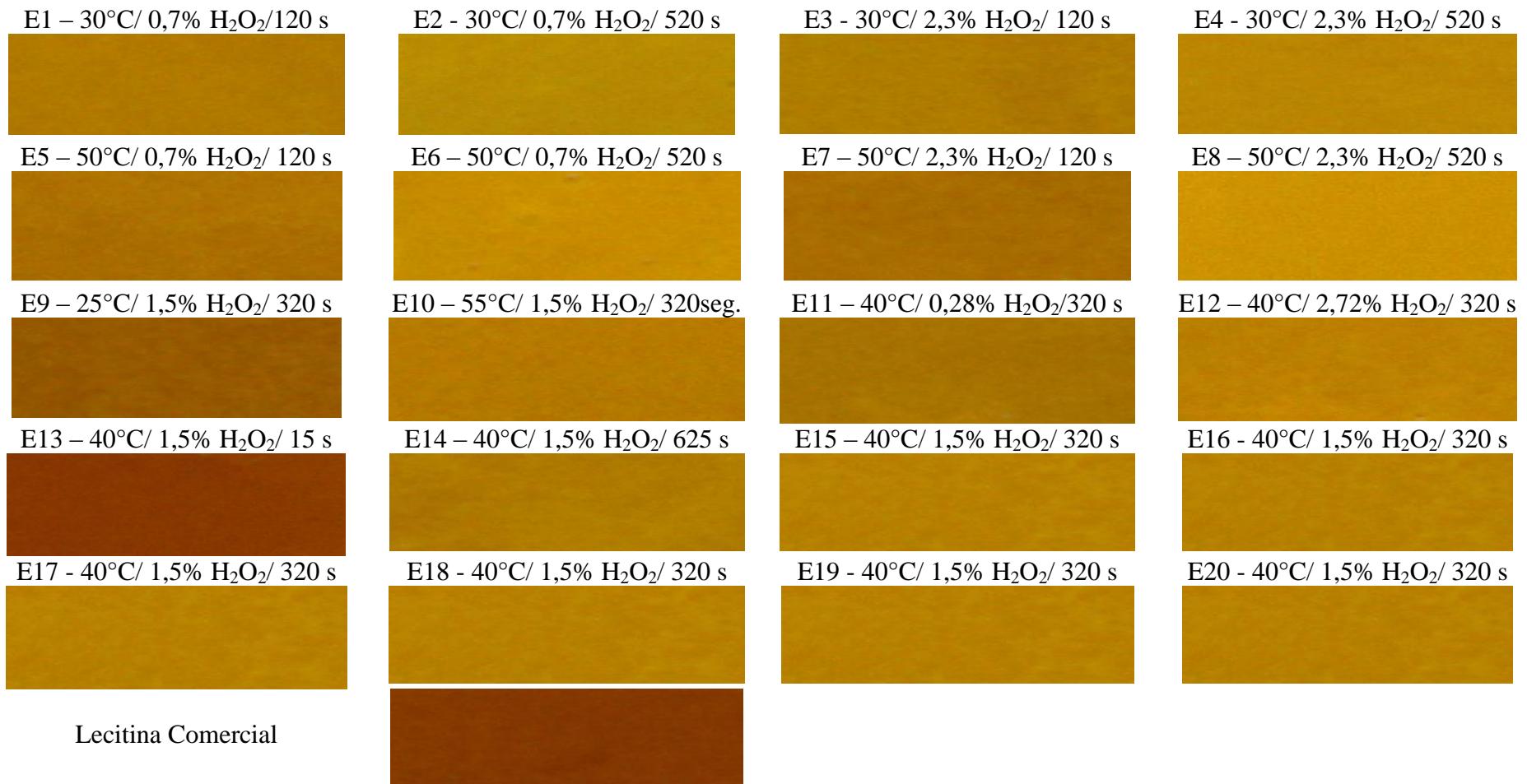
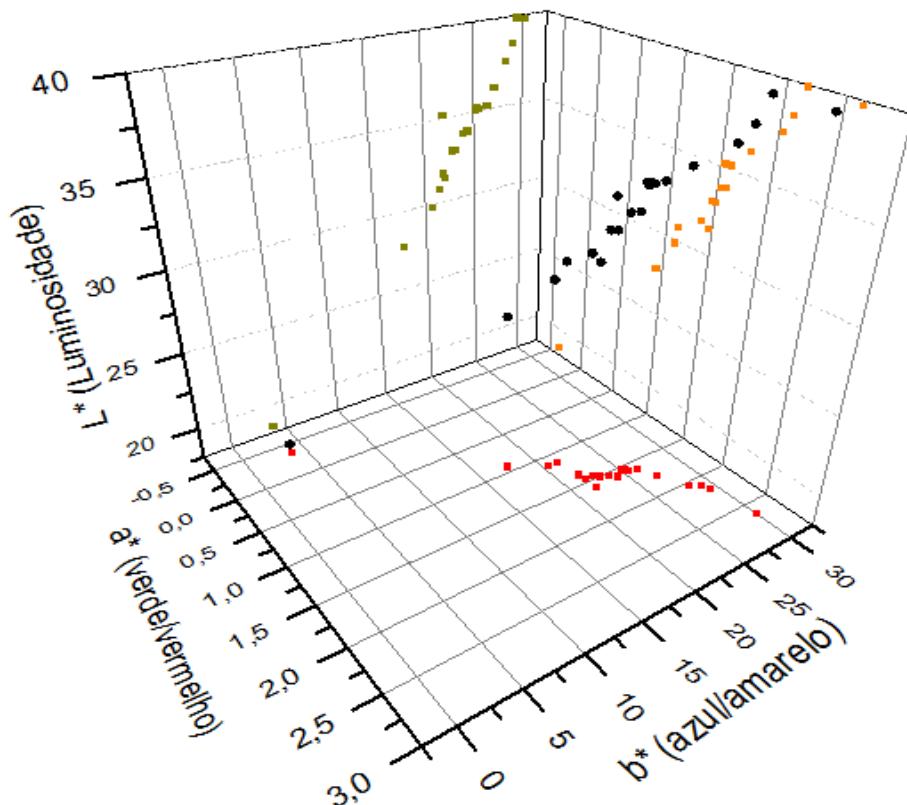


Figura 3.24: Diagrama de cores obtidas na clarificação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio.

Na Figura 3.25, mostra-se a tendência de cores apresentadas na Figura 3.24, podendo ser melhor visualizada no gráfico com todos os experimentos.



Legenda: Pontos pretos: experimentos. Quadrados vermelhos: projeção dos pontos no plano XY. Quadrados laranja: projeção dos pontos no plano ZY e quadrados verdes: projeção dos pontos no plano ZX.

Figura 3.25: Resultado da clarificação em relação às variáveis L^* , a^* e b^* .

Nota-se na Figura 3.25, que há um ponto que se distancia dos demais, esse ponto é a lecitina in natura, sem tratamento (sem adição de peróxido de hidrogênio) que possui o valor de a^* negativo e, portanto coloração verde e possui valor positivo para b^* , coloração amarela. Assim, verifica-se o quanto diferente é a cor da lecitina in natura e como se comporta com aplicação de peróxido de hidrogênio como agente clarificante, com a variação do tempo de agitação e de temperatura.

De acordo com Smouse, (1995) há uma relação da quantidade de ácido fosfórico (ppm) e de fosfolipídeos (ppm) com a modificação nos parâmetros de cor obtidos pelo sistema HunterLab (L , a e b). Foi verificado que para maiores concentrações de ácido fosfóricos e fosfolipídeos, os valores de L e b foram maiores na escala HunterLab, devido a processos de degomagens diferentes. Na escala HunterLab

ou valores de L , a e b possuem os mesmos significados de L^* , a^* e b^* , mas são uma escala numérica diferente.

Com os dados obtidos de L^* , a^* , b^* , pôde-se aplicar as Equações de (10) a (12), descritas na metodologia do presente trabalho e obter-se parâmetros de variação de luminosidade (ΔL^*), verde/vermelho (Δa^*) e azul/amarelo (Δb^*) em comparação com os valores da lecitina pura não tratada com peróxido de hidrogênio, como mostra a Tabela 3.11.

Tabela 3.11: Valores calculados de variação de luminosidade (ΔL^*), cor verde/vermelho (Δa^*) e azul/amarelo (Δb^*).

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	ΔL*	Δa*	Δb*
1	30	0,70	120	12,264±0,24	1,654±0,32	17,599±0,59
2	30	0,70	520	14,504±0,05	1,919±0,24	19,334±0,87
3	30	2,30	120	13,189±0,51	1,734±0,29	18,314±0,81
4	30	2,30	520	15,299±0,26	1,879±0,77	19,794±0,78
5	50	0,70	120	14,484±0,28	1,914±0,38	18,844±1,01
6	50	0,70	520	17,634±0,29	2,174±0,23	23,069±0,66
7	50	2,30	120	15,434±0,25	1,939±0,42	20,489±0,88
8	50	2,30	520	21,409±0,92	2,834±0,60	26,184±0,92
9	25	1,50	320	11,224±0,79	1,494±0,25	16,674±0,84
10	55	1,50	320	19,144±0,98	2,404±0,77	24,424±0,91
11	40	0,28	320	12,954±0,82	1,864±0,24	18,509±0,90
12	40	2,72	320	19,889±0,77	2,494±0,45	25,314±0,86
13	40	1,50	15	9,224±0,48	1,309±0,11	13,684±0,93
14	40	1,50	625	20,299±0,58	2,529±0,32	25,524±0,49
15	40	1,50	320	16,884±0,70	1,694±0,79	21,384±0,22
16	40	1,50	320	16,744±0,32	2,294±0,77	21,634±0,50
17	40	1,50	320	16,934±0,57	1,934±0,99	22,364±0,74
18	40	1,50	320	16,344±0,85	1,534±0,84	21,854±0,90
19	40	1,50	320	16,284±0,58	1,664±0,93	21,364±0,66
20	40	1,50	320	16,174±1,01	1,844±0,69	21,044±0,60

Os resultados da Tabela 3.11 mostraram que O Experimento 13 foi o que apresentou menor variação em todos os parâmetros (luminosidade, cor vermelha e amarela), decorrente do menor tempo de agitação (15 s) na operação de clarificação. O Experimento 8 foi o que apresentou maior variação dos parâmetros analisados, que foi

realizado com elevado tempo de agitação (520 s), concentração de peróxido de hidrogênio (2,3%) e temperatura (50°C). O resultado Experimental 14, segunda maior variação de luminosidade e cores, possuiu maior tempo de agitação que possivelmente influenciou na obtenção do resultado, mesmo apresentando menores concentrações de peróxido de hidrogênio (1,5%) e temperatura (40°C) quando comparado ao Experimento 8.

Os resultados obtidos informam o quanto diferentes ficaram as cores das lecitinas clarificadas da lecitina de soja comercial e possibilitam avaliar os efeitos da temperatura, peróxidos e tempo de agitação sobre as cores analisadas (luminosidade, cor amarelo e vermelho).

A fim de quantificar o efeito das variáveis estudadas (tempo, temperatura e concentração) sobre as variáveis respostas (ΔL^* , Δa^* e Δb^*), realizou-se a Análise de Variância, considerando 90% de confiabilidade nos resultados obtidos ($p<0,1$), como verificado na Tabela 3.12.

Os coeficientes de regressão apresentados na Tabela 3.12, em cada parâmetro, correspondem aos coeficientes estimados sem os efeitos não significativos ou que apresentaram confiabilidade dos resultados menor que 90% ($p<0,1$).

Os coeficientes de regressão (R^2) obtidos com todos os efeitos das variáveis lineares, quadráticas e suas interações foram respectivamente, 88,04%, 78,28% e 87,01%, para ΔL^* , Δa^* e Δb^* . Na ANOVA e na estimativa dos efeitos, dos parâmetros ΔL^* e Δb^* houveram interações com valores de p maiores que 0,1 (respectivamente, $p = 0,1372$ e $p = 0,1218$) e foram consideradas positivas pelo valor se apresentar muito próximo do limite de significância estabelecido. Portanto, a interação da variável tempo de agitação com a temperatura foi considerada significativa para o parâmetro de cor Δb^* e a interação quadrática do tempo de agitação para o parâmetro ΔL^* também apresentam efeito significativo. No parâmetro Δa^* considerou-se todos os efeitos abaixo do valor de p igual a 0,1, pois os efeitos nas demais variáveis eram muito superiores à confiabilidade de 90%.

Todos os efeitos significativos ou não, em cada resposta sobre a variação ou diferença de cores entre a lecitina natural e clarificadas, podem ser verificados nos gráficos de Pareto, listados nos Apêndices I, II e III.

Tabela 3.12: ANOVA para as variações dos parâmetros ΔL^* , Δa^* e Δb^* .

ΔL^*	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeitos	DV
$R^2 83,95\%$							
X ₁	52,543	1	52,543	26,933	0,000	4,076	0,785
X ₂	22,897	1	22,897	11,737	0,004	2,691	0,785
X ₃	72,871	1	72,871	37,353	0,000	4,800	0,785
X ² ₃	4,811	1	4,811	2,466	0,137	-1,334	0,850
Resíduo	29,263	15	1,951				
Total	182,385	19					
Δa^*	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeitos	DV
$R^2 72,29\%$							
X ₁	0,741	1	0,741	13,907	0,002	0,484	0,130
X ₂	0,225	1	0,225	4,212	0,058	0,266	0,130
X ₃	0,927	1	0,927	17,394	0,001	0,541	0,130
X ² ₂	0,193	1	0,193	3,625	0,076	0,267	0,140
Resíduo	0,780	15	0,053				
Total	2,886	19					
Δb^*	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeitos	DV
$R^2 84,84\%$							
X ₁	50,848	1	50,848	24,547	0,000	4,009	0,809
X ₂	21,031	1	21,031	10,153	0,006	2,578	0,809
X ₃	76,892	1	76,892	37,119	0,000	4,931	0,809
X ₁ *X ₃	5,619	1	5,619	2,712	0,122	1,676	1,017
X ² ₃	7,863	1	7,863	3,796	0,072	-1,706	0,875
Resíduo	29,004	14	2,071				
Total	191,255	19					

Verificados os efeitos nos gráficos de Pareto e na tabela de ANOVA, pode-se obter as equações que descrevem o comportamento de cada variação em função dos efeitos significativos. As Equações (18), (19) e (20), correspondem respectivamente às descrições dos modelos na forma reduzida de ΔL^* , Δa^* e Δb^* .

$$\Delta L^* = 16,238 + 2,4002x_3 + 2,0381x_1 + 1,3454x_2 - 0,6672x_3^2 \quad (18)$$

$$\Delta a^* = 1,871 + 0,2708x_3 + 0,2421x_1 + 0,1337x_2^2 + 0,1332x_2 \quad (19)$$

$$\begin{aligned} \Delta b^* = 21,409 + 2,4655x_3 + 2,0049x_1 + 1,2894x_2 - 0,8530x_3^2 \\ + 0,8381x_1x_3 \end{aligned} \quad (20)$$

Com os modelos de cada parâmetro descritos nas Equações (18), (19) e (20), pôde-se elaborar superfícies de respostas as quais mostram o comportamento significativo do parâmetro estudado em função de duas variáveis de efeitos significativos, como mostram as superfícies de respostas das Figuras 3.26, 3.27 e 3.28 (A, B e C).

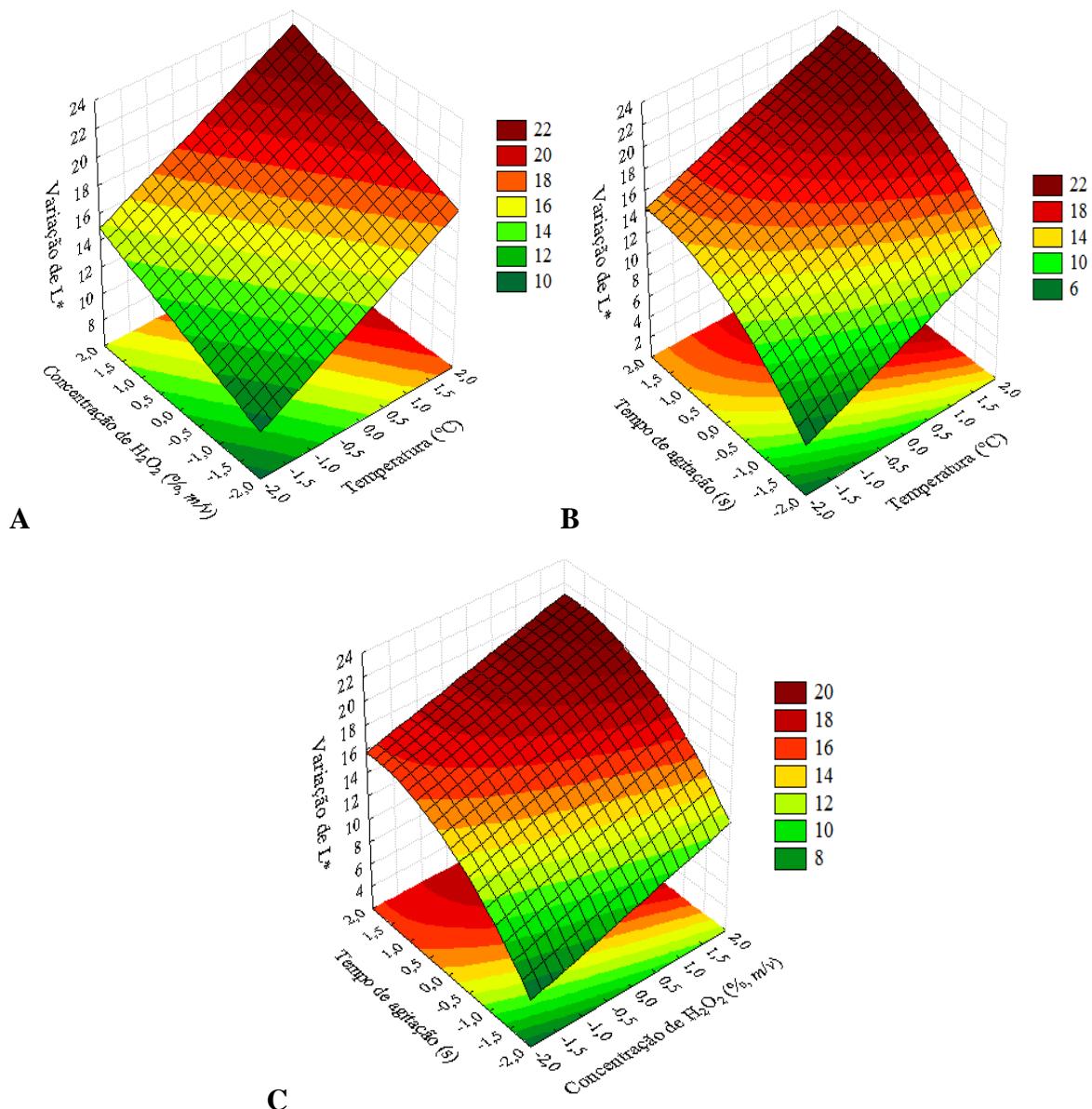


Figura 3.26: Superfícies de respostas para a interação da variável ΔL^* com a temperatura, tempo de agitação e concentração de peróxido de hidrogênio adicionada.

A variável que mais influenciou a luminosidade, cores amarelo e vermelho, foi o tempo de agitação, mantendo-se a rotação constante, seguido da temperatura. Por isso, obteve-se maiores variações no Experimento 14 (maior tempo de agitação, 625 s) e no Experimento 8, que possui todas as variáveis no nível +1 (50°C, 2,3% H₂O₂ e 520 s).

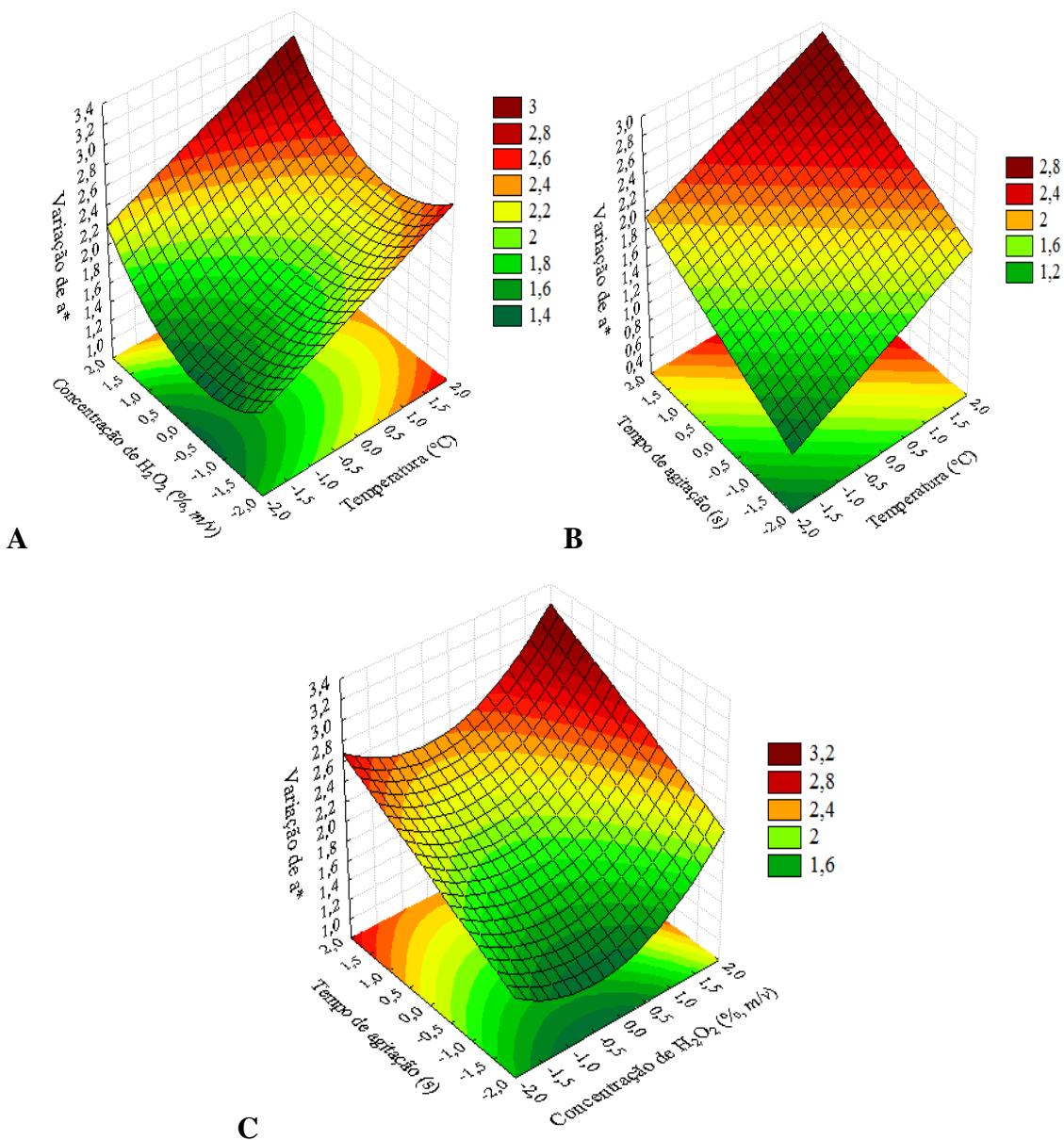


Figura 3.27: Superfícies de respostas para as interações do parâmetro Δa^* (A, B e C).

A consistência dos resultados foi verificada através dos resíduos, Apêndices I, II e III, os quais ficaram aleatórios, normalizados e distribuídos. Os comportamentos dos resíduos refletem os valores estatísticos obtidos nos coeficientes de regressão.

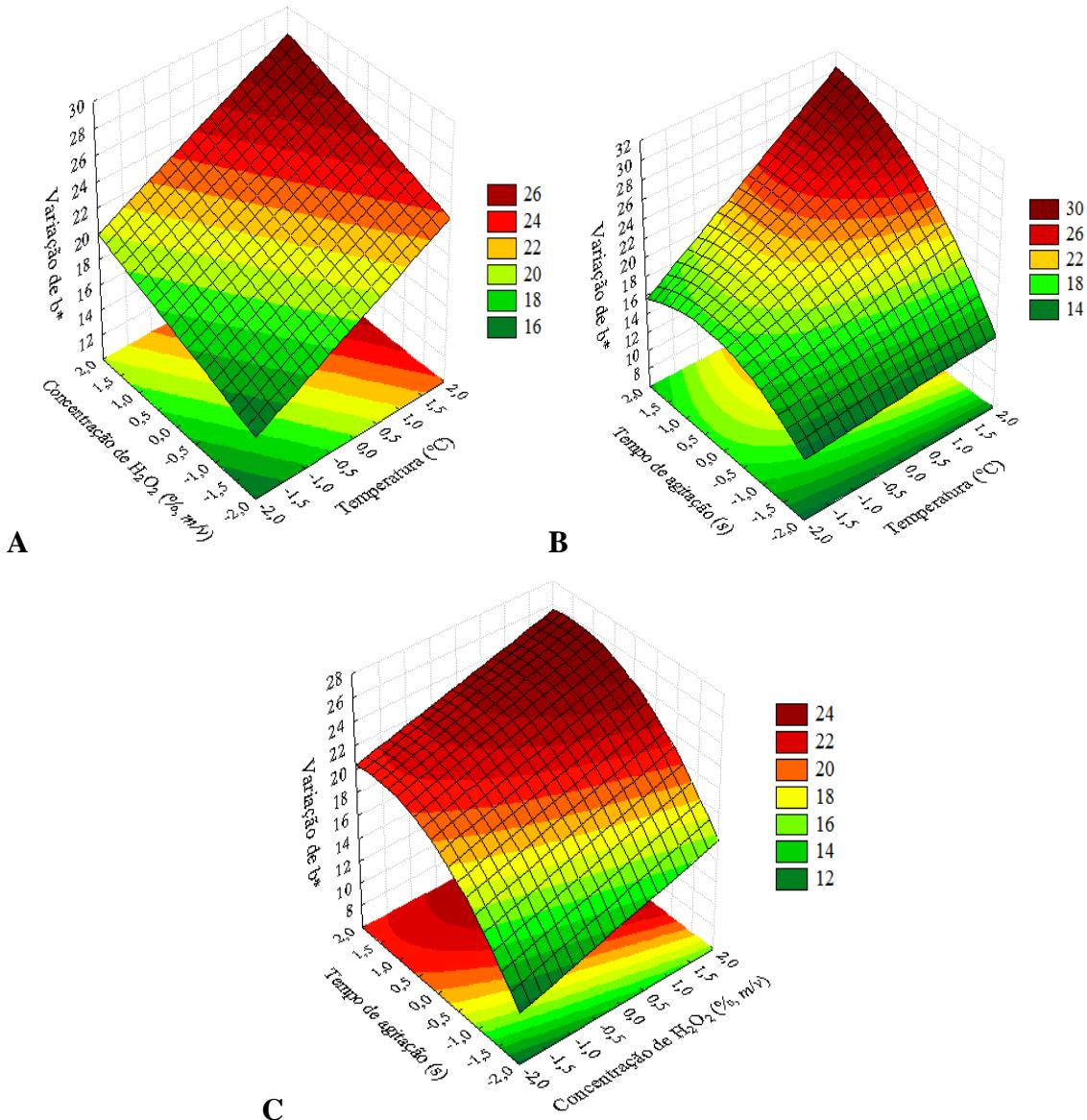


Figura 3.28: Superfícies de respostas para o parâmetro Δb^* (A, B e C).

Pelo sistema Cielab L^* , C^* , H , o parâmetro L^* é a luminosidade, já o parâmetro C^* distingue a saturação da cor, ou seja, o quanto intensa ela se apresenta. O parâmetro H é a localização espacial da cor, o qual influencia na tonalidade da cor, variando nos eixos a^* (esverdeado/avermelhado) e b^* (amarelado/azulado). Os valores de C^* e H foram obtidos pelas Equações (7) e (9), a partir dos valores de L^* , a^* e b^* . Na Tabela 3.13, pode-se verificar os valores de L^* , C^* e H para cada experimento.

Na lecitina comercial a luminosidade é menor, a saturação da cor é menor do que nas amostras clarificadas e a tonalidade da cor (H) também é menor, portanto, com as variações na concentração de peróxido de hidrogênio, tempo de agitação e

temperatura, aumenta-se os parâmetros de luminosidade, saturação da cor e tonalidade de cores das amostras.

Observa-se na Tabela 3.13 que a tonalidade da lecitina in natura é apenas 1 unidade angular a menos que a tonalidade do ponto Experimental 8, demonstrado que houve uma pequena alteração na tonalidade desse ponto, mas sua diferenciação está na luminosidade (L^*) e saturação da cor (C^*), apresentando-se mais luminoso e com as cores vermelho e amarelo, aproximadamente 9 vezes mais intensas.

Tabela 3.13: Valores de L^* (Luminosidade), C^* (saturação) e H (tonalidade).

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	L^*	C^*	H
1	30	0,70	120	30,827±0,24	21,456±0,59	86,989±0,88
2	30	0,70	520	33,062±0,06	23,137±0,85	86,290±0,71
3	30	2,30	120	31,775±0,51	21,862±0,81	86,404±0,79
4	30	2,30	520	33,937±0,26	23,866±0,74	86,300±1,94
5	50	0,70	120	33,030±0,28	22,799±0,99	86,319±1,08
6	50	0,70	520	36,247±0,29	27,076±0,65	86,249±0,55
7	50	2,30	120	34,020±0,25	24,358±0,90	86,298±0,94
8	50	2,30	520	39,815±0,92	30,194±0,90	84,962±1,19
9	25	1,50	320	29,872±0,79	20,605±0,85	86,945±0,65
10	55	1,50	320	37,652±0,98	28,359±0,85	85,856±1,69
11	40	0,28	320	31,475±0,82	22,051±0,90	86,234±0,55
12	40	2,72	320	38,535±0,77	29,083±0,83	85,855±0,99
13	40	1,50	15	27,795±0,48	17,631±0,92	87,027±0,48
14	40	1,50	625	38,935±0,58	29,454±0,47	85,778±0,67
15	40	1,50	320	35,203±0,70	25,245±0,18	86,375±1,81
16	40	1,50	320	35,203±0,32	25,539±0,51	86,495±1,71
17	40	1,50	320	35,280±0,57	26,323±0,80	86,569±2,05
18	40	1,50	320	35,247±0,85	25,435±0,91	86,542±1,85
19	40	1,50	320	35,143±0,58	25,192±0,65	86,464±2,11
20	40	1,50	320	35,247±1,01	25,222±0,64	86,558±1,48
Lecitina comercial	25	0	0	18,536±0,89	3,821±0,77	83,911±3,37

As lecitinas nos Experimentos 8 e 14, como nos demais, ficaram com cores mais intensas nas colorações amarelo e vermelho, mais brilhantes como indicado pelo valor de luminosidade e a tonalidade mostrou decrescente angulação, passando da coloração amarelada para a avermelhada. Assim, o Experimento 8 possui cor amarelo, avermelhado e com brilho, pois apresentou maior luminosidade. Todos esses parâmetros podem ser visualizados na Figura 3.29 (A).

Verifica-se que o resultado do Experimento 13 apresentou a menor variação total da cor e a menor saturação. O Experimento 8 foi o que apresentou maior variação total na cor e na saturação quanto comparado com a saturação da cor em relação à lecitina comercial.

Na Figura 3.29 (A e B), observa-se a tendência dos resultados obtidos de luminosidade, saturação e tonalidade, para todos os experimentos, ressaltando-se o ponto da lecitina comercial (sinalizada). Observa-se novamente o distanciamento do ponto relativo à lecitina de soja in natura (comercial), sem peróxido de hidrogênio, a qual possui elevada tonalidade, baixa saturação da cor e baixa luminosidade. Os demais pontos apresentados são correspondentes aos experimentos com variações de temperatura, tempo de agitação e concentração de peróxido de hidrogênio.

A Figura 3.29 (B) mostra o espaço de variação das cores no sistema Cielab que a lecitina comercial e as clarificadas se encontram, em termos de cores visuais. Para afirmar-se o quão diferente as lecitinas clarificadas são em variação da tonalidade e saturação/intensidade da cor, utilizou-se as Equações (8) e (13), enquanto que para verificar a variação total da cor (ΔE^*) foi utilizada a Equação (14). Os resultados calculados são mostrados na Tabela 3.14.

Em relação às tonalidades, a lecitina comercial apresentou tonalidade de 83° que corresponde a amarelado/avermelhado, observando-se as variações de tonalidades e aplicando-se a Equação (8), tem-se o experimento 8 com a maior variação, mostrando tonalidade mais amarelada/avermelhada. Essa mesma tonalidade apresentaram os demais experimentos, mas com menor intensidade (C^*) e tonalidade (H) que a obtida no Experimento 8.

Nitidamente, observa-se uma aglomeração de pontos na Figura 3.29, os quais correspondem aos pontos centrais do planejamento e demais experimentos em que não se variou a intensidade das lecitinas em função da etapa de clarificação.

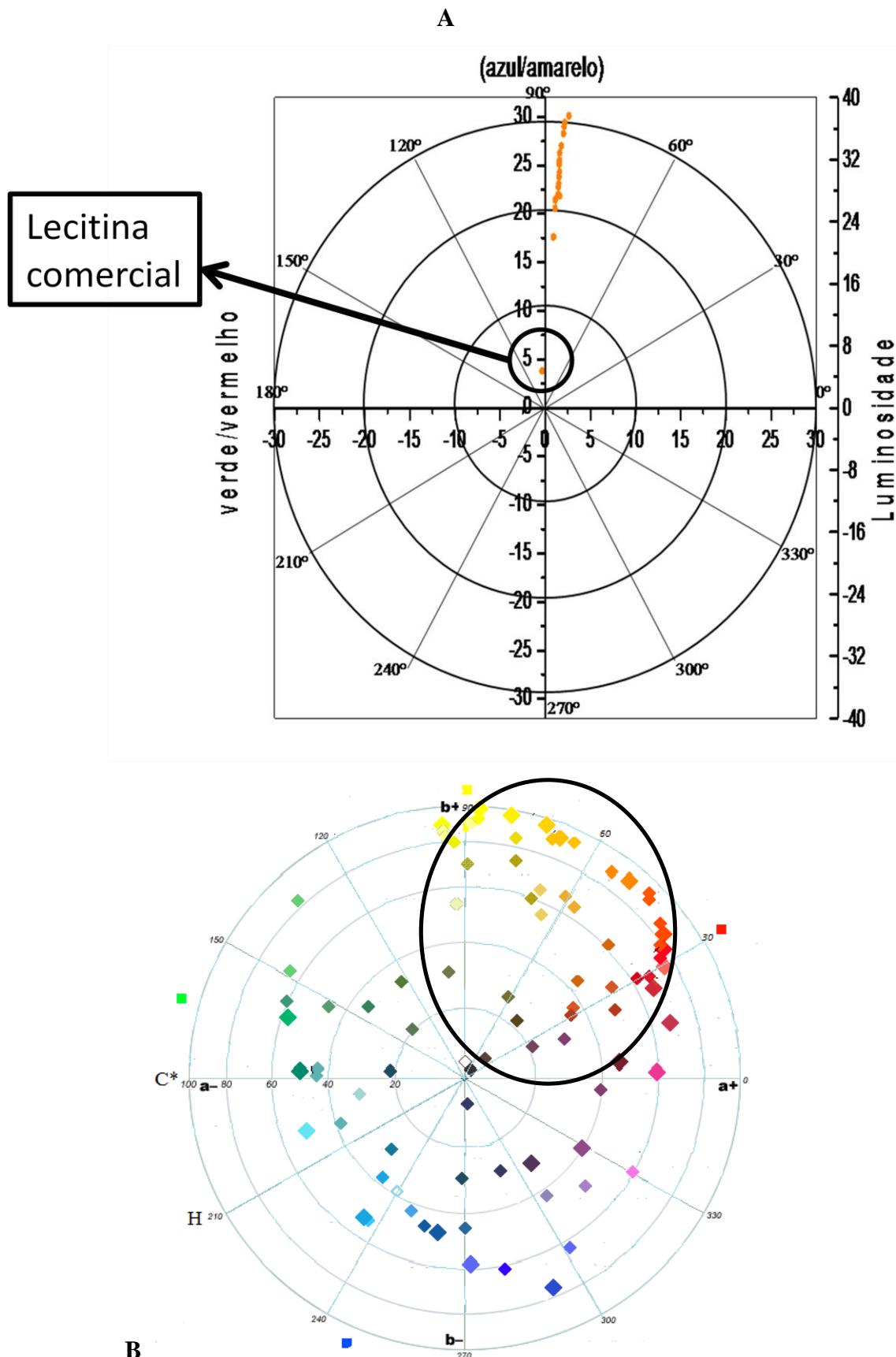


Figura 3.29: (A) Resultados de cores obtidos em cada ponto experimental e (B) representação das cores no sistema Cielab.

Tabela 3.14: Resultados calculados da variação total de cor (ΔE^*), variação total da saturação (ΔC^*), variação total da tonalidade (ΔH).

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	ΔH	ΔC^*	ΔE^*
1	30	0,70	120	1,507±0,13	17,599±0,59	21,515±0,58
2	30	0,70	520	1,625±0,08	19,364±0,85	24,244±0,70
3	30	2,30	120	1,539±0,11	18,318±0,81	22,432±0,45
4	30	2,30	520	1,629±0,28	19,819±0,74	25,221±0,51
5	50	0,70	120	1,622±0,13	18,872±0,99	23,785±0,68
6	50	0,70	520	1,760±0,08	23,105±0,65	29,215±0,44
7	50	2,30	120	1,655±0,16	20,520±0,90	25,732±0,58
8	50	2,30	520	2,019±0,21	26,316±0,90	33,938±0,91
9	25	1,50	320	1,428±0,11	16,669±0,85	19,977±0,97
10	55	1,50	320	1,856±0,26	24,478±0,85	31,134±1,25
11	40	0,28	320	1,592±0,10	18,530±0,90	22,944±1,09
12	40	2,72	320	1,891±0,15	25,378±0,83	32,446±0,42
13	40	1,50	15	1,313±0,04	13,680±0,92	16,708±0,94
14	40	1,50	625	1,907±0,10	25,573±0,47	32,835±0,41
15	40	1,50	320	1,571±0,29	21,378±0,18	27,232±0,51
16	40	1,50	320	1,788±0,28	21,618±0,51	27,377±0,22
17	40	1,50	320	1,667±0,36	22,386±0,80	28,276±0,44
18	40	1,50	320	1,498±0,31	21,951±0,91	27,441±1,16
19	40	1,50	320	1,548±0,34	21,471±0,65	27,371±0,67
20	40	1,50	320	1,619±0,26	21,034±0,64	27,482±0,61

Tratando-se especificamente da variação total da cor (ΔE^*), Equação (14), que relaciona basicamente as variações de luminosidade (ΔL^*), cor amarela/azul (Δb^*) e cor vermelho/verde (Δa^*) em comparação à lecitina comercial, pôde-se plotar a Figura 39.

Na Figura 3.30, observa-se uma maior variação total de cor no Experimento 17, em relação aos demais valores obtidos nos pontos centrais (15 a 20). O Experimento 8 apresentou maior variação total de cor, seguido dos experimentos 12 e 14, que apresentam condições de clarificação nos pontos axiais, ao nível +1 do planejamento, seguidos do Experimento 10. O contrário observou-se no Experimento 13, ponto axial do Planejamento Composto Central, que possui o nível -1 e o Experimento 9.

Smouse (1995) ao trabalhar com diferentes degomagens verificou a cor das lecitinas obtidas e associou as cores com os conteúdos de fosfolipídeos e ácidos fosfóricos. Verificou que maiores conteúdos de ácidos fosfóricos, correspondem a maiores valores na variação total da cor.

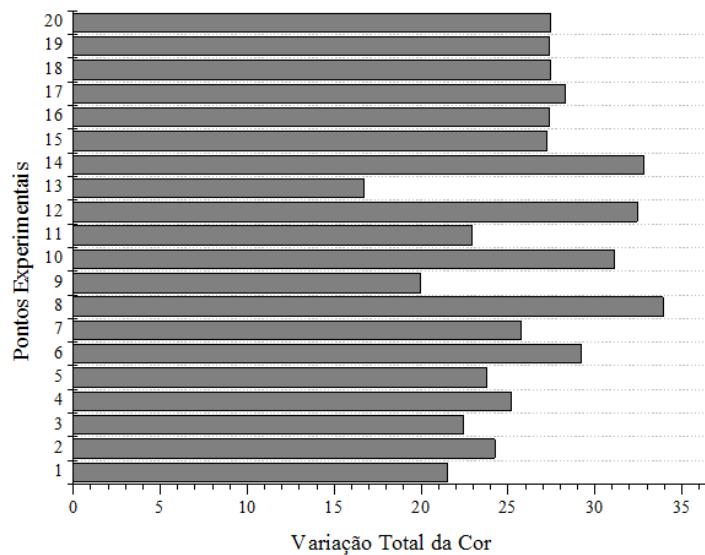


Figura 3.30: Variação total das cores (ΔE^*) das lecitinas clarificadas.

Os resultados de variação total da cor (ΔE^*), variação da tonalidade (ΔH) e saturação total da cor (ΔC^*) foram avaliados estatisticamente. Na Tabela 3.15 são apresentados os resultados da análise de variância (ANOVA) para as três respostas de cor (ΔH , ΔC^* e ΔE^*), sendo que o coeficiente de regressão obtido com todos os efeitos foram respectivamente, 80,91%, 87,17% e 88,42%, para variação total da tonalidade, variação total da saturação e variação total da cor.

Os valores dos coeficientes de regressão apresentados na Tabela 3.15 foram referentes ao modelo reduzido, o qual apresenta apenas os efeitos significativos com confiabilidade menor do que 90% ($p<0,1$) para obtenção dos resultados da ANOVA. Para verificar mais facilmente quais foram os efeitos significativos e não significativos tem-se os gráficos de Pareto (Apêndices IV, V e IV).

Tabela 3.15: ANOVA dos resultados da variação total da tonalidade (ΔH), da saturação (ΔC^*) e variação total da cor (ΔE^*).

ΔH R ² 76,55%	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeito	DV
X ₁	0,157	1	0,157	17,443	0,000	0,223	0,053
X ₂	0,0483	1	0,048	5,372	0,034	0,124	0,053
X ₃	0,206	1	0,206	22,932	0,000	0,255	0,053
X ² ₂	0,029	1	0,029	3,224	0,092	0,104	0,058
Resíduo	0,135	15	0,009				
Total	0,576	19					
ΔC^* R ² 84,96%	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeito	DV
X ₁	51,890	1	51,890	24,856	0,000	4,050	0,812
X ₂	21,459	1	21,459	10,279	0,006	2,604	0,812
X ₃	78,084	1	78,084	37,404	0,000	4,969	0,812
X ² ₃	7,909	1	7,909	3,788	0,071	-1,711	0,879
X ₁ *X ₃	5,716	1	5,716	2,738	0,120	1,691	1,022
Resíduo	29,226	14	2,087				
Total	194,286	19					
ΔE^* R ² 83,30%	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeito	DV
X ₁ ,	103,986	1	103,986	25,007	0,000	5,734	1,147
X ₂ ,	42,005	1	42,005	10,102	0,006	3,644	1,147
X ₃ ,	151,275	1	151,272	36,379	0,000	6,916	1,147
X ² ₃ ,	13,882	1	13,882	3,338	0,087	-2,267	1,240
Resíduo	62,372	15	4,158				
Total	373,520	19					

Retirando os efeitos não significativos das respostas, foi possível obter os modelos que descrevem cada variação da cor, como mostram as Equações (21), (22) e (23), respectivamente para ΔH , ΔC^* e ΔE^* .

$$\Delta H = 1,619 + 0,1278x_3 + 0,1114x_1 + 0,0618x_2 + 0,0518x_2^2 \quad (21)$$

$$\begin{aligned} \Delta C^* = 21,444 + 2,4856x_3 + 2,0254x_1 + 1,3025x_2 - 0,8555x_3^2 \\ + 0,8453x_1x_3 \end{aligned} \quad (22)$$

$$\Delta E^* = 27,028 + 3,4582x_3 + 2,8672x_1 + 1,8223x_2 - 1,1334x_3^2 \quad (23)$$

Utilizando as Equações (21) a (23) que descrevem os efeitos das variáveis independentes sobre as respostas, foi possível elaborar superfícies de respostas para se verificar mais claramente os resultados (Figuras 3.31, 3.32 e 3.33).

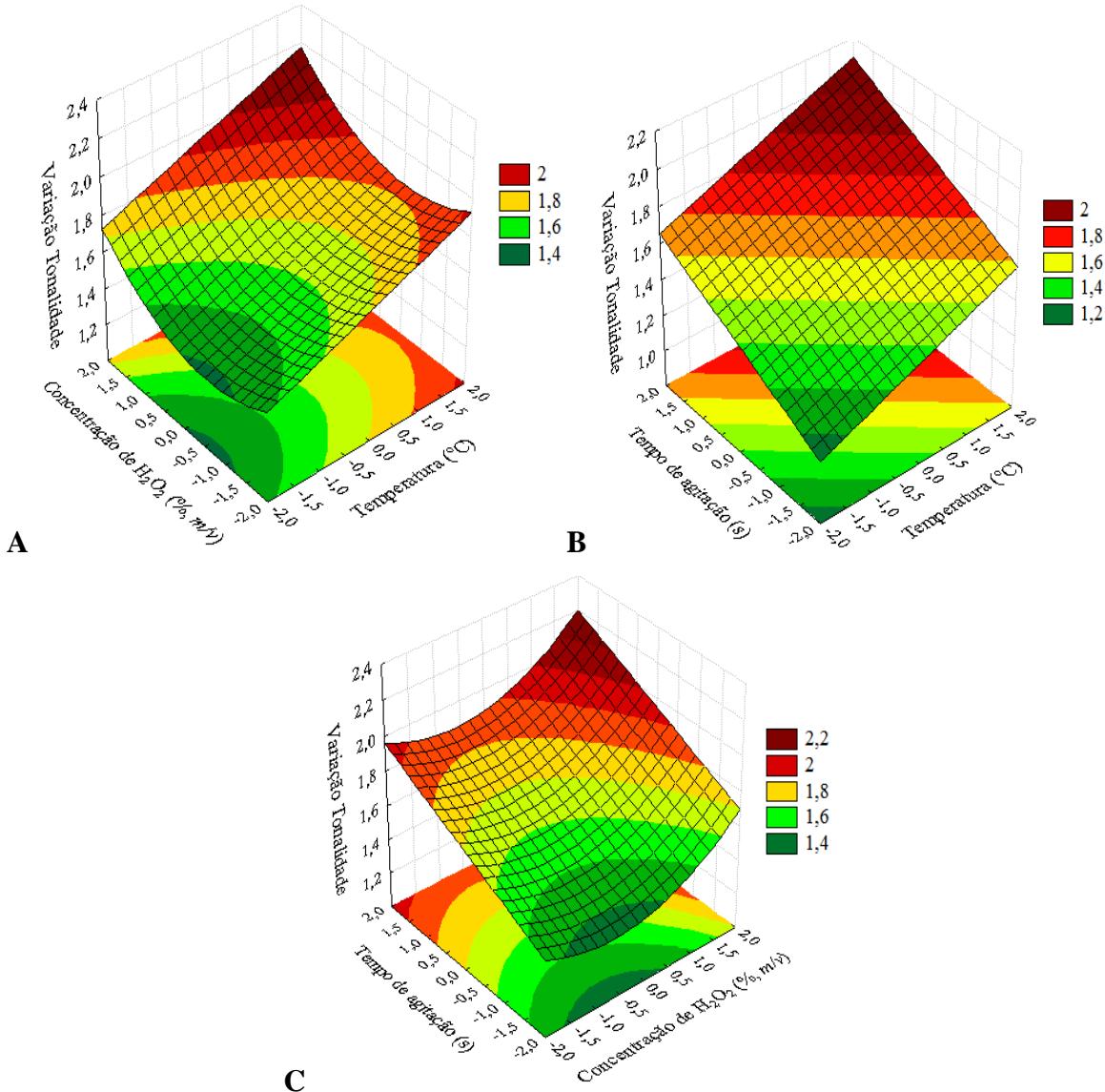


Figura 3.31: Superfícies de respostas para a variação total de tonalidades da cor (ΔH).

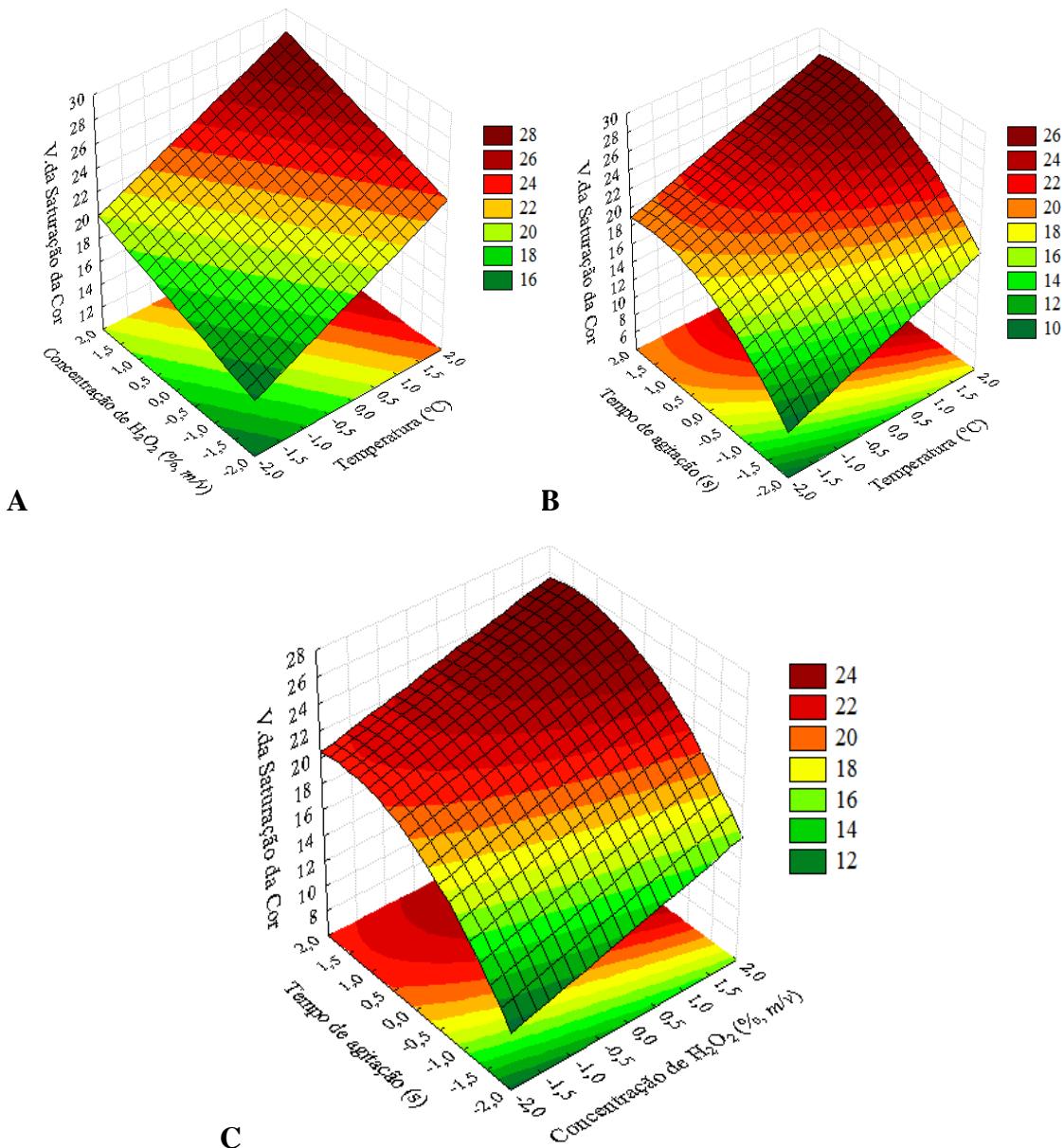


Figura 3.32: Superfícies de respostas da Variação Total da Saturação (ΔC^*).

Observando as superfícies de resposta para as variações de tonalidade, saturação e cor total, os maiores valores foram obtidos quando tem-se os maiores níveis de temperatura, concentração de H₂O₂ e tempo de agitação. Assim, maiores variações de cor foram obtidas mediante o aumento de qualquer variável independente estudada.

Verificando a consistência dos resultados obtidos foram observados os gráficos e distribuição dos resíduos em relação aos resultados experimentais, nos Apêndices IV, V e VI são apresentados todos os gráficos de resíduos para as respostas de variação total da saturação da cor, de tonalidade e total da cor.

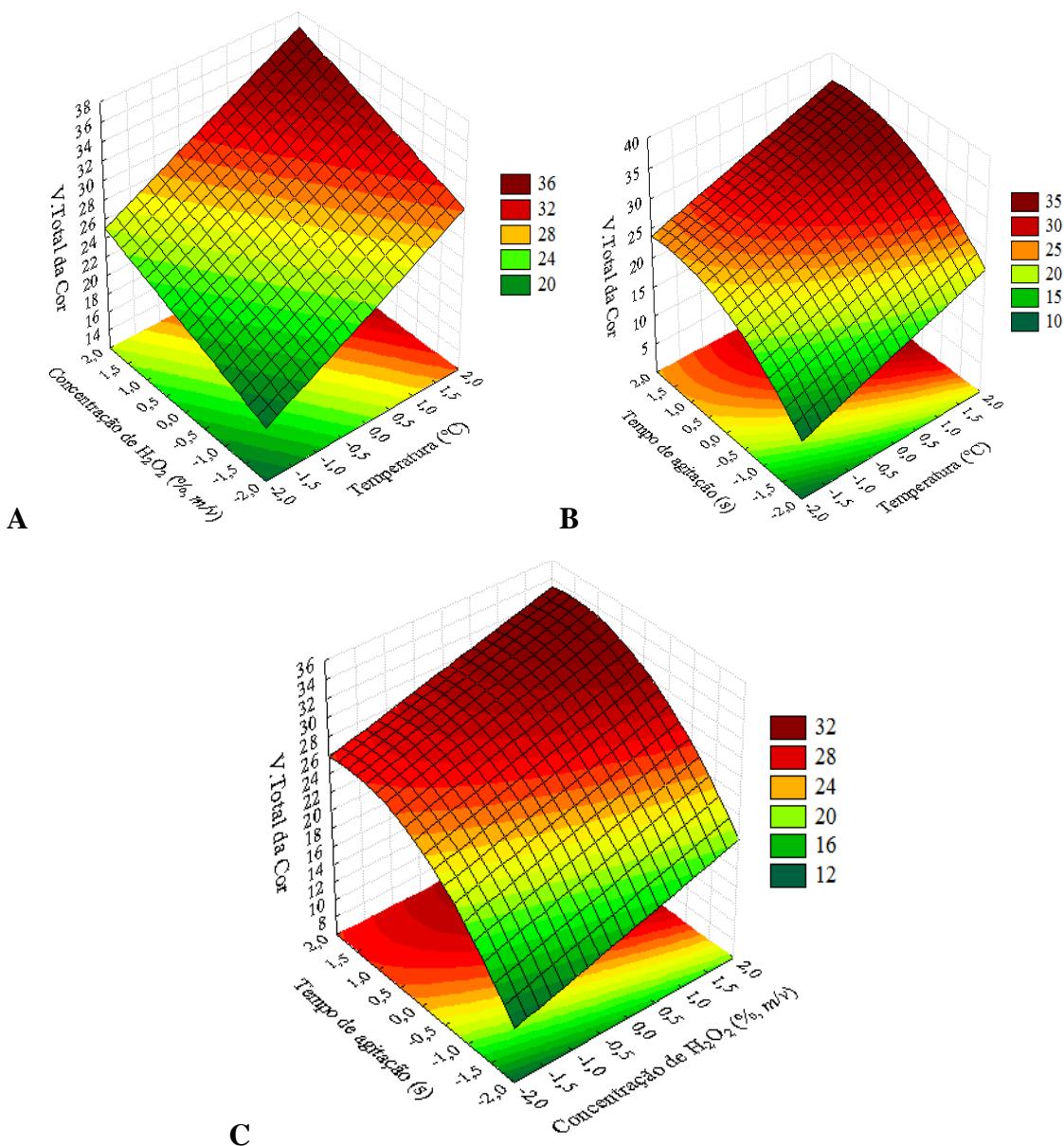


Figura 3.33: Superfícies de resposta da variação total da cor (ΔE^*).

3.2.2 Resultado Preliminar da Solubilidade da lecitina de soja clarificada.

A verificação da solubilidade da lecitina de soja foi realizada para se determinar o solvente a ser utilizado na análise de coeficiente de extinção específica por espectrofotometria, ou seja, método usado para se determinar compostos primários e secundários da quebra de duplas ligações dos ácidos graxos insaturados.

Castejon, (2010) realizou teste de solubilidade da lecitina de soja e chegou-se à conclusão que o hexano foi o melhor solvente orgânico para dissolver a lecitina de soja

utilizada tipo Solec® da empresa Solae. Verificou a solubilidade da lecitina sem acrescentar peróxido de hidrogênio.

Inicialmente, testou-se os solventes: clorofórmio, hexano, tolueno, éter de petróleo, metanol, etanol, ácido acético e acetona, para solubilização da lecitina de soja pura, sem adição de peróxido de hidrogênio. Teve-se como resultado o hexano com o menor resíduo de insolúveis retidos no filtro de papel seco, seguido do tolueno, éter de petróleo, ácido acético, clorofórmio, metanol, acetona e por fim, etanol. Desses, foram selecionados alguns para se testar novamente a solubilidade da lecitina de soja clarificada, adicionada de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) da marca Impex.

Assim, selecionou-se os solventes: hexano, clorofórmio, éter de petróleo e tolueno. Procedeu-se a adição de 0,5% (*m/m*), 1,0% (*m/m*), 1,5% (*m/m*) e 2,0% (*m/m*) de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v). Na Figura 44 têm-se os resultados das análises, bem como os solvente orgânicos testados.

Verifica-se na Figura 3.34 que quanto maior a quantidade de peróxido de hidrogênio adicionado, maior é a quantidade de insolúveis retidos nos papéis filtro utilizados, mostrando que ocorre uma alteração na molecularidade dos fosfolipídeos da lecitina de soja. Entretanto, mesmo aumentando-se a quantidade de insolúveis retidos teve-se um menor conteúdo de insolúveis para o solvente clorofórmio.

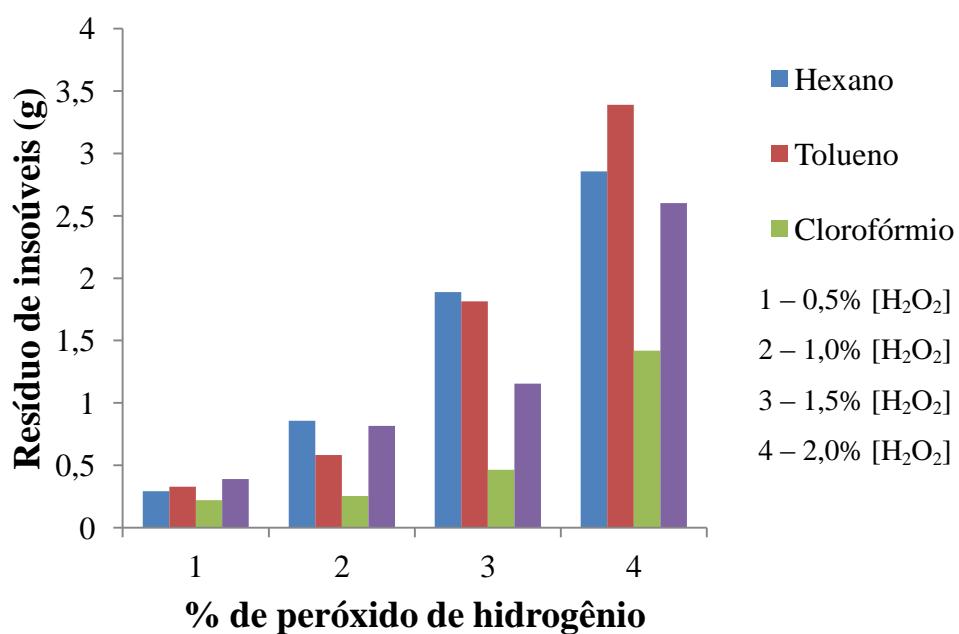


Figura 3.34: Resultado de insolúveis da lecitina de soja clarificada em solventes orgânicos.

Othmer, (2008), testou a solubilidade dos fosfolipídeos que compõem a lecitina de soja comercial, em diferentes solventes. A fosfatidiletanolamina solubilizou em hexano e benzeno, parcialmente solúvel em etanol e insolúvel em acetona. Já o fosfatidilinositol é solúvel em hexano e benzeno, mas insolúvel em etanol e acetona. O resultado obtido mostrou que os fosfolipídeos da lecitina de soja possuem diferenças de solubilidade e em ordem crescente de solubilidade, tem-se o fosfatidilinositol, a fosfatidiletanolamina e por fim, a fosfatidilcolina, mais solúvel.

Garbelotto (2008), traz em sua obra os parâmetros de solubilidade de Hansen, os quais determinam que cada solvente possui uma energia total coesiva (E) constituída pela adição de contribuições energéticas apolares (dispersivas), polares (dipolo-dipolo e dipolo-dipolo induzido) e ligações de hidrogênio (interações de ácido-base de Lewis), conforme a molecularidade.

O hexano é 100% apolar, assim como o éter de petróleo. O tolueno e o clorofórmio possuem potencial hidrofílico igual 16% e 33%, respectivamente. Dos solventes testados o clorofórmio é o que apresenta maior potencial hidrofílico e sabendo-se que os fosfolipídeos possuem um terço da sua molécula polar (hidrofílica), obteve-se coerência nos resultados obtidos. Assim, o clorofórmio foi o solvente que mais solubilizou a lecitina de soja, por apresentar menor conteúdo de insolúveis na análise.

O etanol e a acetona possuem hidrofilicidade igual 64% e 53%, respectivamente (GARBELOTTO, 2008). Esses não foram testados, mas nas análises de qualidade e classificação da lecitina de soja quanto os conteúdo de fosfolipídeos é realizada análise de insolúveis em acetona, a utilização desse solvente se deve justamente por possuir potencial hidrofílico similar à média de fosfolipídeos que contém a maioria das lecitinas comerciais.

Portanto, sem o peróxido de hidrogênio, a lecitina solubilizou-se melhor em hexano, mas com a adição e o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio, o clorofórmio passou a solubilizar melhor a lecitina. O clorofórmio, dentre os solventes testados, foi mais efetivo, pois possui a maior hidrofilicidade de acordo com os parâmetros de Hansen.

3.2.3 Resultados dos Teores de Clorofilas e Carotenoides

Castejon (2010), determinou as quantidades de sustâncias marrons, compostos clorofilados e carotenoides na lecitina adicionada de determinadas concentrações de peróxidos. Verificou que a quantidade desses componentes diminui com o aumento na concentração de peróxido de hidrogênio e o componente de cor em maior concentração na lecitina estudada foram os compostos clorofilados.

Bei (2005), verificou a existência de um equilíbrio na quantidade de substâncias marrons formadas em função da degradação de clorofilas, que liberam o íon de magnésio e esse reage com a fosfatidiletanolamina.

Jha, (2010) descreveu estudo sobre a determinação de cor de mangas maduras e correlacionou a cor determinada com o amadurecimento bioquímico analisado fisico-quimicamente e fez uma ajuste matemático para predizer através da cor o ponto de maturação do fruto.

Verificadas as variações da cor obtidas em cada Experimento do Planejamento Composto Central da etapa de clarificação da lecitina de soja usando o peróxido de hidrogênio 35% (v/v), realizou-se análises dos conteúdos de pigmentos, como clorofilas e carotenóides para correlacionar com os dados obtidos de cor.

Assim, foram determinadas as quantidades de clorofilas “a” e “b”, carotenóides e quando somados os conteúdos designou-se a soma desses componentes de Índice de Cor. O Índice de Cor foi utilizado como resposta para se obter um ajuste matemático dos pigmentos da lecitina de soja com os parâmetros de cor.

Os resultados de clorofila “a”, clorofila “b”, de carotenóides e Índice de Cor (*I.C*), podem ser verificados na Tabela 3.16, com os respectivos Experimentos do PCC.

Observando-se os resultados da Tabela 3.16, nota-se que as quantidades de clorofilas “a” determinadas em cada experimento são inferiores às quantidades de clorofilas “b” quantificadas nas mesmas amostras, o conteúdo de carotenóides variou em todas as amostras e o *I.C*, foi maior no resultado Experimental 21, ou seja, na lecitina comercial, sem tratamento de clarificação, o que foi coerente. O segundo ponto experimental com maior *I.C* foram os pontos centrais (15 ao 20), seguido do ponto Experimental 13. Essa resposta coincide com os dados obtidos sobre os parâmetros de cor, no qual o ponto 13 foi o que apresentou menor luminosidade e variações de cores vermelho/amarelo, mostrando que não houve uma degradação significativa das

substâncias responsáveis pela cor. O Experimento que apresentou menor Índice de Cor foi o 6, portanto, possui menores teores de pigmentos.

Tabela 3.16: Resultados das análises de clorofila “a” (mg/g), clorofila “b” (mg/g), carotenóides (mg/g) e do Índice de Cor (*I.C*, mg/g) nas lecitinas clarificadas e na comercial.

Experimentos	X₁(°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	Clor. “a”	Clor. “b”	Carot.	<i>I.C</i>
1	30	0,70	120	0,227±0,02	0,309±0,01	0,510±0,04	1,046±0,14
2	30	0,70	520	0,425±0,03	0,640±0,08	0,514±0,04	1,579±0,11
3	30	2,30	120	0,566±0,01	0,846±0,00	0,499±0,04	1,911±0,18
4	30	2,30	520	0,337±0,01	0,472±0,02	0,569±0,03	1,378±0,12
5	50	0,70	120	0,160±0,01	0,171±0,01	0,671±0,04	1,002±0,29
6	50	0,70	520	0,115±0,02	0,222±0,03	0,599±0,01	0,936±0,25
7	50	2,30	120	0,145±0,01	0,166±0,02	0,723±0,09	1,034±0,33
8	50	2,30	520	0,327±0,01	0,456±0,04	0,604±0,01	1,387±0,14
9	25	1,50	320	0,236±0,01	0,339±0,04	0,557±0,02	1,132±0,16
10	55	1,50	320	0,307±0,03	0,547±0,02	0,563±0,05	1,417±0,14
11	40	0,28	320	0,367±0,02	0,485±0,03	0,538±0,03	1,390±0,09
12	40	2,72	320	0,271±0,02	0,339±0,03	0,532±0,08	1,142±0,13
13	40	1,50	15	0,399±0,02	0,570±0,02	0,598±0,01	1,567±0,11
14	40	1,50	625	0,257±0,02	0,349±0,05	0,566±0,03	1,172±0,16
15	40	1,50	320	0,314±0,08	0,445±0,08	0,492±0,04	1,251±0,09
16	40	1,50	320	0,298±0,08	0,585±0,08	0,510±0,04	1,393±0,15
17	40	1,50	320	0,367±0,08	0,696±0,08	0,527±0,04	1,590±0,16
18	40	1,50	320	0,453±0,08	0,667±0,08	0,559±0,04	1,679±0,11
19	40	1,50	320	0,458±0,07	0,665±0,08	0,582±0,04	1,705±0,10
20	40	1,50	320	0,466±0,08	0,665±0,08	0,609±0,04	1,740±0,10
Lecitina	25	0	0	0,531±0,03	0,846±0,03	0,546±0,04	1,923±0,18

Levando em consideração toda análise dos parâmetros de cor até então realizados, o Experimento 8 foi considerado como o mais clarificado, seguido dos pontos 12, 14, 10 e 6. Do resultado obtido, a lecitina mais clarificada não possui

necessariamente o menor conteúdo de pigmentos analisados, devendo-se realizar uma análise mais abrangente, de outros compostos, pois era esperado que o resultado Experimental 8 tivesse menor quantidade de pigmentos, ou seja, maior cor branca, luminosidade (L^*). Foi obtida a maior luminosidade (L^*), no entanto, esse experimento além de brilho (luminosidade) também apresentou cores mais intensas em vermelho e amarelo, mostrando que não ocorreu oxidação apreciável dos carotenóides e das clorofilas, compostos analisados, à condição de 50°C, adição de 2,3% (*m/v*) de H₂O₂ e agitação por 520 segundos à rotação de 600±20 rpm.

Para uma melhor compreensão dos resultados obtidos, intencionou-se a modelagem da clarificação da lecitina de soja, relacionando os parâmetros de cor com a análise dos compostos carotenoides e clorofilas.

Enfim, a soma de todos os componentes avaliados (clorofila “a”, clorofila “b” e carotenóides) que podem fornecer cor à lecitina foram designados de Índice de Cor, o qual será a resposta dos modelos propostos para descrever a etapa de clarificação.

Todos os modelos descritos na Tabela 3.17 foram avaliados e observou-se que os coeficientes de regressão são muito baixos, apesar de todos os parâmetros do caso 4 terem sido significativos a $p<0,1$. Assim, foi realizada modelagem completa, com todos os parâmetros da cor até sua forma quadrática e com interações, excluindo-se os efeitos não significativos para se obter apenas os efeitos significativos e o coeficiente de regressão correspondente.

Os modelos mostrados na Tabela 3.17 não mostraram boas correlações na análise de regressão. Foi feito então um modelo mais robusto, o qual apresentou R² igual a 84,89%, com p igual 12% de significância, o melhor modelo para descrever a relação entre a soma das quantidades dos pigmentos (clorofilas e carotenóides) mensurados, com os parâmetros de cor do sistema Cielab.

Pela Equação (24), nota-se que os conteúdos de clorofilas e carotenóides podem ser descritos por todos os parâmetros de cor avaliados. Nota-se que o coeficiente de regressão não foi elevado como esperado, mas preditivo em determinar que todos os parâmetros de cor influenciam na avaliação final da cor da lecitina clarificada.

$$\begin{aligned} IC = & C1 + C2b^* + C3C^* + C4H + C5L^{*2} + C6a^{*2} + C7b^{*2} + C8C^* \\ & + C9H^2 + C10L^*b^* + C11L^*C^* + C12L^*H + C13a^*H \end{aligned} \quad (24)$$

Tabela 3.17: Variáveis, modelos ajustados e coeficientes de regressão ajustados aos resultados experimentais.

Caso	Modelos	$R^2 (p<0,1)$
1	$IC = C1 + C2H + C3a^* + C4b^{*2} + C5C^{*2} + C6H^2 + C7L^*a^*$ + $C8L^*b^* + C9L^*H$	73,52%
2	$IC = C1 + C2H + C3a^{*2} + C4b^{*2} + C5C^{*2} + C6H^2 + C7L^*a^*$ + $C8L^*b^* + C9L^*H + C10b^*C^*$	59,72%
3	$IC = C1 + C2a^* + C3b^* + C4C^* + C5H + C6a^*b^* + C7a^*C^*$ + $C8a^*H$	74,86%
4	$IC = C1 + C2b^* + C3C^* + C4H + C5C^{*2} + C6L^*b^* + C7b^*C^*$ + $C8b^*H$	75,00%
5	$IC = C1b^* + C2C^* + C3H + C4C^{*2} + C5H^2 + C6L^*C^* + C7b^*C^*$ + $C8C^*H$	75,32%
6	$IC = C1 + C2H + C3a^{*2} + C4b^{*2} + C5C^{*2} + C6H^2 + C7L^*b^*$ + $C8L^*C^* + C9a^*b^*$	78,59%

$C1, C2, C3 \dots Cn$ são constantes dos modelos.

Na Tabela 3.18 pôde-se verificar os valores numéricos dos efeitos significativos de cada parâmetro do modelo obtido. Com os valores da Tabela 3.18, pôde-se obter Equação (25) que descreve modelo de ajuste do Índice de Cor para a clarificação da lecitina de soja.

$$\begin{aligned}
 IC = & -105344 - 1990b^* + 1990C^* + 2447H + 46a^{*2} - 86b^{*2} \\
 & + 86C^* - 14H^2 + 180L^*b^* - 179L^*C^* - 3L^*H \\
 & - a^*H
 \end{aligned} \tag{25}$$

Ressalta-se que o coeficiente de regressão encontrado não resultou num bom ajuste do modelo do Índice de Cor, possivelmente a quantificação dos compostos pigmentares, clorofilas e carotenóides, na lecitina de soja, são insuficientes para descrever as alterações de cor no processo de clarificação, devendo-se incluir em outros modelos de clarificação da lecitina de soja, a quantificação dos tocoferóis e substâncias marrons.

Tabela 3.18: Parâmetros do modelo.

Parâmetros	Valores Estimados	t_{calculado}	valor de p
C1	-105344	-2,6667	0,0321
C2	-1990	-1,9477	0,0925
C3	1990	1,9453	0,0928
C4	2447	2,6699	0,0320
C5	0	-2,4638	0,0432
C6	46	2,8672	0,0241
C7	-86	-3,4818	0,0102
C8	86	3,4861	0,0102
C9	-14	-2,6720	0,0319
C10	180	2,9318	0,0220
C11	-179	-2,9271	0,0221
C12	-3	-2,3342	0,0523
C13	-1	-1,7554	0,1226

Frankel, (2012) propôs um equilíbrio na oxidação de pigmentos lipídicos, como tocoferóis, clorofilas e carotenoides, através da ação do oxigênio *triplete* e *singlete*, como mostrado na Figura 3.35.

O oxigênio *singlete* e *triplete*, são agentes pró-oxidantes dos lipídeos, interagem com os tocoferóis, clorofilas e carotenóides, alterando suas estruturas em α e β , clorofilas “a” e “b”, sem descaracterizá-los como estruturas, mas modificando suas faixas de absorção de luz e consequente coloração. Por exemplo, a clorofila “a” oxidada possui coloração verde oliva (feofitinas) e/ou coloração verde/castanho (feoforbídeos). Esses são agentes anti-oxidantes lipídicos que sequestram o oxigênio sem oxidarem o ácido graxo insaturado (FRANKEL, 2012).

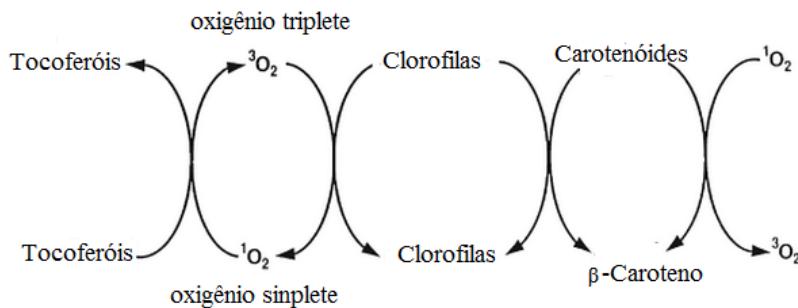


Figura 3.35: Oxidação de pigmentos.

Fonte: FRANKEL, (2012)

Scholfield, (1981), trabalhou com lecitina que apresentou cerca de 73% de fosfolipídeos e quantificou em 1,3 mg/g de tocoferóis, não avaliou carotenóides, clorofilas e substâncias marrons, mas afirmou que os carotenóides são facilmente peroxidados na clarificação com H_2O_2 e que na mesma proporção são formadas substâncias marrons.

Entretanto, o resultado mostrou coerência com os resultados obtidos nos parâmetros de cor, pois o Experimento 8, apresentou-se mais claro, porém com cor vermelho/amarelo (a^*/b^*), com maior intensidade ou saturação da cor (cor mais “vibrante”) e com ângulo ou tonalidade deslocando-se de avermelhada para amarelada, o que corresponde às análises de clorofilas e carotenóides, pois não apresentou menor valor, ou seja, menor degradação desses componentes.

CAPÍTULO IV – AVALIAÇÃO OXIDATIVA DA ETPA DE CLARIFICAÇÃO

O presente capítulo tem por objetivo verificar o estado oxidativo da lecitina comercial sobmetida à etapa de clarificação com peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) sob variações na concentração adicionada, temperatura e rotação.

4.1 Material e Métodos

As análises descritas a seguir foram realizadas em todos os 20 pontos experimentais do PCC e na lecitina de soja comercial. Essas referem-se à qualidade lipídica da lecitina para verificar a ocorrência de degradações dos componentes moleculares da lecitina, ácidos graxos e pela reação de hidrólise.

4.1.1 Atividade de Água

A atividade de água nos alimentos é constantemente associada à segurança microbiológica alimentar e à conservação dos alimentos. Segundo Pereda *et al.*, (2005) a atividade de água (Aw ou Aa) indica a intensidade das forças que unem a água com outros componentes não aquosos e a água disponível para crescimento de microrganismos e reações bioquímicas. Matematicamente pode ser definida pela relação entre a pressão de vapor de água de um alimento com a pressão de vapor da água pura, medidos à mesma temperatura (FILHO; VASCONCLOS, 2011).

A determinação da atividade de água foi realizada em equipamento, Analisador de Atividade de Água AquaLab modelo 4TE no laboratório de físico-química do IFTM. A calibração do equipamento foi feita com solução padrão de Cloreto de Sódio (NaCl) a 6M, cuja atividade de água aferida foi de 0,760 a 25°C, como constata no manual do equipamento, mostrado na Figura 4.36.



Figura 4.36: Vista do equipamento de medida de atividade de água e os suportes fechados com as amostras de lecitina clarificadas.

As amostras analisadas foram as lecitinas obtidas na etapa de clarificação, 20 amostras do planejamento composto central e da lecitina sem clarificação (Experimento 21). As amostras foram clarificadas conforme delineamento estatístico no que tange ao controle de temperatura, tempo de agitação sob rotação constante (controlada com tacômetro) e concentração de peróxido de hidrogênio da marca Impex a 35% (v/v). Essas foram colocadas no fundo dos recipientes próprios para análise, até que o fundo do recipiente ficasse todo coberto, foram usados cerca de 1 g por experimento.

4.1.2 Índice de Acidez

O índice de acidez é definido como o numero de mg de hidróxido de potássio (KOH) necessário para neutralizar um grama da amostra. Seguiu-se a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz, (2008), método de número 325/IV que corresponde ao método internacional oficial da AOCS (*American Oil Chemistry Society*) de número Ja6-55(11), cuja base de cálculo é mostrada na Equação (26), onde V é o volume em mL de solução de hidróxido de sódio a 0,1M gastos na titulação, f , o fator de correção da solução de KOH utilizada igual a 1, p é a massa da amostra e 5,61 fator numérico de correção da análise.

$$IA \text{ (mgKOH/g)} = \frac{5,61 * V * f}{p} \quad (26)$$

O índice de acidez normalmente é associado à conservação dos lipídeos, conotando estado de rancificação hidrolítica. Foram pesados mais ou menos 1,5 g de amostra em cada amostragem dos resultados dos experimentos e realizadas as titulações.

4.1.3 Índice de Saponificação

Este método é aplicável a todos os óleos e gorduras e expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar um grama de amostra. Mas, diferentemente do índice de acidez, as amostras são levadas a uma chapa aquecedora até fervura por mais ou menos uma hora, com um condensador acoplado (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Foram pesados cerca de 3 g de cada amostra e a base de cálculo para a determinação do índice de saponificação foi obtido pela Equação (27), onde 28,06 é o fator de correção numérico para a análise, f é o fator de correção da solução de HCl 0,5M, ($f = 0,9850$), V_a é o volume gasto de ácido clorídrico para titulação das amostras e V_b , volume gasto de HCl na titulação do branco e p , a massa das amostras pesadas.

$$IS \text{ (mgKOH/g)} = \frac{28,06 * f * (V_a - V_b)}{p} \quad (27)$$

O I.S. é usado como uma estimativa média dos tamanhos das cadeias de ácidos graxos que compõem os triglicerídeos ou a lecitina. Quanto maior for o valor do índice de saponificação, menores são os tamanhos das cadeias de ácidos graxos e vice-versa (RANKEN et al., 1997).

O índice de saponificação subtraído do índice de acidez fornece o índice de éster, o qual é a medida estimada de glicerídeos presentes na lecitina (POMERANZ; MELOAN, 1994).

4.1.4 Coeficiente de Extinção Específica

A absorção nos comprimentos de onda a 232 e 270 nm, especificados no método, é devido à presença de sistemas dienos e trienos conjugados, respectivamente. Estes compostos são formados por oxidação e/ou processo de refino do óleo, como uso de temperatura excessiva (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Segundo Oetterer; Regitano D`Arce; Spoto, (2006), essa análise prevê a ranfificação oxidativa, quebra das duplas ligações dos ácidos graxos insaturados, formando radicais hidroperóxidos (mais estáveis) e peróxidos, substâncias intermediárias à oxidação, verificadas no espectro UV (Ultra Visível) à 232 nm. E, a absorbância medida a 270 nm, corresponde a produtos secundários da oxidação como dicetona e cetonas. Resumidamente, a determinação do coeficiente de extinção específica é uma estimativa dos compostos oxidativos formados que fornece o estado de oxidação. Se a absorvância for maior a 232 nm é o início da oxidação e se maior a 270 nm refere-se ao final da oxidação, cujos valores são obtidos pelas equações (28) e (29).

$$K_{232} = A_{232}/c l \quad (28)$$

$$K_{270} = A_{270}/c l \quad (29)$$

Tal análise foi realizada em espectrofotômetro UV-VIS da marca RAY LEIGH UV 1800, leitura em cubetas de quartzo de 1 cm (l) e c refere-se às massas de lecitinas clarificadas de 0,25 g diluídas em 50 mL de clorofórmio PA da marca Synth, obtendo-se diluição de 1:200. Foram construídas curvas de calibração e as leituras foram realizadas em triplicata.

4.2 Resultados e Discussões

4.2.1 Resultados de Atividade de Água

No equipamento AquaLab (Figura 4.36) para a determinação do teor de atividade de água, as amostras acondicionadas em recipiente apropriado (recipiente plástico que acompanha o equipamento) foram pesados cerca de 1 g de cada amostra para condução da análise. A temperatura média de leitura da atividade de água em cada amostra foi de $23,95^{\circ}\text{C} \pm 0,02$ dado pelo equipamento, a cada análise e posterior calibração do equipamento.

Realizada análise de atividade de água em equipamento específico, os resultados obtidos podem ser verificados na Tabela 4.19.

O Experimento 21 refere-se à lecitina de soja comercial, temperatura de 25°C , sem peróxido e sem agitação, o qual apresentou menor atividade de água, seguido do Experimento 11, que possui tempo de agitação de 320 segundos, temperatura de 40°C e

a menor concentração de peróxido de hidrogênio, 0,28%, ou seja, adição de 274 µL de peróxido de hidrogênio em 100 g de lecitina, sendo a densidade do peróxido a 25°C igual a 1,02 g/mL.

Tabela 4.19: Atividade de água determinada em cada experimento da clarificação.

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	Aw
1	30	0,70	120	0,2707±0,01
2	30	0,70	520	0,2605±0,00
3	30	2,30	120	0,4169±0,01
4	30	2,30	520	0,4059±0,01
5	50	0,70	120	0,2781±0,02
6	50	0,70	520	0,2683±0,00
7	50	2,30	120	0,4066±0,01
8	50	2,30	520	0,4061±0,03
9	25	1,50	320	0,3498±0,01
10	55	1,50	320	0,3394±0,00
11	40	0,28	320	0,2343±0,02
12	40	2,72	320	0,4483±0,01
13	40	1,50	15	0,3617±0,02
14	40	1,50	625	0,3483±0,02
15	40	1,50	320	0,3600±0,00
16	40	1,50	320	0,3537±0,00
17	40	1,50	320	0,3549±0,00
18	40	1,50	320	0,3454±0,00
19	40	1,50	320	0,3495±0,00
20	40	1,50	320	0,3621±0,00
Lecitina	25	0	0	0,1605±0,09

Nota-se na Tabela 4.19, as atividades de água foram maiores nas lecitinas clarificadas, Experimentais 3, 4, 7, 8 e principalmente no ponto 12. Esse aumento de atividade de água nos pontos citados refere-se à maior adição de H₂O₂ a 35% (v/v).

Em análise estatística preliminar para se verificar a relação da atividade de água com a temperatura, tempo de agitação e concentração de peróxido com a atividade

de água, verificou-se que ao nível de 90% de confiabilidade ($p<0,1$), teve-se parâmetros significativos e não significativos mostrados no gráfico de Pareto, no Apêndice VII.

Sabendo-se quais são os efeitos significativos e não significativos, pode-se excluir na análise de variância os efeitos não significativos e obter-se a Tabela 4.20 na qual tem-se o quadro da ANOVA para a atividade de água com os efeitos significativos.

Tabela 4.20: Resultados da ANOVA para a resposta de atividade de água e os efeitos significativos.

<i>Aw</i>	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor <i>p</i>	Efeito	DV
R² 99,39%							
X ² ₁	0,000	1	0,000	12,780	0,003	-0,011	0,003
X ₂	0,062	1	0,063	2240,463	0,000	0,140	0,003
X ₃	0,000	1	0,000	7,729	0,015	-0,008	0,003
X ² ₂	0,000	1	0,000	19,923	0,000	-0,014	0,003
X ₁ *X ₂	0,000	1	0,000	2,900	0,111	-0,006	0,004
Resíduo	0,000	14	0,000				
Total	0,063	19					

O coeficiente de regressão estimado foi de 99,93%, como mostra a Tabela 4.20. Verifica-se que o valor de significância da interação entre a temperatura e a concentração de H₂O₂ foi considerado como efeito significativo, pois o valor de *p* foi igual a 0,1106, que é muito próximo do limite de *p* menor ou igual a 0,10, ou seja, próximo dos 10% da área de normalidade em que os valores se encontram na zona de rejeição da hipótese de nulidade no teste t de Student.

Com os valores dos efeitos da Tabela 4.20 foi possível elaborar a equação na forma reduzida da variação da atividade de água e obter as superfícies de respostas do comportamento entre as variáveis independentes e a resposta (atividade de água). Na Equação (30), tem-se o modelo matemático reduzido para a atividade de água.

$$Aw = 0,3541 + 0,0699x_2 - 0,0071x_2^2 - 0,0057x_1 - 0,0041x_3 - 0,0032x_1x_2 \quad (30)$$

Na Figura 4.37 (A, B e C), têm-se as superfícies de respostas da atividade de água em relação às variáveis independentes do planejamento, o tempo de agitação, temperatura e concentração de H_2O_2 a 35% (m/v).

Na superfície de resposta C (Figura 46), observa-se que a atividade de água não possui elevada influência do tempo de agitação e aumenta com os maiores valores de concentração de H_2O_2 . A temperatura apresentou efeito similar ao tempo de agitação (superfície de resposta A, Figura 4.37).

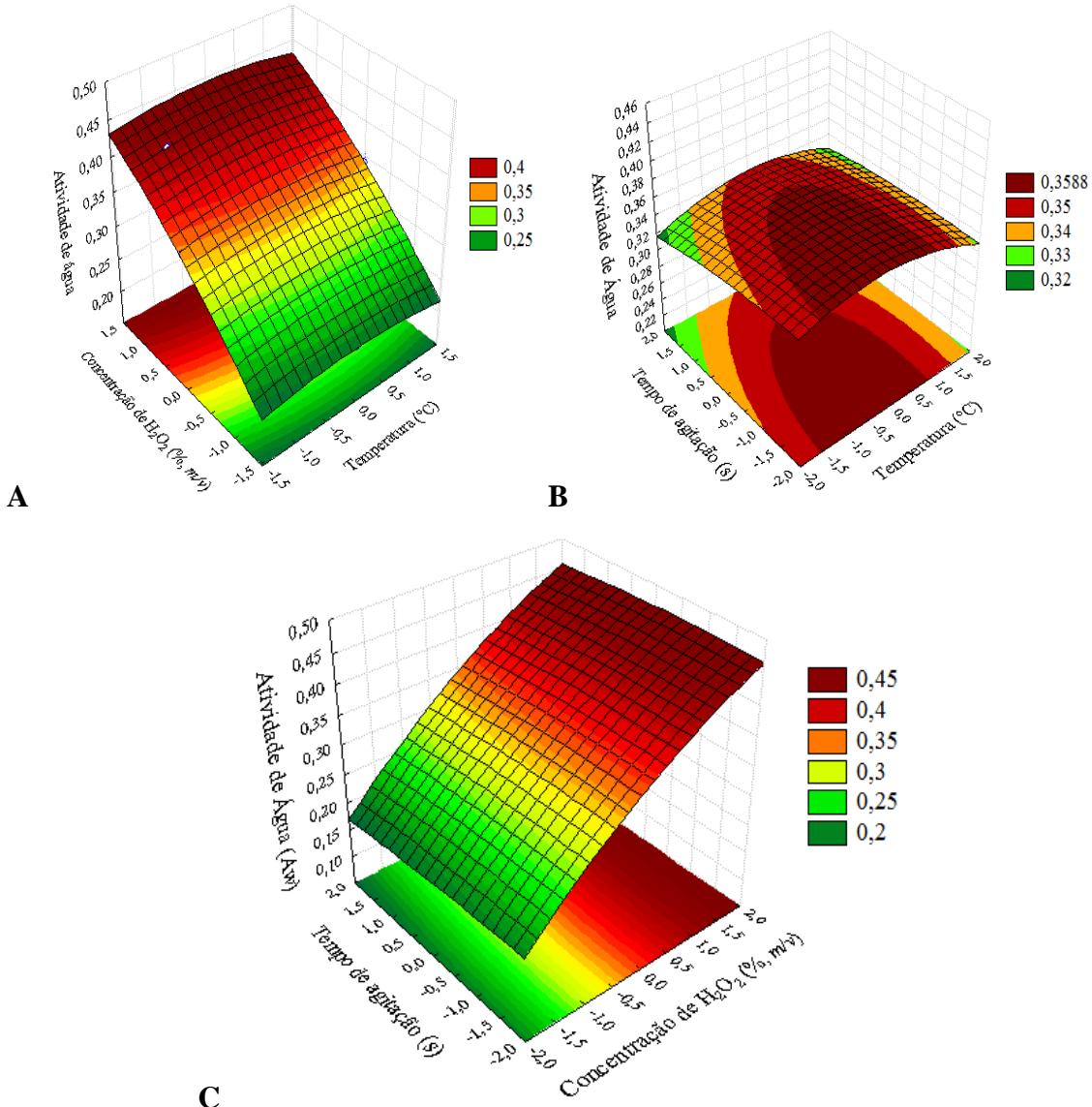


Figura 4.37: Superfícies de respostas (A, B e C) para a atividade de água medida em cada experimento do planejamento.

Analizando a Figura 4.37, nota-se a curva assinalada com o número 1 corresponde à oxidação dos lipídeos (rancificação) em função da atividade de água

(isoterma de equilíbrio, curva 2, absissa). Para valores de atividade de água (Aw) de 0 a 0,25 têm-se elevada oxidação lipídica, essa decresce e torna a aumentar em 0,4. Portanto, alimentos ricos em lipídeos possuem baixa oxidação lipídica com valores de atividade de água em torno de 0,3.

Damodaran; Parkin; Fennema, (2010) afirmam que com a retirada de água de um alimento, a oxidação lipídica diminui, mas em alguns alimentos ocorre a aceleração, pois a baixa atividade de água ($Aw < 0,3$) resulta na solvatação de água que recobre os hidroperóxidos lipídicos. Os hidroperóxidos se decompõem e resultam na quebra dos ácidos graxos livres gerando a rancidez hidrolítica e em compostos voláteis de baixa massa molecular.

A reação de rancidez hidrolítica ocorre em presença de água e rompe a ligação de esterificação dos triglicerídeos, formando radicais de ácidos graxos livres inertes ou reativos e o método titulométrico do índice de acidez é muito utilizado para estimar a quantidade de ácidos graxos livres (SILVA et al., 1999).

Os resultados obtidos (Tabela 4.19) mostraram que os valores de atividades de água nas lecitinas clarificadas encontram-se no intervalo de 0,25 a 0,4, da Figura 4.38 e, portanto, numa região de baixa rancificação lipídica.

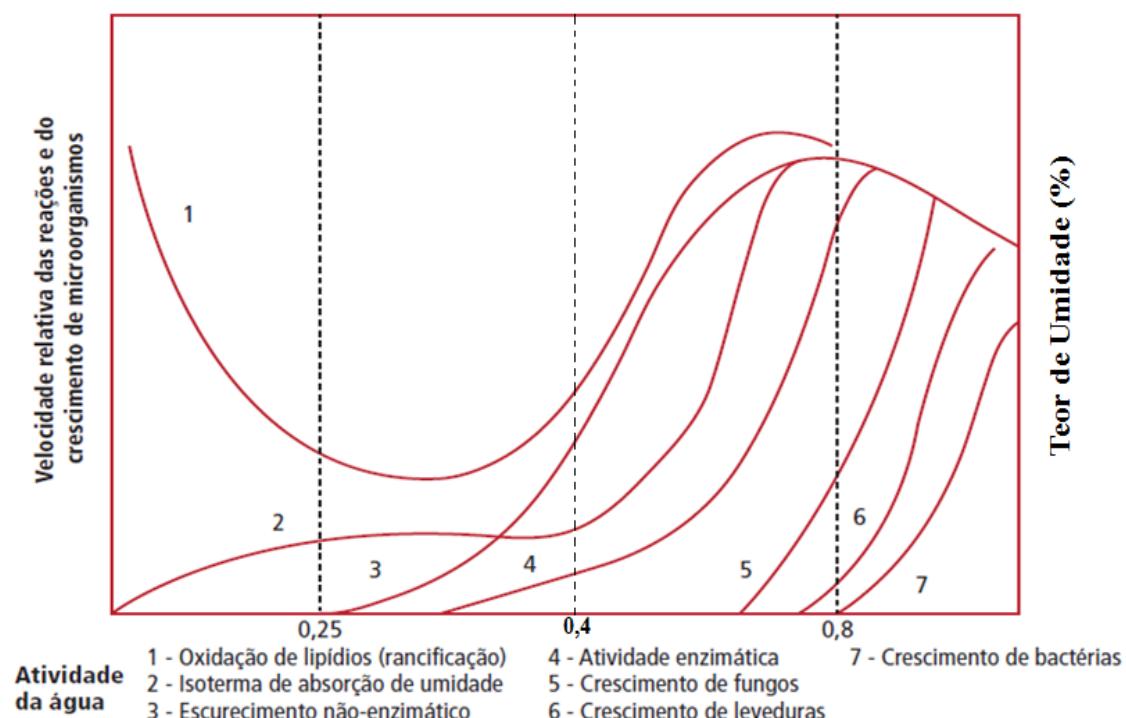


Figura 4.38: Diagrama da atividade de água relacionada às alterações químicas dos alimentos.

Fonte: FILHO; VASCONCELOS, (2011).

Conclui-se que a adição de peróxido de hidrogênio foi a variável que mais interferiu na atividade de água, sendo que o aumento da concentração de peróxido de hidrogênio leva a um aumento no teor de atividade de água. A análise estatística e os resultados obtidos mostraram resíduos inteiramente normalizados e aleatoriamente distribuídos nos pontos como se pôde verificar no Apêndice VII.

De acordo com Pereda *et al.*, (2005) a atividade de água é o fator que mais influencia num alimento no que se refere às suas alterações, estabilidade, conservação e desidratação. A atividade de água é definida pelo quociente de pressão de vapor de uma solução ou de um alimento com a pressão de vapor da água pura à mesma temperatura.

O termo atividade de água foi estudado para indicar a intensidade da água em ligar-se a constituintes não aquosos em alimentos, não pode ser utilizado como único parâmetro de estudo, portanto, esse parâmetro frequentemente é associado, por exemplo, ao crescimento microbiológico, às reações enzimáticas e de degradação como a oxidação (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

4.2.2 Resultados do Índice de Acidez

Sendo assim, após adicionar peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), procedeu-se a metodologia descrita pelo Instituto Adolf Lutz (2008), método titulométrico de índice de acidez, em triplicata, pesando-se aproximadamente 2 g de amostra. Os resultados da análise podem ser verificados na Tabela 4.21 para os respectivos experimentos. Na tabela 24, observa-se que os valores de Índice de Acidez (*I.A*) para a lecitina comercial foi da mesma grandeza que o *I.A.* do Experimento 11, que apresentou menor atividade de água.

Sabendo-se que a elevada atividade de água, aumenta a mobilidade dos compostos bioquímicos dos alimentos, acelerando as reações enzimáticas e possibilita o crescimento microbiológico, fez-se necessário de determinação do índice de acidez, o qual informa a quantidade de ácidos graxos livres, formados pela reação de hidrólise dos triglicerídeos em presença de água (MORETTO; FETT, 1998).

Tabela 4.21: Resultados de Índice de Acidez das lecitinas clarificadas.

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	IA (mg KOH/g)
1	30	0,70	120	16,9931±0,16
2	30	0,70	520	17,4844±0,64
3	30	2,30	120	14,0641±0,05
4	30	2,30	520	13,8483±0,41
5	50	0,70	120	17,8327±0,92
6	50	0,70	520	17,9212±0,80
7	50	2,30	120	13,9570±0,62
8	50	2,30	520	12,8851±0,22
9	25	1,50	320	14,9705±0,74
10	55	1,50	320	17,0581±0,40
11	40	0,28	320	18,8394±0,53
12	40	2,72	320	11,9008±0,27
13	40	1,50	15	14,9188±0,87
14	40	1,50	625	16,3892±1,10
15	40	1,50	320	15,9400±0,17
16	40	1,50	320	15,8567±0,17
17	40	1,50	320	15,9137±0,17
18	40	1,50	320	15,6111±0,17
19	40	1,50	320	15,9369±0,17
20	40	1,50	320	15,8300±0,17
Lecitina	25	0	0	18,9500±1,52

De acordo com Silva, Borges, Ferreira (1999), o índice de acidez é uma estimativa da quantidade de ácidos graxos residuais, não oxidados num óleo. Corresponde pelo método titulométrico à quantidade de base (KOH) em miligramas necessários para neutralizar 1 grama de óleo preparado com uma solução de éter/álcool na proporção de 2:1. Segundo, Damodaran, Parkin, Fennema (2010), os ácidos graxos livres referem-se a ácidos graxos liberados durante a rancidez hidrolítica dos lipídeos devido à presença basicamente de água e enzimas.

Além disso, nota-se que o índice de acidez da lecitina de soja comercial foi o maior valor determinado. Se o índice de acidez representa a quantidade de ácidos graxos hidrolisados pela água, como mencionam Silva, Borges e Ferreira (1999), tem-se que a

lecitina comercial possui qualidade inferior às lecitinas clarificadas obtidas. Portanto, a adição de peróxido de hidrogênio, sob controle de agitação, tempo de agitação e temperatura foram fatores que contribuíram para aumentar-se a qualidade, ou seja, diminuindo a quantidade de ácidos graxos livres.

Baixos valores de índice de acidez foram obtidos nos Experimentos 12 (11,901 mgKOH/g de lecitina) e 8 (12,885 mgKOH/g de lecitina). Esses experimentos foram realizados às temperaturas de 40 e 50°C, concentrações de H₂O₂ elevadas de 2,72% e 2,3% (m/v) e tempo de agitação, iguais a 320 e 520 segundos, respectivamente. Nessas condições, houve a diminuição da concentração dos ácidos graxos livres, podendo-se postular que ocorrem outras reações que não sejam a formação de ácidos graxos livres (hidrólise das ligações de ésteres) e esses reagiram com elevadas concentrações de peróxidos.

Analizando estatisticamente, no Planejamento Composto Central, observa-se no gráfico de Pareto (apêndice VIII) a variação significativa e não significativa das variáveis sobre a resposta, ao nível de confiabilidade de 90%.

Pode se verificar na Tabela 4.22, os efeitos de cada variável independente sobre os resultados obtidos na análise de índice de acidez por meio da análise de variância.

Tabela 4.22: ANOVA do Índice de Acidez das lecitinas clarificadas.

I.A. R ² 91,94%	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeito	DV
X ₁	0,908	1	0,908	3,547	0,078	0,536	0,284
X ₂	53,672	1	53,672	209,679	0,000	-4,120	0,284
X ₁ *X ₂	0,688	1	0,688	2,689	0,120	-0,587	0,358
Resíduo	4,095	16	0,256				
Total	59,364	19					

Na Tabela 4.22, observa-se a interação entre as variáveis lineares de temperatura e concentração de H₂O₂ que apresentou valor de *p* igual a 0,1205, tem-se que esse valor aproxima-se do valor estabelecido (*p*<0,1) ao nível de confiabilidade de 90% do teste de hipóteses. Logo, a interação foi considerada como um efeito

significativo, obtendo-se o coeficiente de regressão estimado (R^2) igual a 95,49%. Quando se tem todos os efeitos significativos, obtém-se R^2 igual a 93,10%.

Com a ANOVA realizada foi obtida a Equação (31), com apenas os efeitos significativos para descrever o comportamento do Índice de Acidez (*I.A.*).

$$I.A. = 15,7076 - 2,0599x_2 - 0,2933x_2x_1 + 0,2679x_1 \quad (31)$$

Usando a Equação (31), podem-se obter as superfícies de respostas, as quais mostram claramente as interações entre as variáveis independentes e a resposta, como mostra a Figura 4.39 (A, B e C).

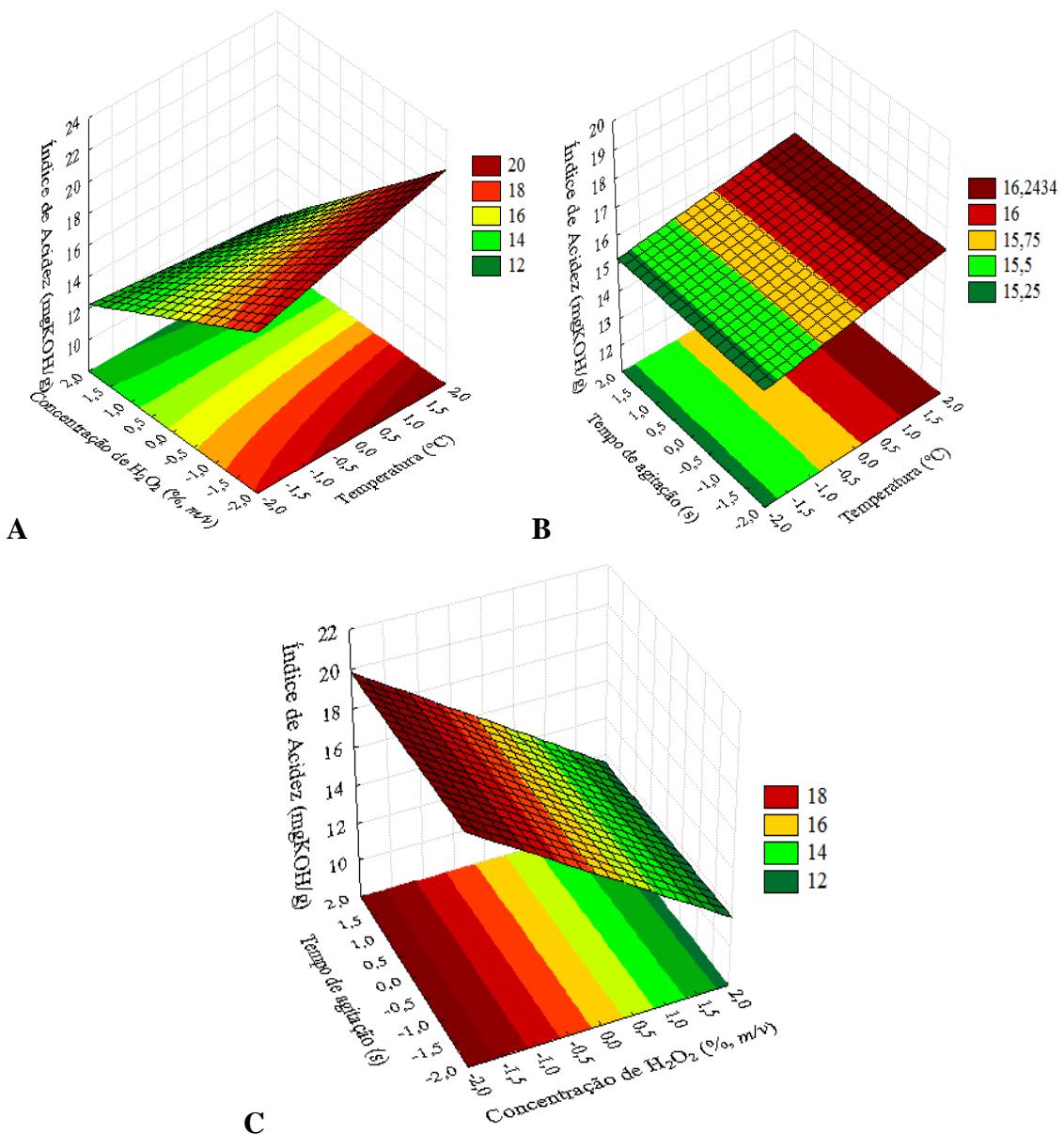


Figura 4.39: Superfícies de respostas A, B e C do Índice de Acidez (*I.A.*).

Verifica-se na superfície de resposta A, Figura 4.39, que o Índice de Acidez aumenta com o aumento da temperatura e com a diminuição na concentração de peróxido de hidrogênio. Na superfície de resposta B, verifica-se que o tempo de agitação não influenciou no índice de acidez, sendo apenas o aumento da temperatura. Na superfície de resposta C, tem-se o reforço da resposta verificada na superfície A, mostrando claramente o efeito da concentração de peróxido de hidrogênio sobre o índice de Acidez.

Analizando os resultados obtidos nas superfícies de resposta e considerando o Índice de Acidez como a quantidade de ácidos graxos livres advindos de oxidação lipídica, tem que os experimentos de maior qualidade, os Experimentos 8 e 12. A consistência dos resultados foi verificada através dos gráficos de resíduos, os quais foram normais, distribuídos e aleatórios, conforme Apêndice VIII.

O peróxido de hidrogênio utilizado foi de solução a 35% (v/v), sendo 35% de H_2O_2 e 65% de água, possuindo poder de oxigênio ativo igual a 16,5% (m/v). Em grande parte das reações descritas, com peróxido de hidrogênio, ocorre a decomposição do peróxido, formando água e oxigênio na forma de gás (MATTOS et al., 2003). Portanto, o conteúdo de água nas amostras de lecitina clarificada aumentou e o oxigênio formado reagiu com as moléculas dos fosfolipídeos que compõem a lecitina de soja clarificada, como era esperado.

Conclui-se que a rancificação hidrolítica que é a quebra das ligações de ésteres na lecitina de soja clarificada. A água adicionada juntamente com o peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) não interfere no índice de acidez. Assim, a clarificação da lecitina de soja não possui rancidez hidrolítica, que a água adicionada nas concentrações de H_2O_2 (% , m/v) não interferem na coloração, pois o Experimento 8, mais luminoso, apresentou um dos menores índices de acidez, baixa atividade de água, na faixa de baixa oxidação lipídica.

Não ocorrendo a rancidez hidrolítica, todo material oleaginoso suscetível à oxidação, pode desqualificar-se pela rancidez oxidativa, a qual resume-se na quebra das duplas ligações dos ácidos graxos insaturados por diversos mecanismos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999).

4.2.3 Resultados do Índice de Saponificação

O índice de saponificação (I.S) é a quantidade de álcali necessário para saponificar uma quantidade definida de amostra. Como resultado à análise de índice de saponificação, tem-se a estimativa do peso molecular dos ácidos graxos que compõem a matéria prima oleosa (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Na Tabela 4.23 são apresentados os resultados de índice de saponificação após etapa de clarificação.

Tabela 4.23: Planejamento Experimental e resultados de Índice de Saponificação (I.S)

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	IS (mgKOH/g)
1	30	0,70	120	182,2518±2,08
2	30	0,70	520	181,7068±1,92
3	30	2,30	120	201,2832±0,58
4	30	2,30	520	201,4191±0,43
5	50	0,70	120	179,9797±0,51
6	50	0,70	520	181,5810±0,46
7	50	2,30	120	202,0061±1,36
8	50	2,30	520	205,3014±0,98
9	25	1,50	320	199,5413±1,27
10	55	1,50	320	183,3677±2,57
11	40	0,28	320	179,7493±0,89
12	40	2,72	320	208,3761±1,04
13	40	1,50	15	199,8675±1,04
14	40	1,50	625	183,3392±1,96
15	40	1,50	320	199,2804±1,85
16	40	1,50	320	195,1266±1,85
17	40	1,50	320	198,3932±1,85
18	40	1,50	320	199,8375±1,85
19	40	1,50	320	195,2858±1,85
20	40	1,50	320	198,4986±1,85
Lecitina	25	0	0	175,8283±1,64

A lecitina de soja comercial apresentou o mais baixo índice de saponificação, que corresponde a um elevado peso molecular estimado dos ácidos graxos que compõem os fosfolipídeos e trigliceróis. Comparando-se a lecitina comercial com o resultado do Experimento 9, que possui mesma temperatura de clarificação, verifica-se que a concentração de peróxido e o tempo de agitação promovem alterações no *I.S.*

Observando o resultado do Experimento 11, que possui a menor concentração de peróxidos, o resultado foi tão baixo quanto da lecitina comercial, portanto a adição realmente influencia os resultados de *I.S.* O índice de saponificação do Experimento 8, não foi o maior valor obtido, sendo do Experimento 12, o maior valor de mg de hidróxido de potássio gastos na titulação da amostra saponificada.

Se o maior valor de *I.S.* corresponde a menores cadeias de ácidos graxos, o Experimento 12 passou pela maior oxidação, tal afirmativa foi respaldada pelos resultados de índice de acidez, pois foi o menor valor. Nota-se que para os maiores valores de índice de saponificação, foram obtidos menores valores de índice de acidez e maiores valores de coeficiente de extinção específica a 270 nm, ou seja, amostras oxidadas e com grande quantidade de compostos secundários da oxidação.

Para verificar, os efeitos das variáveis da etapa de clarificação sobre o índice de saponificação, realizou-se análise estatística, cujo gráfico de Pareto com os resultados dos efeitos significativos e não significativos ao nível de 90% de confiabilidade da análise, encontra-se no Apêndice X.

Pela ANOVA tem-se a Tabela 4.24, na qual são mostrados os valores dos efeitos significativos, valores menores que $p < 0,10$. Obteve-se coeficiente de regressão igual a 83,59% correspondente aos efeitos significativos quanto à análise de saponificação. Foram significativos os efeitos da temperatura e do tempo de agitação na forma quadrática e da concentração de H_2O_2 (m/v) na forma linear.

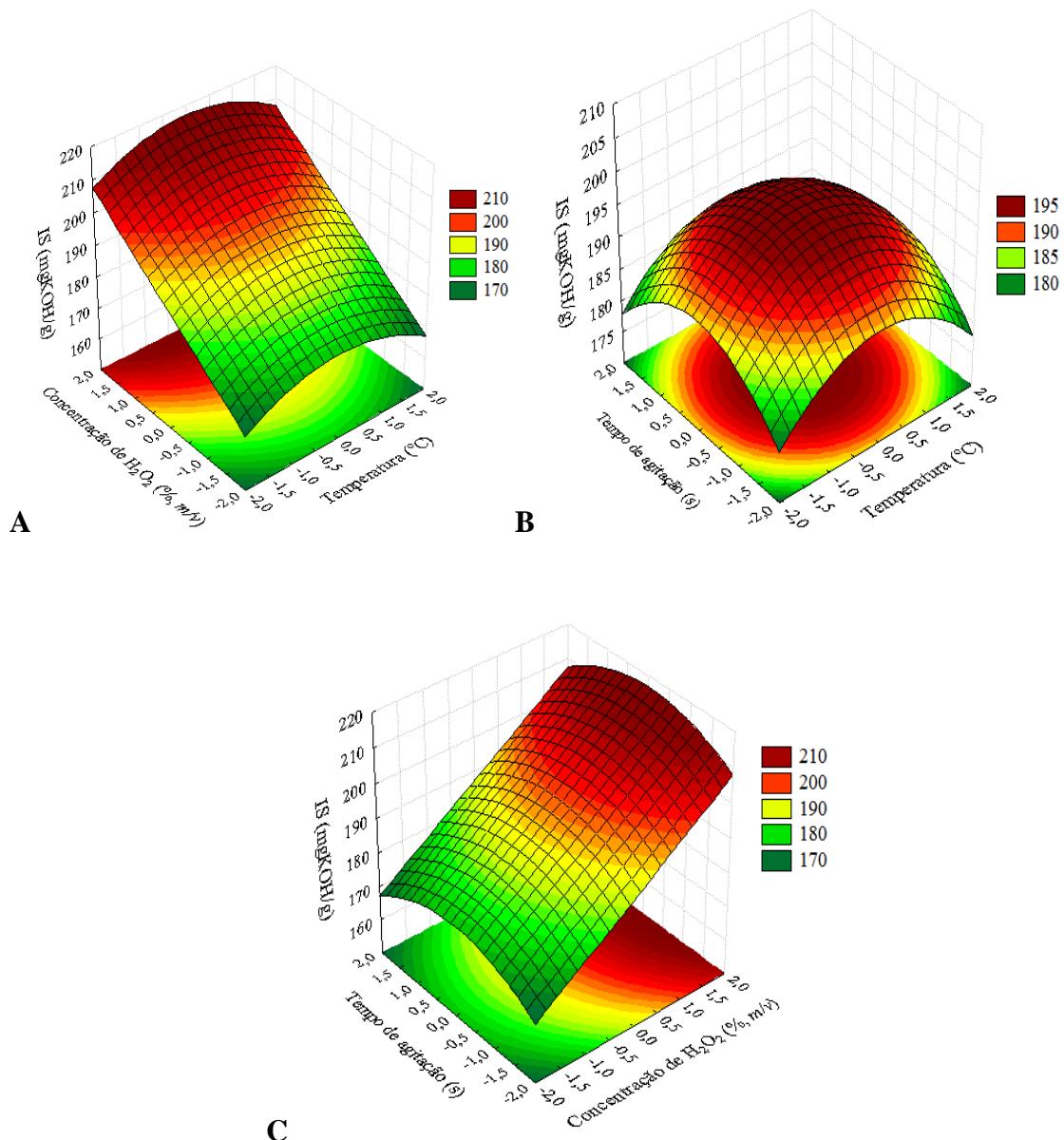
A Equação (32) mostra sob quais parâmetros os efeitos significativos variam em relação ao índice de saponificação.

$$IS = 196,8002 + 10,1301x_2 - 2,3970x_1^2 - 2,3323x_3^2 \quad (32)$$

A Equação (32) descreve as superfícies de respostas para os efeitos significativos, as Figura 4.40 (A, B e C) mostram as superfícies de resposta.

Tabela 4.24: ANOVA dos resultados obtidos do índice de saponificação

I.S.	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p	Efeito	DV
R² 83,59%							
X ² ₁	62,056	1	62,056	3,250	0,091	-4,794	2,747
X ₂	1298,028	1	1298,028	67,981	0,000	20,261	2,539
X ² ₃	58,785	1	58,785	3,079	0,099	-4,665	2,747
Resíduo	326,175	16	20,386				
Total	1745,185	19					

Figura 4.40: Superfícies de respostas A, B e C sobre comportamentos da temperatura, tempo de agitação e concentração de H₂O₂ (m/v) para o índice de saponificação.

A Figura 4.40 A mostra que o índice de saponificação na lecitina clarificada foi maior se maior foi a concentração de peróxido de hidrogênio e à temperatura próxima de 40°C. Na superfície B, tem-se uma condição de máximo índice de saponificação quanto, o tempo de agitação e a temperatura forem iguais aos pontos centrais (320 segundos e 1,5% de H₂O₂, m/v). Já na superfície C, aplicam-se as mesmas considerações apresentadas para tempo de agitação e concentração de peróxido de hidrogênio.

As consistências dos resultados podem se verificadas nos gráficos de resíduos, constantes no Apêndice X.

4.2.4 Resultados do Coeficiente de Extinção Específica

Para se determinar o estado oxidativo de cada lecitina clarificada obtida, foi realizado a metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz, (2008). Verificou-se a diluição pela linearidade da Lei de Lambert-beer através das curvas de calibração, como se verifica na Figura 4.41 (A e B).

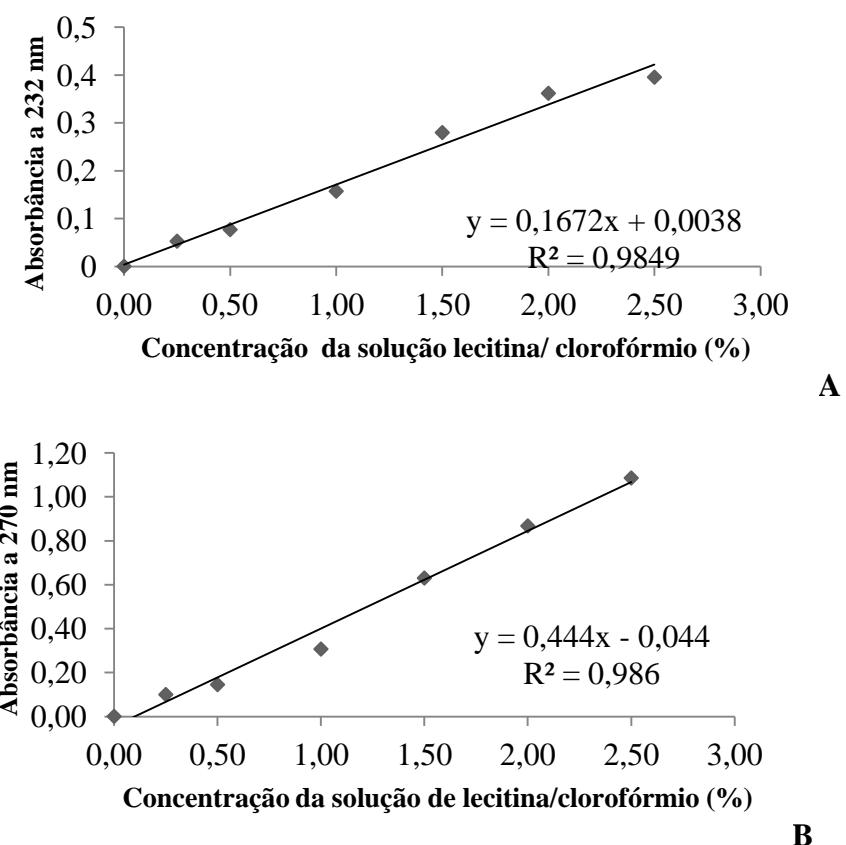


Figura 4.41: Curvas de calibração, A e B para a análise espectrofotométrica dos coeficientes de extinção específica a 232 nm e a 270 nm, respectivamente.

Utilizou-se o clorofórmio como solvente em função da análise preliminar realizada para se determinar o melhor diluente da lecitina de soja, obteve-se por resultados de coeficientes de extinção específica a 232 nm e a 270 nm após aplicação das Equações (24) e (25), os valores da Tabela 4.25.

Tabela 4.25: Resultados em cada experimento dos coeficientes de extinção específica.

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	K₂₃₂	K₂₇₀
1	30	0,70	120	0,8196±0,06	1,6742±0,04
2	30	0,70	520	0,8408±0,04	1,7207±0,02
3	30	2,30	120	0,8909±0,01	1,7486±0,01
4	30	2,30	520	0,8757±0,00	1,7491±0,01
5	50	0,70	120	0,8693±0,02	1,7569±0,02
6	50	0,70	520	0,8899±0,02	1,7462±0,02
7	50	2,30	120	0,8733±0,03	1,7364±0,02
8	50	2,30	520	1,0038±0,03	1,7548±0,03
9	25	1,50	320	0,8881±0,00	1,7389±0,00
10	55	1,50	320	0,8703±0,02	1,7359±0,01
11	40	0,28	320	0,8649±0,00	1,7267±0,00
12	40	2,72	320	1,0128±0,01	1,7631±0,00
13	40	1,50	15	0,9523±0,01	1,7525±0,02
14	40	1,50	625	0,8773±0,01	1,7403±0,01
15	40	1,50	320	0,8383±0,05	1,6968±0,05
16	40	1,50	320	0,7892±0,06	1,6637±0,06
17	40	1,50	320	0,8325±0,06	1,6819±0,05
18	40	1,50	320	0,8485±0,03	1,7188±0,02
19	40	1,50	320	0,8453±0,01	1,7234±0,02
20	40	1,50	320	0,8359±0,01	1,6961±0,01

Com os resultados de K_{232} e K_{270} , calculados foi elaborada a Figura 4.42, na qual se verifica a variação dos valores de coeficiente de extinção específica a 232 nm e 270 nm.

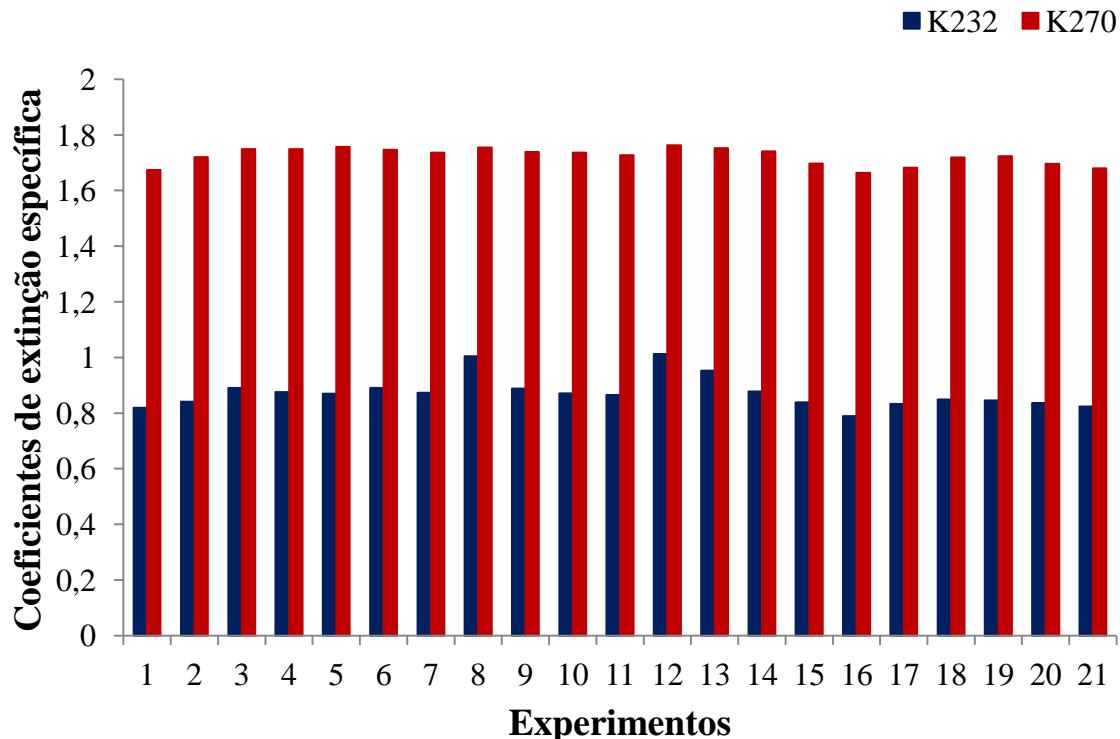


Figura 4.42: Variação dos valores nos coeficientes de extinção específica a 232 nm e 270 nm.

Nota-se na Figura 4.42 que os valores dos coeficientes de extinção a 232 nm foram menores que os determinados a 270 nm, isso se deve à reação de formação de dienos conjugados, iniciadores e propagadores da reação de oxidação de óleos e gorduras, para posterior etapa de finalização com a formação de trienos conjugados, os quais são analisados a 270 nm.

Segundo, Silva, Borges e Ferreira (1999), dentre os diversos métodos disponíveis para a determinação da oxidação de lipídeos, a determinação por espectrofotometria do invisível (UV) se dá a 232 nm pela estimativa das estruturas de dienos conjugados comumente chamados de peróxidos, já as estruturas secundárias da oxidação, como aldeídos, cetonas, hidroxiácidos, hidrocarbonetos e polímeros, possuem absorção máxima a 270 nm. Denomina-se como início da oxidação estruturas determinadas à 232 nm e estruturas finais à oxidação a 270 nm.

Segundo, Ramalho; Suarez, (2013) a teoria dos radicais livres é descrita como mecanismo da auto-oxidação de óleos e gorduras e possui etapas sequenciais de reações com geração de compostos radicalares e estáveis como mostrado na Figura 4.43.

De acordo com Scrimgeour, (2005), a etapa de iniciação ocorre devido à liberação de um hidrogênio do carbono localizado entre as duplas ligações alternadas dos ácidos graxos insaturados. Na etapa de propagação, os radicais livres formados na inicialização, são susceptíveis à reação com oxigênio atmosférico, gerando produtos primários da oxidação, como peróxidos e hidroperóxidos. Na fase de término, os radicais reagem entre si, formando produtos estáveis como epóxidos, cetonas, aldeídos, obtidos pela cisão ou rearranjo dos peróxidos.

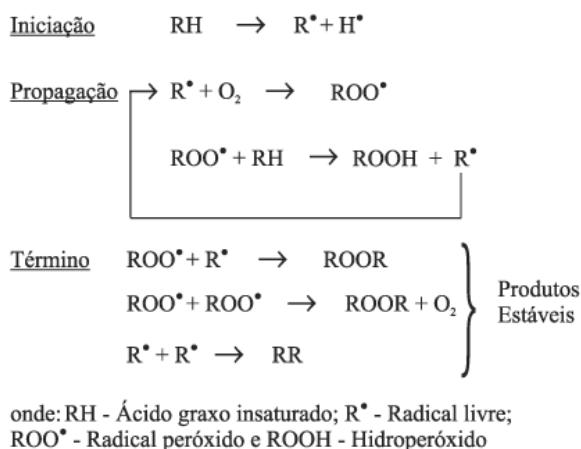


Figura 4.43: Demonstrativo da teoria de radicais livres na oxidação de óleos e produto gerados.

Castejon, (2010) analisou as absorbâncias obtidas a 232 nm e a 270 nm, ao clarificar lecitina de soja com até 2% de peróxido e verificou o mesmo comportamento, em que as quantidades de dienos conjugados foram inferiores às quantidades de trienos conjugados.

Na Figura 4.43, os resultados de K₂₇₀ apresentaram valores similares, decrescem ligeiramente nos Experimentos 1 e 2, elevam-se nos Experimentos 12 e 13 e houve uma oscilação nos resultados dos Experimentos centrais (15 ao 20).

A lecitina de soja apresentou quantidade de compostos secundários de oxidação semelhante aos Experimentos 2 e 16. Para os resultados de K₂₃₂ destacam o Experimento 12 com quantidades elevadas de produtos primários de oxidação, informando que as reações no momento da análise ainda estavam ocorrendo, devido à

maior quantidade de peróxido de hidrogênio que foi adicionado. Na fase de propagação dos radicais livres, as reações em cadeia ocorrem devido à presença de oxigênio atmosférico (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Para se verificar os efeitos do tempo de agitação, temperatura e concentração de peróxido de hidrogênio, realizou-se tratamento estatístico.

Portanto, os parâmetros que mais influenciaram a formação de compostos primários e secundários foram o tempo de agitação e concentração de H₂O₂ e foi verificado a não estabilidade das reações de oxidação, uma vez que a análise foi realizada imediatamente após o processo de clarificação.

CAPÍTULO V – BALANÇO HIDROFÍLICO LIPOFÍLICO

Este capítulo destina-se à verificação da ação emulsificante da lecitina de soja submetida à clarificação.

5.1 Material e Métodos

5.1.1 *Insolúveis em Acetona*

Stopper; Saffer; Bauer (1953) indicam que a fração fosfolipídica da lecitina de soja comercial pode ser separada pela extração com acetona e a análise de insolubilidade em acetona é preliminar, essencial para qualificar a lecitina comercial, que possui cerca de 65% de substâncias polares, como os fosfolipídeos, açúcares, inositol, dentre outros.

A análise se baseia na insolubilidade dos componentes polares da lecitina de soja em acetona. Cerca de 5 g por amostra foram pesadas e solubilizadas em 50 mL de acetona P.A., a solução foi levada para um banho de gelo, onde permaneceram por aproximadamente 1 hora, para ser filtrada e os insolúveis lavados com acetona até que toda a massa de insolúveis tivesse sido trasfegada para um kitassato de vidro poroso, pré pesado. A filtragem ocorreu sob vácuo e posteriormente o material levado a estufa à 80°C, dessecado e então pesado até que se obtivesse peso constante (DIEFFENBACHER; POCKLINGTON, 1992). O conteúdo de insolúveis foi determinado pela Equação (33).

$$IAc\% = \frac{A}{p} \times 100 \quad (33)$$

onde A , é a massa residual pesada após a secagem e p é a massa de lecitina pesada antes da solubilização em acetona e da secagem.

5.1.2 *Classificação Emulsificante da lecitina de soja clarificada*

O BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico) refere-se a uma estimativa do tipo de emulsão em que o emulsificante possui ação. É uma escala de 1 a 20, onde 1 a 6

corresponde a substâncias que estabilizam emulsões do tipo A/O, ou seja, em meio óleo com uma porção de água. Valores de BHL de 6 a 8, os emulsificantes são classificados em anfóteros, ou seja, emulsificam tanto emulsões do tipo A/O como O/A. Por fim, os emulsificantes com BHL de 8 a 20 possuem ação emulsificante em meio água com uma porção de óleo (emulsão O/A). Essas distinções possibilitaram as classificações das lecitinas clarificadas (ARAÚJO, 2011).

Pomeranz, (1991) apresenta três equações de cálculo para se determinar o valor de BHL. No presente trabalho foi utilizada a Equação (34) para se determinar os valores aproximados dos BHLs obtidos nas lecitinas clarificadas e para classificar as lecitinas na escala de emulsão, de 1 a 20.

$$BHL = Hf(\%)/5 = I.Acet.(\%)/5 \quad (34)$$

Onde, Hf (%) é a porção mássica hidrofílica da lecitina de soja, ou seja, polar que corresponde aos teores de insolúveis em acetona, portanto, foram utilizados os valores de *IAC%* no cálculo de BHL.

5.2 Resultados e Discussões

5.2.1 Resultados dos Insolúveis em Acetona

A determinação de insolúveis em acetona possibilita a estimativa da massa molecular dos compostos hidrofílicos que compõem a lecitina de soja, correspondendo aproximadamente à massa molecular média dos fosfolipídeos. Gravimetricamente, foi obtida a massa final seca retida no kitassato, como a quantidade insolúvel em acetona. Na Tabela 5.26, tem-se os resultados percentuais de material retido por experimento.

A empresa Caramuru Alimentos Ltda, informou por laudo técnico que a quantidade de insolúveis em acetona da lecitina comercial foi de 63%, mas a análise foi realizada mostrando que a lecitina de soja comercial utilizada possui cerca de 60% de insolúveis em acetona.

Verificando os insolúveis determinados na lecitina de soja comercial pode-se afirmar que a adição de peróxido de hidrogênio aumentou a fração insolúvel em acetona, como visto em teste preliminar realizado com os solventes hexano, clorofórmio, éter de petróleo e tolueno.

Tabela 5.26: Resultados de Insolúveis em Acetona em cada experimento do planejamento.

Experimentos	X₁ (°C)	X₂ (%)	X₃ (s)	Insolúveis em Acetona (%)
1	30	0,70	120	63,91±0,70
2	30	0,70	520	63,73±0,70
3	30	2,30	120	64,09±0,70
4	30	2,30	520	64,73±0,70
5	50	0,70	120	63,36±0,70
6	50	0,70	520	64,73±0,70
7	50	2,30	120	64,77±1,16
8	50	2,30	520	65,91±0,13
9	25	1,50	320	63,23±1,84
10	55	1,50	320	65,12±0,94
11	40	0,28	320	63,44±1,86
12	40	2,72	320	66,81±1,87
13	40	1,50	15	63,71±0,20
14	40	1,50	625	66,95±1,02
15	40	1,50	320	65,08±0,19
16	40	1,50	320	65,35±0,19
17	40	1,50	320	65,37±0,19
18	40	1,50	320	65,56±0,19
19	40	1,50	320	65,04±0,19
20	40	1,50	320	65,09±0,19
Lecitina	25	0	0	59,94±0,23

Como verificado, a lecitina comercial possui cerca de 60% de insolúveis, o menor valor determinado. O Experimento 8 apresentou o terceiro maior valor de insolubilidade em acetona, que corresponde aos compostos hidrofílicos da lecitina clarificada. Tal resultado é respaldado pelas análises de coeficiente de extinção específica o qual apresentou elevados valores de compostos secundários, finais à oxidação, ou seja, produtos como cetona e aldeídos que contribuem para a hidrofilicidade. Também apresentou índice de saponificação elevado, que refere-se às

cadeias curtas de ácidos graxos esterificados se comparada à lecitina de soja comercial, reforçando a degradação dos ácidos graxos e formação de outros compostos.

Estatisticamente, para verificar, os efeitos significativos e não significativos das variáveis do processo de clarificação sobre os valores de insolúveis em acetona, no Apêndice XI, tem-se o gráfico de Pareto ao nível de 90% de confiabilidade da análise.

Pela ANOVA tem-se a Tabela 5.27, na qual são mostrados os valores dos efeitos significativos, valores menores que $p < 0,10$. Obteve-se coeficiente de regressão igual a 83,59% sendo significativos os efeitos da temperatura na forma quadrática e do tempo de agitação e da concentração de H_2O_2 (m/v) na forma linear.

Tabela 5.27: ANOVA dos resultados obtidos do índice de saponificação

<i>I.Ac. R² 78,03%</i>	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor <i>p</i>	Efeito	DV
X^2_1	3,406	1	3,406	10,854	0,005	-1,123	0,341
X_1	2,123	1	2,123	6,765	0,020	0,819	0,315
X_2	6,259	1	6,259	19,948	0,000	1,407	0,315
X_3	4,934	1	4,934	15,724	0,001	1,249	0,315
Resíduo	4,707	15	0,314				
Total	21,428	19					

A partir dos dados da Tabela 5.27, pode-se escrever a Equação (35), da qual foi possível elaborar as superfícies de respostas (Figura 5.44, A, B e C) que descrevem o comportamento dos insolúveis em acetona com as variáveis independentes.

$$I.Ac. = 65,1535 + 1,4069x_2 + 1,2491x_3 - 1,1227x_1^2 + 0,8193x_1 \quad (35)$$

Observa-se nas superfícies (Figura 5.44, A, B e C) o que descreve a Equação (35), o efeito mais significativo foi da concentração de peróxido de hidrogênio, seguido do tempo de agitação e por fim, da temperatura na forma quadrática e linear. Para a maior insolubilidade em acetona, teve-se maiores tempos de agitação e de concentração, mas temperaturas centrais, em torno de 40°C.

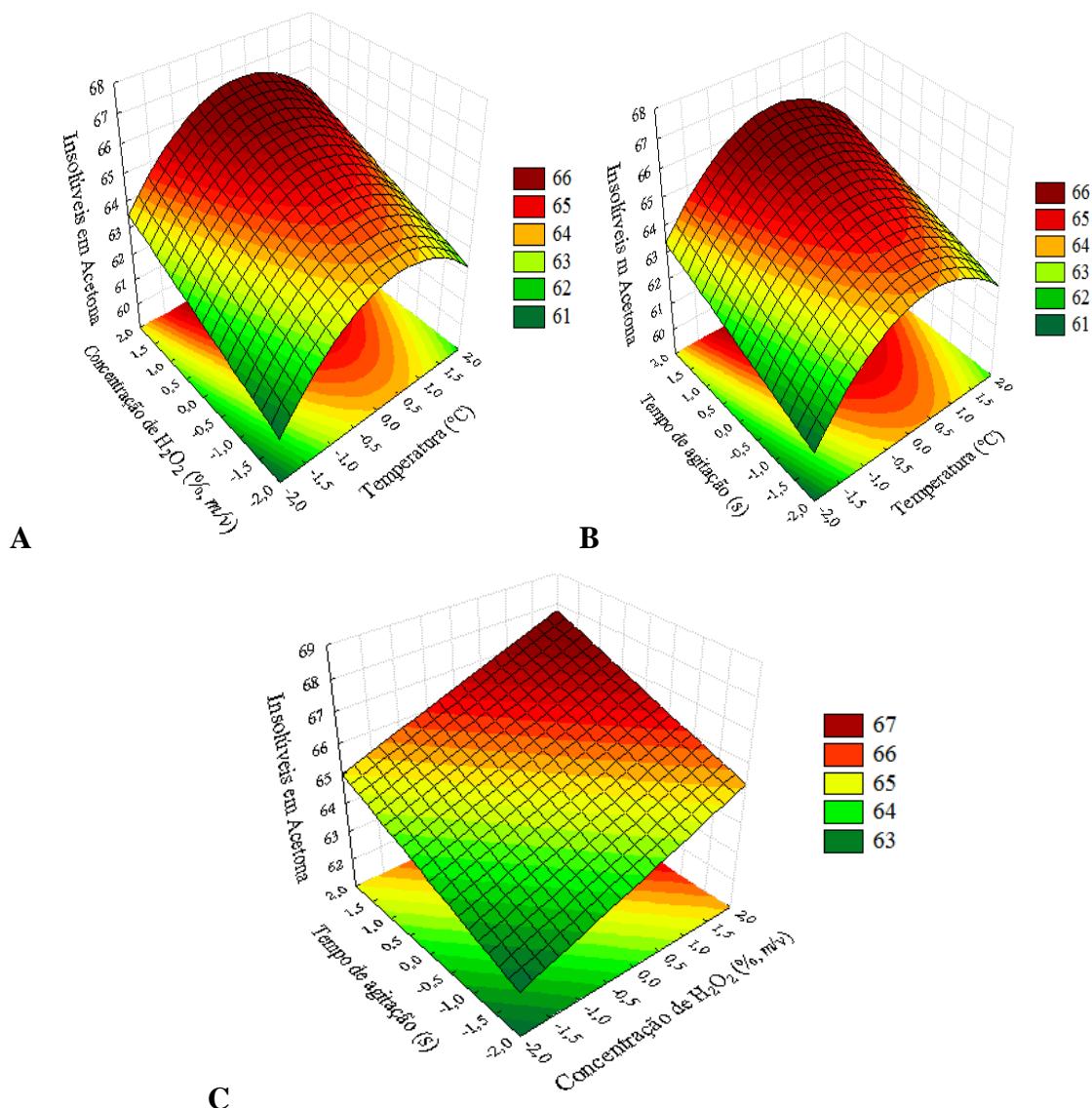


Figura 5.44: Superfícies de resposta (A, B e C) para os resultados de Insolúveis em acetona.

A determinação dos conteúdos de insolúveis em acetona foi importante para se calcular os valores estimados de hidrofilicidade e lipofilicidade para as lecitinas clarificadas.

5.2.2 Resultado da Classificação da lecitina de soja clarificada

Dividindo-se os resultados de insolúveis em acetona por 5, conforme Pomeranz (1991), obteve-se resultados de BHL e assim, foi possível classificá-las quanto à solubilidade ou em O/A (óleo, água) ou A/O (água, óleo), segundo escala do balanço que varia de 1 a 20.

Os resultados e classificações das lecitinas podem ser verificados na Tabela 5.28.

Tabela 5.28: Valores de BHL e classificações quanto à emulsão em cada ponto experimental.

Experimentos	X₁°C	X₂ (%)	X₃ (s)	BHL	Classificação
					Emulsão
1	30	0,70	120	12,782	O/A
2	30	0,70	520	12,746	O/A
3	30	2,30	120	12,818	O/A
4	30	2,30	520	12,946	O/A
5	50	0,70	120	12,672	O/A
6	50	0,70	520	12,946	O/A
7	50	2,30	120	12,954	O/A
8	50	2,30	520	13,180	O/A
9	25	1,50	320	12,646	O/A
10	55	1,50	320	13,024	O/A
11	40	0,28	320	12,688	O/A
12	40	2,72	320	13,362	O/A
13	40	1,50	15	12,742	O/A
14	40	1,50	625	13,390	O/A
15	40	1,50	320	13,016	O/A
16	40	1,50	320	13,070	O/A
17	40	1,50	320	13,074	O/A
18	40	1,50	320	13,112	O/A
19	40	1,50	320	13,008	O/A
20	40	1,50	320	13,018	O/A
Lecitina	25	0	0	11,988	O/A e A/O

Na Tabela 5.28 mostra que a lecitina comercial possui BHL em torno de 12, correspondente a emulsificantes com características anfóteras ou amfifílicas, cuja propriedade é emulsificar soluções O/A e A/O. As demais lecitinas clarificadas

apresentaram BHL superior a 12, sendo classificadas como emulsificantes para O/A, como mostra-se na Figura 5.45.

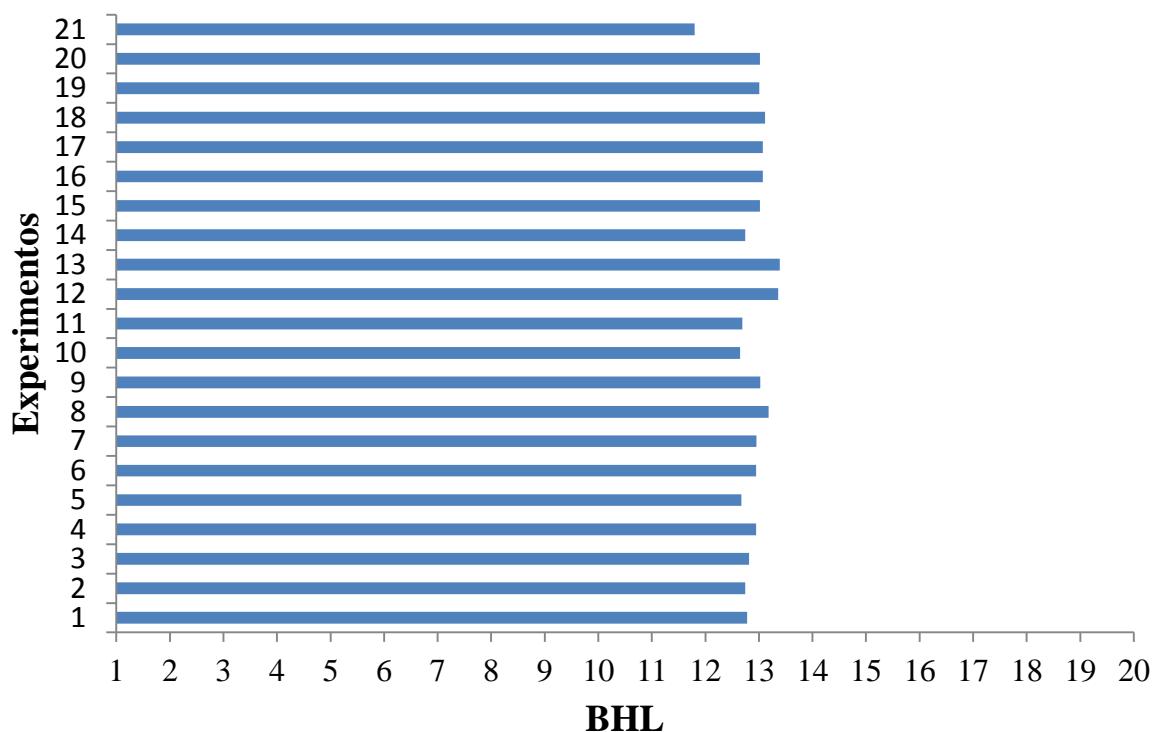


Figura 5.45: Resultados dos cálculos de BHL.

Emulsificantes do tipo O/A possuem a funcionalidade de estabilizar emulsões cuja porção principal seja a água com porções menores de gorduras. São emulsões com essa característica, a maioria dos produtos alimentícios, leites, cafés, milk-shakes, molhos para saladas, achocolatados, sorvetes e cremes, dentre outros. Dessa forma, as lecitinas clarificadas mostraram que podem ser aplicadas nesses alimentos e possuírem efeitos de estabilizante, solubilizante e emulsificante.

CAPÍTULO VI – CARACTERIZAÇÃO DA LECITINA COMERCIAL E CLARIFICADA

Nesse capítulo explora-se as características químicas e reológicas da lecitina de soja comercial doadada pela empresa Caramuru Alimentos Ltda e clarificada com peróxido de hidrogênio 35% (v/v) adicionada de 2,3% (m/v), agitada a 600 ± 20 rpm por 520 segundos e à temperatura de 50°C.

6.1 Material e Métodos

6.1.1 Curvas de escoamento

Determinados os parâmetros de cores, definida a lecitina mais clara (maior valor de luminosidade, L^*), verificadas as degradações de compostos pigmentares associados à etapa de clarificação, analisados as possíveis oxidações (hidrolítica e oxidativa) e classificadas as lecitinas de soja quanto à formação de emulsão, realizou-se a caracterização da lecitina de soja comercial e principalmente da lecitina clarificada, para aplicação no leite em pó e comparação dos resultados.

Inicialmente procedeu-se às análises de caracterização do comportamento reológico e da qualidade lipídica da lecitina de soja comercial, avaliando o perfil lipídico cromatográfico, para se comparar posteriormente à lecitina obtida no processo de clarificação.

A análise reológica do fluido foi efetuada com curvas de escoamento, obtidas laboratorialmente no LabMulti (Laboratório Multiusuário) da Universidade Federal de Goiás (UFG), no equipamento reômetro Physica MCR 101, *spindle* tipo cone-plana de 50 mm de diâmetro e *gap* fixo de 0,1 mm. A análise foi realizada em triplicata à temperatura de 25°C e à temperatura experimental em que foi obtida lecitina clarificada mais clara, descrevendo os dados com varredura linear e logarítmica. A Figura 6.46, mostra o equipamento e a inserção da amostra de lecitina de soja.



Figura 6.46: Reômetro e inserção da amostra no equipamento

Foi realizada a determinação do índice de consistência (k) e índice do comportamento do fluido (n) para as curvas de escoamento da lecitina de soja comercial e clarificada às temperaturas de 25°C e 50°C, segundo modelos matemáticos que descrevem os tipos de fluidos.

De modo geral, a Equação (36) (igual à Equação 4) descreve os comportamentos de fluidos, onde τ é a tensão de cisalhamento, k é o índice de consistência, γ é a taxa de deformação do fluido e n é o índice de comportamento do fluido (SILVA, 2008).

$$\tau = k\gamma^n \quad (36)$$

Determinando-se o valor de n pode-se determinar o comportamento do fluido e classificá-lo. Sabe-se que para $n=1$, tem-se fluido newtoniano, no qual a viscosidade independe da taxa de deformação (γ). Se n for maior que 1, o fluido é denominado de pseudoplástico, o qual a viscosidade aparente diminui com a taxa de deformação e se n for menor que 1, o fluido é denominado de dilatante, onde a viscosidade aparente aumenta com o aumento na taxa de deformação (SILVA, 2008).

6.1.2 Perfil de ácidos graxos

A análise qualitativa de perfil de ácidos graxos da lecitina comercial foi completa e realizada no laboratório de físico-química do Centro de Pesquisas em Alimentos (CPA) da Universidade Federal de Goiás (UFG), em Cromatógrafo Gasoso (CG) da marca Thermo Focus, coluna RESTEK RT2560 de 100 m e de diâmetro

interno de 0,2 μm . O diluente foi hexano P.A. próprio para cromatografia e os padrões utilizados para determinação dos ácidos graxos foram adquiridos da empresa *Sigma Aldrich*.

Os resultados foram tabelados para a lecitina comercial, designada de LC e da lecitina clarificada, mais clara, denominada de LCL.

6.2 Resultados e Discussões

6.2.1 Resultados de escoamento

As análises de escoamento foram realizadas em triplicata para a lecitina de soja comercial e para a lecitina clarificada que apresentou maior luminosidade, o Experimento 8, cujas condições de operação foram, temperatura de 50°C, tempo de agitação à rotação constante de 520 segundos e concentração adicionada de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) de 2,3% (m/v).

Os resultados obtidos da taxa de deformação (s^{-1}) pela tensão de cisalhamento (Pa) foram plotados em escala linear e logarítmica. A Figura 6.47 mostra o comportamento da lecitina de soja comercial e clarificada, à 25°C em escala linear.

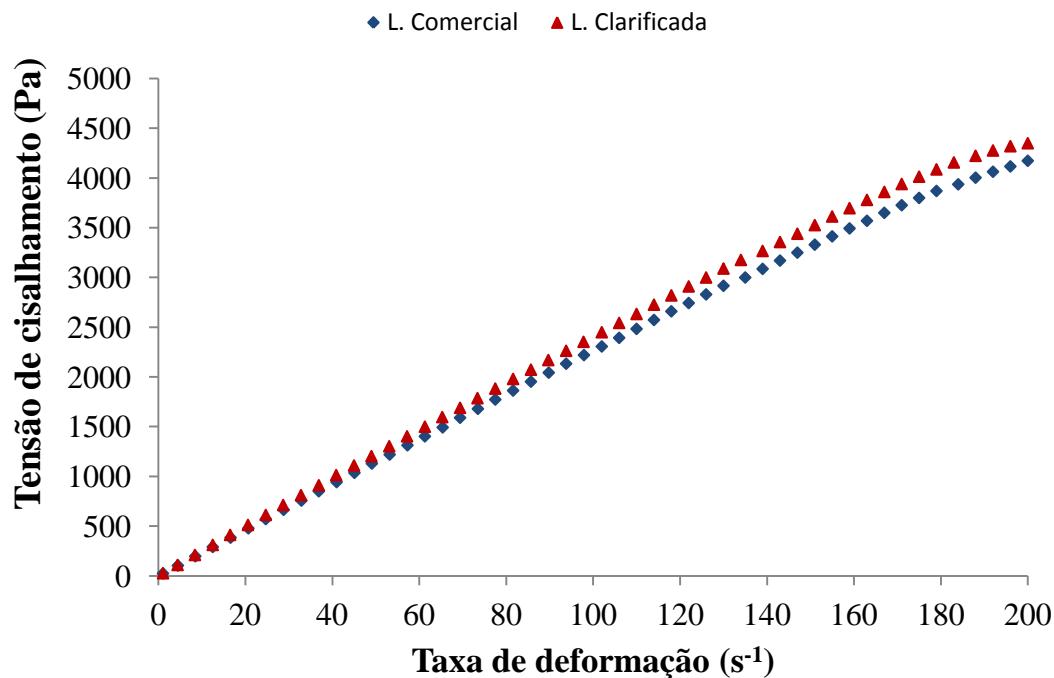


Figura 6.47: Resultado linear de escoamento da lecitina de soja comercial e clarificada a 25°C.

Observando-se a Figura 6.47, observa-se que a lecitina clarificada possuiu tensão de cisalhamento maior que a lecitina de soja comercial a partir de 60 s^{-1} da taxa de deformação.

Na Figura 4.48 tem-se a viscosidade aparente (Pa.s) pela taxa de deformação da lecitina de soja comercial e da clarificada. Observa-se que a lecitina de soja clarificada possui viscosidade aparente um pouco maior, inicialmente, mas depois as viscosidades ficam iguais e continuam a decrescer.

De acordo com a ciência que estuda o comportamento dos fluidos, a reologia, são denominados de fluidos, os gases e líquidos, que sob uma condição escoam apresentando deformações e tensões de cisalhamento, a uma dada viscosidade ou característica do fluido. A cada escoamento e tipo de fluido, tem-se um comportamento, que matematicamente pode ser descrito por equações (STEFFE, 1996).

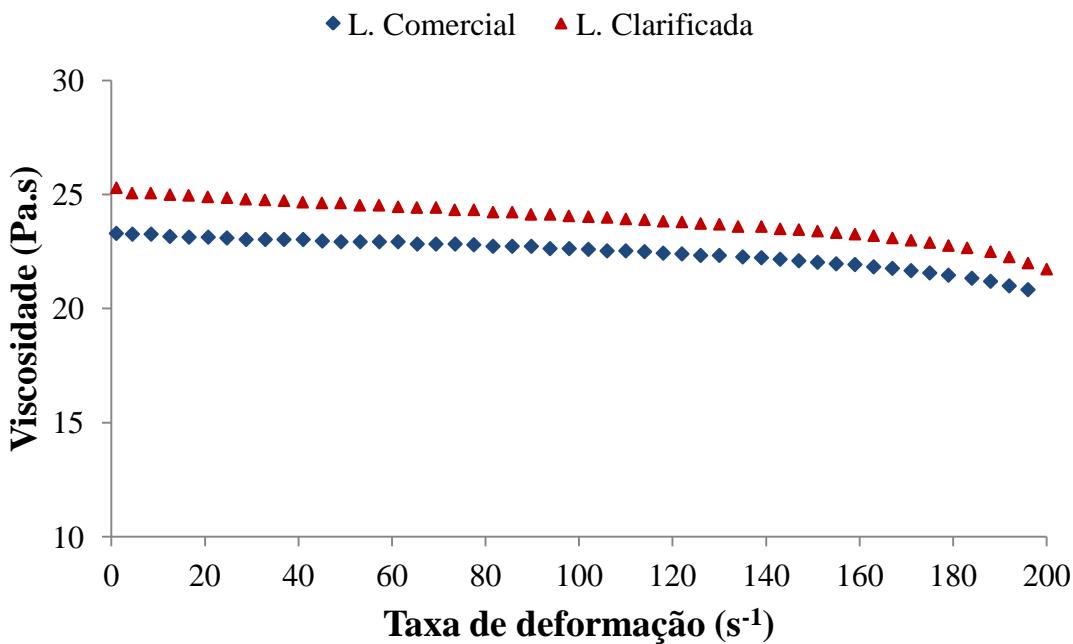


Figura 6.48: Viscosidades pelas taxas de deformação da lecitina de soja comercial e clarificada.

Utilizando-se a Equação (4) ou (36) e no software *Statistica* com 95% de confiabilidade, determinou-se o índice de consistência (k) e o índice de comportamento (n) dos fluidos, observando-se o coeficiente de correlação, como mostrado na Tabela 6.29.

Tabela 6.29: Valores dos índices de comportamento (n) e consistência da lecitina comercial e clarificada à 25°C.

	n	k (Pa.s)	R^2 (%)
Lecitina comercial	0,93	30,72	99,96
Lecitina clarificada	0,92	34,38	99,94

Observando-se os valores obtidos para os índices de comportamento, tem-se que os fluidos, a lecitina comercial e clarificada à 25°C, apresentaram comportamentos de fluidos pseudoplásticos.

Züge, (2012) ao verificar a tensão de cisalhamento de emulsões com percentuais diferentes de lecitina de soja e calcular os índices de comportamento e consistência pelo ajuste da Lei da Potência e modelo de Herschel-Bulkley, notou comportamento de fluido pseudoplástico à 25°C.

Novas curvas de escoamentos foram realizadas à temperatura de 50°C, correspondendo à temperatura de clarificação da lecitina de soja no Experimento 8. A Figura 6.49 foram plotadas as tensões de cisalhamento pela taxa de deformação para a lecitina de soja comercial e clarificada.

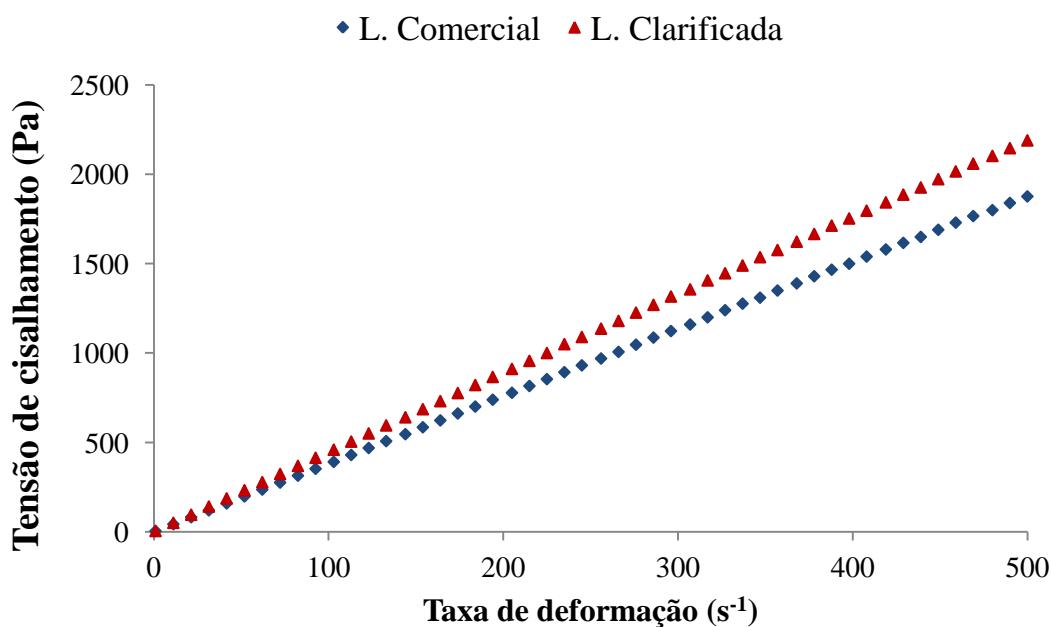


Figura 6.49: Resultados da viscosidade aparente da lecitina de soja comercial e clarificada.

Observa-se que à 50°C, a lecitina clarificada apresentou tensão de cisalhamento maior que da lecitina de soja comercial, mas inicialmente iguais.

Na Figura 6.50 foram plotados os resultados da viscosidade em relação à taxa de cisalhamento da lecitina comercial e clarificada à 50°C. Observa-se que a viscosidade da lecitina clarificada foi maior que a viscosidade da lecitina comercial.

No trabalho de Bhattacharya et al., (1998), os quais adicionaram 3% de lecitina em óleo e 3% de lecitina em água, com concentrações diferentes dos meios dispersantes, verificaram a tendência da lecitina dispersa em óleo apresentar comportamento de fluido newtoniano.

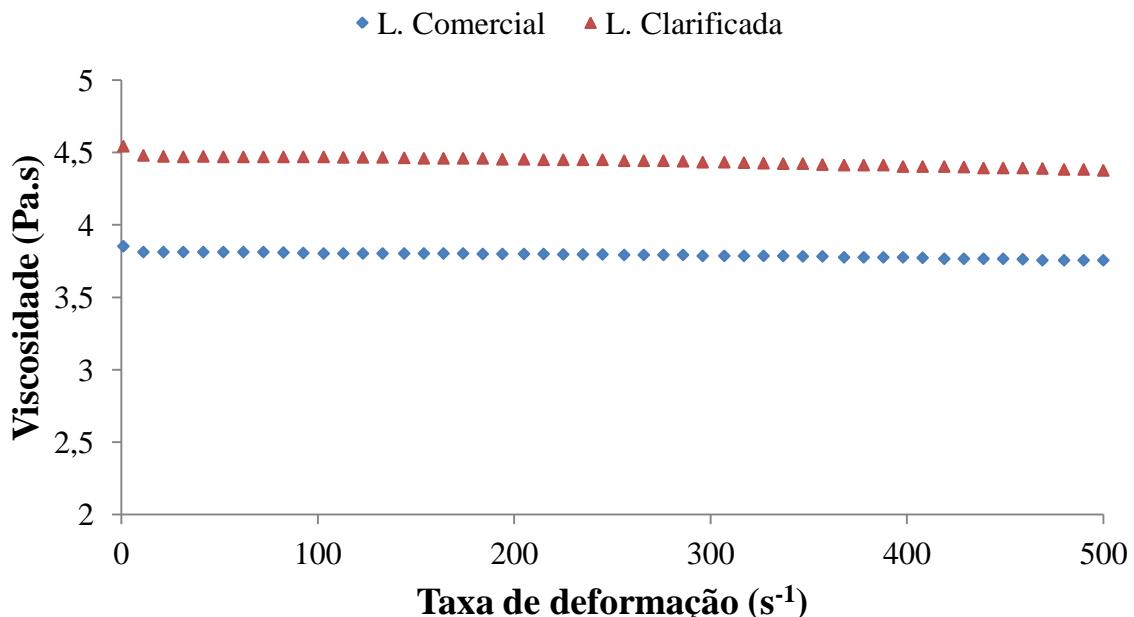


Figura 6.50: Resultados de viscosidade aparente da lecitina comercial e clarificada à 50°C.

Observando-se os resultados da Figura 6.50, a viscosidade da lecitina clarificada foi maior que a viscosidade da lecitina de soja comercial. Comparando-se os resultados da Figura 6.49 com os da Figura 6.50, nota-se que as viscosidades à 50°C são inferiores do que à 25°C.

Utilizando-se a Equação (4) ou (36) e com 95% de confiabilidade, determinou-se o índice de consistência (k) e o índice de comportamento (n) dos fluidos, observando-se o coeficiente de correlação, como mostrado na Tabela 6.30.

Tabela 6.30: Valores dos índices de comportamento (n) e consistência da lecitina comercial e clarificada à 25°C.

	n	k (Pa.s)	R^2 (%)
Lecitina comercial	1	4,02	99,99
Lecitina clarificada	1	4,84	99,99

Pelos valores obtidos do índice de comportamento (n) a lecitina comercial e clarificada à 50°C mostrou comportamento de fluido newtoniano, portanto, o aumento da temperatura modificou o comportamento de escoamento da lecitina clarificada e comercial.

Kjellin; Johansson, (2010) afirmaram que geralmente a lecitina de soja apresenta comportamento de fluido newtoniano, mas não especificaram a que temperatura haveria esse comportamento.

6.2.2 Resultados do perfil de ácidos graxos

A lecitina de soja comercial foi analisada em cromatógrafo gasoso (CG) no laboratório do Centro de Pesquisas em Alimentos (CPA) da Universidade Federal de Goiás (UFG), para verificação da composição quanto aos ácidos graxos que a lecitina de soja comercial contém e também para a verificação do percentual corresponde o conteúdo de óleo de soja adicionado na padronização comercial da lecitina, considerando que em cada molécula de fosfolipídeo há dois ácidos graxos e pelo menos um seja insaturado (RIBEIRO; SERAVALLI, 2007).

Os resultados cromatográficos foram transferidos para tabelas com valores correspondentes às espécies de ácidos graxos, nas unidades de g/100 g e mg/g. Usualmente, usa-se o percentil para representar as quantidades dos ácidos graxos que compõem a matéria prima oleosa. Na Tabela 35, tem-se os percentuais correspondentes à fração lipídica que compõem a lecitina de soja comercial e lecitina clarificada, Experimento 8.

Tabela 6.31: Composição percentual de ácidos graxos que compõem a lecitina de soja comercial e clarificada.

Fração lipídica	Percentual	
	Lecitina comercial	Lecitina clarificada
Gordura Monoinsaturada	10,101	8,606
Gordura Poliinsaturada	30,601	26,298
Gorduras Saturadas	12,191	10,178
Gorduras Trans	0,048	0,038
Fração Diversa	47,059	54,880

A Tabela 6.31 indica que a lecitina comercial possui maior fração lipídica do que a lecitina clarificada. A etapa de clarificação realizado à temperatura de 50°C, tempo de agitação de 520 segundos à 600±20 rpm e adição de 2,3% (m/v) de H₂O₂ provocou uma diminuição em toda a fração lipídica inicial, aproximadamente 14% menos no teor de gorduras monoinsaturadas, de gorduras poliinsaturadas, de gorduras saturadas e cerca de 20,8% na quantidade de gorduras *trans*.

Pôde-se observar, pelos resultados da Tabela 6.31, que o percentual correspondente a outras substâncias (fração diversa), aumentou após o processo de clarificação, ou seja, outras substâncias que não são ácidos graxos surgiram após a clarificação.

Os percentuais de gorduras *trans* correspondem a valores menores que 0,5 g/100 g e, portanto, pela lei RDC n. 360 (BRASIL, 2003) nos rótulos alimentícios, os produtos seriam rotulados como “0% de gorduras *trans*”. Segundo, ANDERSON, (2005) os teores de gorduras *trans* são resquícios do processo de extração e degomagem que ocorrem à temperaturas superiores a 70°C.

Quanto às demais gorduras, a redução nos teores de gorduras monoinsaturadas e poliinsaturadas decorre das reações de oxidação de lipídeos, rancidez oxidativa, que por diversos mecanismos de quebras das duplas ligações e geração de radicais livres, reduzem as quantidade de ácidos graxos insaturados, mas sobretudo, se saturados e ainda com radicais livres podem ocorrer quebras formado compostos secundários, de baixo peso molecular (SILVA et al., 1999). Os perfis de ácidos graxos de cada lecitina podem ser verificados na Tabela 6.32.

Tabela 6.32: Perfil de ácidos graxos que compõem a lecitina comercial e lecitina clarificada.

Ácidos Graxos		Lecitina comercial (%)	Lecitina clarificada (%)
Designação Usual	Notação simplificada		
Ácido butanoico	C4:0	0,000	0,102
Ácido hendecanóico	C11:0	0,000	0,005
Ácido láurico	C12:0	0,003	0,006
Ácido mirístico	C14:0	0,049	0,000
Ácido miristoléico	C14:1 N5	0,000	0,072
Ácido pentadecanóico	C15:0	0,024	0,019
Ácido cis 10 pentadecaenóico	C15:1 N3	0,015	0,000
Ácido palmítico	C16:0	9,531	7,955
Ácido palmitoléico	C16:1 N7	0,047	0,044
Ácido palmitoléico	C16:1 T9	0,009	0,005
Ácido heptadecanóico	C17:0	0,058	0,059
Ácido cis 10 heptadecaenóico	C17:1 N7	0,022	0,020
Ácido esteárico	C18:0	1,983	1,697
Ácido oleico	C18:1 C N9	9,921	8,384
Ácido elaídico	C18:1 T N9	0,000	0,006
Ácido linoleico	C18:2 C N6	27,807	23,855
Ácido linoleaídico	C18:2 T N6	0,039	0,028
Ácido α -linolênico	C18:3 N3	2,751	2,369
Ácido γ -linolênico	C18:3 N6	0,019	0,019
Ácido araquídico	C20:0	0,128	0,011
Ácido cis 11 eicosenóico	C20:1 N9	0,078	0,000
Ácido cis 11, 14 eicosadienoíco	C20:2	0,015	0,013
Ácido araquidônico	C20:4 N6	0,000	0,005
Ácido cis 5, 8, 11, 14, 17 eicosapentaenóico (EPA)	C20:5 N3	0,000	0,005
Ácido heneicosanóico	C21:0	0,021	0,018
Ácido behênico	C22:0	0,221	0,171
Ácido cis 13, 16 docosadienoíco	C22:2 N6	0,000	0,009
Ácido cis 4,7,13,16,19-docosa-hexaenóico (DHA)	C22:6 N3	0,015	0,009
Ácido tricosanóico	C23:0	0,058	0,044
Ácido lignocérico	C24:0	0,114	0,091
Ácido nervônico	C24:1 N9	0,010	0,010

Na Tabela 6.32, a notação simplificada, C corresponde à quantidade de carbono seguido de numeração. Depois da pontuação (dois pontos) segue-se a numeração das duplas ligações ou se não há (valor 0) e quando há duplas ligações, o N corresponde à localização da dupla ligação *cis* e caso a dupla ligação seja *trans* a notação N passa a ser T.

Observando os resultados cromatográficos da Tabela 6.32, podem ser identificados ácidos graxos que ora existem na lecitina comercial e ora não existem na lecitina clarificada e vice-versa. As designações usuais listadas foram transcritas de acordo com as notações de Souza; Matsuhita; Visentainer, (1998).

São ácidos graxos saturados identificados na lecitina comercial e na lecitina clarificada, o ácido butanóico, hendecanóico, láurico, mirístico, pentadecílico, palmítico, margárico, esteárico, araquídico, heneicosanóico, behênico, tricosanóico e lignóico. Somados os percentuais, correspondem a 12,19% na lecitina comercial e a 10,159% na lecitina clarificada, portanto houve uma redução no conteúdo de ácidos graxos (Tabela 6.32).

Pela interpretação nutricional, Souza; Matsuhita; Visentainer, (1998) afirmaram que os ácidos graxos saturados contribuem para aumentar o colesterol sanguíneo, mas que o ácido graxo esteárico quase não participa desse balanço bioquímico, pois no organismo pode ser transformado em ácido graxo insaturado da família ω 9. Portanto, a etapa de clarificação, à temperatura de 50°C, adição de H₂O₂ de 2,3% (m/v) e tempo de agitação constante de 520 segundos, diminuiu a quantidade de ácidos graxos saturados.

Damodaran; Parkin; Fennema, (2010) descrevem diversos tipos de produtos secundários oriundos da oxidação de lipídios insaturados, como compostos voláteis, aldeídos, cetonas e lipídeos de baixo valor calórico, como o ácido butanóico ou butírico, obtido na lecitina clarificada. Singhal *et al.*, (1997) afirmaram em sua obra que a oxidação com peróxido de hidrogênio é relativamente estável, os hidroperóxidos formados de lipídeos insaturados se decompõem em carnobilas de baixo peso molecular.

Os ácidos graxos insaturados obtidos por Cromatografia Gasosa (CG) são: o miristoléico, pentadecenóico, palmitoléico, heptadecenóico, oléico, linoléico, α e γ linolênico, eicosadienóico, araquidônico, eicosapentaenóico (EPA), docosa-hexaenóico (DHA) e nervônico. A soma de todos os ácidos graxos insaturados na lecitina de soja

corresponde a 40,733%, sendo o ácido graxo linoléico a maior fração. Já na lecitina de soja clarificada, a fração lipídica insaturada corresponde a 34,844%, a maior fração de ácido linoléico, mas menor do que da lecitina comercial. Entretanto, atenção deve ser dada a ácidos graxos insaturados que não haviam na lecitina comercial como, por exemplo, docosadienoíco, eicosapentanóico (EPA), araquidônico e miristoléico.

O ácido graxo docosadienoíco pertence à família dos ω 6 e o EPA (eicosapentaenoico) da família dos ω 3. Martin *et al.* (2006) revisaram trabalhos sobre o metabolismo e doenças associadas a alimentação de ácidos graxos de cadeia longa insaturados denominados de PUFAs e concluíram que a necessidade de ingestão de ácidos graxos da família ω 6 e ω 3 é essencial à manutenção do organismo, pois não são metabolizados propriamente dito e participam de vias metabólicas importantes, mas o excesso da ingestão pode ser associado a disfunções e doenças. Na Figura 6.51 são apresentadas as estruturas dos ácidos graxos insaturados (PUFAs).

De modo geral, não houveram variações significativas no conteúdo de ácidos graxos da lecitina de soja clarificada em função do processamento se comparada à lecitina comercial, cerca de 9%, pois se houve a diminuição na quantidade de alguns ácidos graxos insaturados, outros foram formados, devido à série de clivagens ou β -clivagens dos hidroperóxidos Damodaran; Parkin; Fennema, (2010) em detrimento à formação de outros compostos secundários da oxidação.

Na porção lipídica (triglicerídeos), após etapa de clarificação ainda restou-se ácidos graxos insaturados, mostrando que a lecitina não foi hidrolisada. Mas, essas variações em ácidos graxos contribuíram de forma significativa para a porção hidrofílica, já analisada pelos conteúdos de insolúveis em acetona, de solubilidade em solventes e por fim, atribuiu característica de emulsificante O/A.

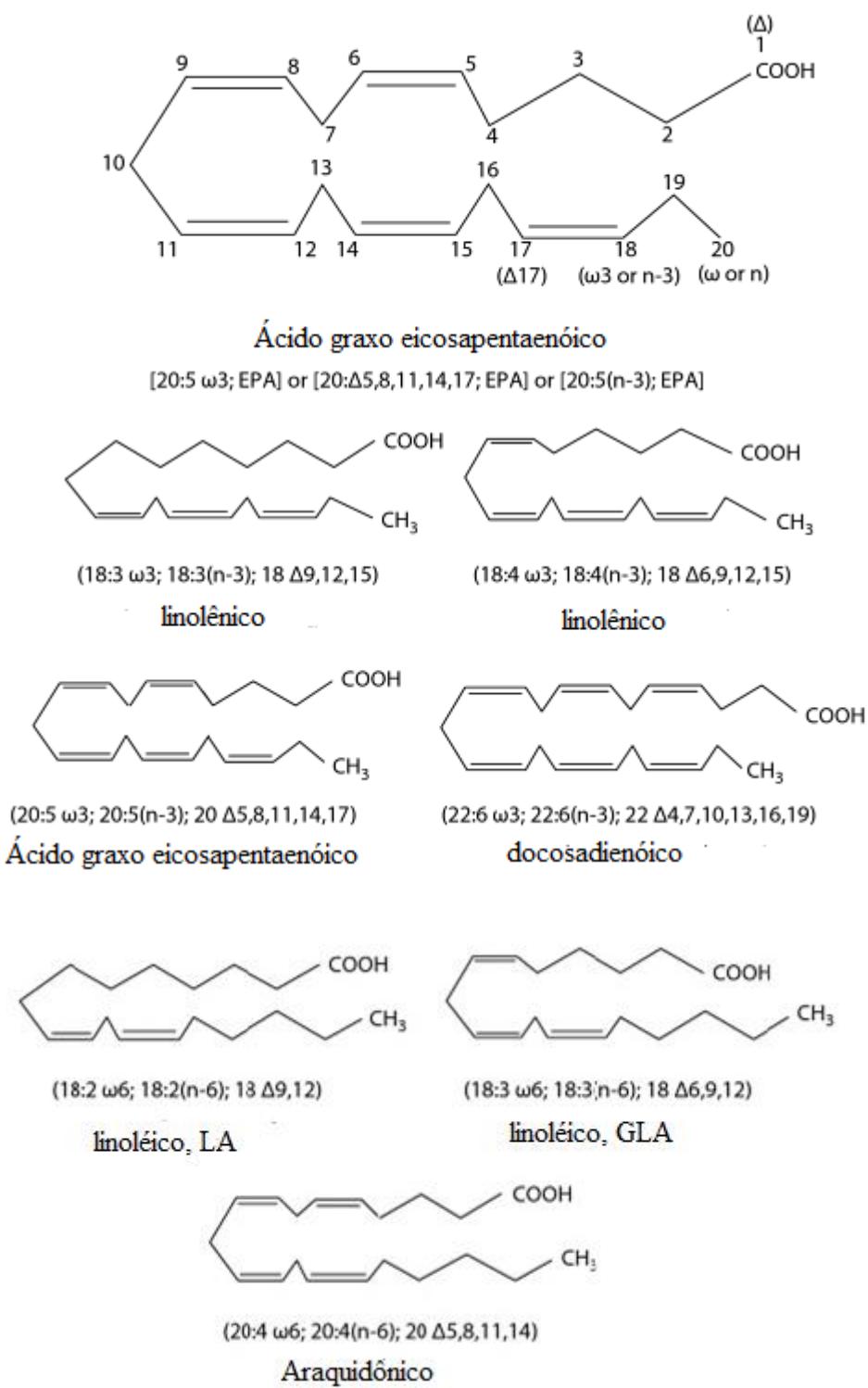


Figura 6.51: Estruturas moleculares dos ácidos graxos insaturados que compõem a lecitina de soja comercial e clarificada.

Fonte: POKORNY; SCHMIDT, (2011).

CAPÍTULO VII – APLICAÇÃO DA LECITINA

Nesse capítulo intencionou-se a aplicabilidade da lecitina de soja clarificada em comparação com a lecitina de soja comercial a fim de verificar seu efeito.

7.1 Material e Métodos

A lecitina de soja tem sido bastante utilizada na instantaneização de produtos em pó para a melhor dispersão desses alimentos em água. Portanto, com a finalidade de se verificar a aplicabilidade da lecitina de soja clarificada foi realizada a lecitinação do leite integral tipo UHT, segundo metodologia modificada de Fonseca *et al.*, (2011), pois não foi realizada a concentração do leite até 40% de sólidos conforme indicação do pesquisador.

O teor de umidade do leite UHT foi quantificado em equipamento por infravermelho (marca Gehaka IV 2500), em duplicata.

Foram pesadas as quantidades de lecitina clarificada, mais clara (maior valor de luminosidade, L^*) e da lecitina comercial na proporção de 0,0% (controle); 0,4%; 0,8% e 1,0%, em base seca, para cada 1 litro de leite.

Adicionadas as lecitinas nos leites, colocou-se cada bêquer no mesmo agitador elétrico da Nova Instrumentos NI 1137 e impulsor de placa de aço inoxidável com 4 orifícios, utilizado para a etapa de clarificação e verificada a rotação com o tacômetro, Shimpo DT205B laser. A mistura foi realizada à temperatura ambiente, por 20 minutos e rotação de 600 ± 20 rpm (Figura 7.52).

As amostras de leite fluido lecitinado foram armazenadas em garrafas de vidro de 1L, previamente higienizadas e sanitizadas. Para o congelamento, as amostras foram colocadas em recipientes de alumínio e congeladas com nitrogênio líquido conforme mostra a Figura 7.53. Foram gastos cerca de 400 mL de nitrogênio para cada 100 g de amostra.



Figura 7.52: Etapa de lecitinação.

O nitrogênio líquido foi adquirido no comércio local e devidamente armazenado em galão específico. A temperatura do nitrogênio líquido é de cerca de -196°C e a do leite, em se tratando de material biológico complexo a depender do teor de sólidos solúveis é de -0,5°C (FINZER, 2002).



Figura 7.53: Amostras no momento que estavam sendo congeladas com nitrogênio líquido.

As amostras foram dispostas na câmara do liofilizador LS3000 Terroni, do Instituto de Química da UFU, por cerca de 7 horas até que estivessem secas. O sistema de liofilização

foi mantido à pressão de aproximadamente 400 mmHg e temperatura interna de -38°C, ao longo da etapa, como exemplificado na Figura 7.54.



Figura 7.54: Liofilizador LS3000 – Terroni com amostras congeladas por nitrogênio líquido.

As amostras secas de leite foram armazenadas em potes plásticos, opacos e hermeticamente fechados para transporte e vedados até análises de molhabilidade, solubilidade e cor. Antes das análises de cor, molhabilidade e solubilidade. Posterior à verificação da secagem, as amostras foram maceradas em almofafiz de porcelana e peneiradas em peneira domestica com malha de 0,2 mm, para ter-se um pó de granulometria homogênea, conforme a Figura 7.55.



Figura 7.55: Peneiramento e maceração do leite em pó para granulometria uniforme.

7.1.1 Análise de cor do leite em pó

A análise de cor foi realizada no laboratório do IFTM, Campus Uberlândia, no colorímetro Cromameter Konica Minolta CR 400, calibrado com placa de porcelana branca e iluminante D65, em triplicata. Os resultados foram comparados e analisados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA), seguido do teste de diferença entre as médias, teste de Tukey, ao nível de confiabilidade de 95%.

7.1.2 Molhabilidade

No teste de molhabilidade foram testadas as amostras de leite em pó lecitinados com concentrações distintas de lecitina clarificada mais clara e lecitina de soja comercial.

O teste de molhabilidade foi realizado segundo metodologia descrita por Vissotto, (2014) com modificações, pois ao invés de se usar 2 g de amostra foram utilizados 0,5 g do leite em pó lecitinado em 100 mL de água destilada. O aparato utilizado não foi de acrílico como utilizado por Vissotto *et al.* (2006), mas de vidro como utilizado por Hammes, (2013), Figura 7.56. O recipiente de vidro possui área inferior e transversal de 25 cm², uma lâmina de vidro (alçapão) localizada no centro do aparato e tampa de vidro na parte superior.

O teste foi realizado em quadruplicata, estabelecendo-se um tempo máximo de 15 minutos cronometrados após ser acionado o alçapão para queda das amostras em água. Após o tempo de 15 minutos, utilizando uma lupa, eram contados a quantidade de flocos que permaneciam sobre a água destilada, sem se molharem.

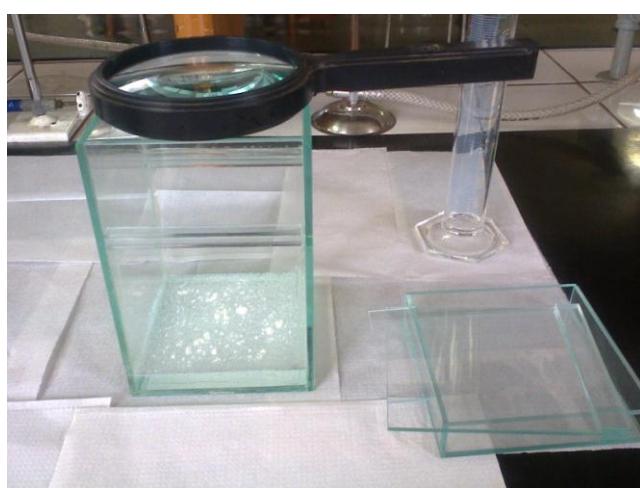


Figura 7.56: Caixa de vidro, com corte central para lâmina de vidro, tipo alçapão e lupa na parte superior.

7.1.3 Solubilidade

O procedimento do teste foi adaptado a partir da metodologia de Vissotto, (2014). Pesou-se 1 g de leite em pó para 10 mL de água destilada. As amostras foram diluídas em água no agitador elétrico Nova Instrumento NI 1137, com impulsor de placa em aço inoxidável, com 4 orifícios, a 300 ± 20 rpm, medidos com tacômetro da marca Shimpo DT205B, por 20 segundos, como descrito por Vissotto *et al.*, (2006).

As amostras diluídas foram filtradas em filtros de papel, previamente pesados e depois da filtração, os filtros foram mantidos em estufa a 105°C, até que atingissem massa constante. Obteve-se por resultado a massa retida no papel filtro, quantificada pela Equação (37).

$$\% \text{ solubilidade} = [(Pff - Pf) / Pa] 100 \quad (37)$$

onde, Pff corresponde à massa final com o filtro, Pf à massa do filtro sem partículas e Pa é a massa da amostra de leite usada na diluição.

7.1.4 Morfologia e imagem dos leites em pó

A análise morfológica foi realizada utilizando-se microscópio estereoscópio Edulab WF, papel milimetrado colocada na parte superior da placa de petri. Foram colocados aproximadamente 0,1 g em cada placa de petri devidamente identificada. As imagens foram obtidas com câmera digital de 16 megapixels e foram inseridas escalas pela edição das imagens.

Todos os procedimentos analíticos descritos foram realizados com rigor analítico e os resultados obtidos verificados no capítulo IV.

7.2 Resultados e Discussões

A etapa de lecitinação consistiu em adicionar a lecitina de soja comercial e a lecitina clarificada, do Experimento 8, temperatura de clarificação foi de 50°C, adição de 2,3% (m/v)

de peróxido de hidrogênio e tempo de agitação à rotação de 600 ± 20 rpm de 520 segundos, em 100 g de lecitina comercial, no qual se teve a maior luminosidade.

Antes de realizar-se a lecitinação propriamente dita, foi realizada a determinação do teor de umidade em equipamento de infravermelho Gehaka IV 2500, em duplicata. O valor de umidade encontrado foi de $88,90\pm0,00$ correspondendo a cerca de $11,10\pm0,21\%$ de sólidos contidos no leite integral UHT (Ultra Alta Temperatura) da marca Itambé. Também foi realizada análise de cor do leite fluido.

Em 1L de leite, foram adicionados 0,0%, 0,4%, 0,8% e 1,0% em base seca, segundo Bento *et al.*, 2003, de lecitina comercial (LC) e as mesmas concentrações na lecitina de soja clarificada mais clara obtida (LCL).

Após as etapas de lecitinação e liofilização, as amostras foram aquecidas à 60°C, até obtenção de peso constante e armazenadas até a realização das análises de cor, molhabilidade, insolubilidade e micrografia.

7.2.1 Resultados da Análise de Cor

A análise de cor foi realizada com colorímetro Cromameter Konica Minolta CR 400, calibrado com placa de porcelana branca e iluminante D65, no período da tarde, em dia ensolarado, mantendo-se a distância do equipamento de 2 cm da superfície da amostra. As amostras identificadas foram colocadas em copos plásticos descartáveis, uma a uma para a determinação da cor. Os resultados podem ser verificados na Tabela 7.33.

Observa-se na Tabela 7.33 que os resultados dos parâmetros de cor nos leites lecitinados foram maiores que do leite em pó sem lecitina, exceto pela tonalidade. A adição de lecitina tornou o leite em pó mais claro e mais claro ficaram os leites lecitinados com a lecitina de soja clarificada. E, quanto maior foi a quantidade de lecitina clarificada adicionada maior foi a luminosidade.

Com relação ao parâmetro a^* , o leite em pó sem lecitina apresentou coloração menos verde do que as demais amostras de leite lecitinado. Dentre os leites lecitinados, com a lecitina clarificada, houve uma maior coloração verde. Já no parâmetro b^* , o leite em pó sem lecitina apresentou-se menos amarelo e quando adicionado de lecitina, mais amarelo. Mais amarelas foram as amostras de leite lecitinado com a lecitina clarificada e a concentração de lecitina não alterou a coloração amarela nessas amostras.

Tabela 7.33: Resultados de cores das amostras de leite lecitinadas e liofilizadas.

Pontos Experimentais	L*	a*	b*	H	C*
Leite fluido	41,723±0,20	-3,857±0,03	7,353±0,02	-62,324±0,11	8,303±0,03
Leite em pó 0,0% de lecitina	24,923±0,07	-2,330±0,01	8,167±0,01	-74,076±0,04	8,492±0,02
Leite em pó 0,4% de LC	27,240±0,07	-2,647±0,03	8,860±0,03	-73,368±0,13	9,247±0,03
Leite em pó 0,8% de LC	27,733±0,04	-2,697±0,02	8,913±0,01	-73,167±0,09	9,312±0,02
Leite em pó 1,0% de LC	27,723±0,01	-3,017±0,02	9,623±0,01	-72,649±0,14	10,082±0,01
Leite em pó 0,4% de LCL	28,580±0,05	-2,727±0,02	9,227±0,05	-73,536±0,11	9,621±0,05
Leite em pó 0,8% de LCL	29,013±0,05	-2,973±0,02	9,367±0,10	-72,388±0,17	9,827±0,10
Leite em pó 1,0% de LCL	30,093±0,09	-3,063±0,07	9,487±0,01	-72,105±0,38	9,487±0,01

A Figura 7.57 mostram os resultados da Tabela 7.33, alocados espacialmente no sistema Cielab.

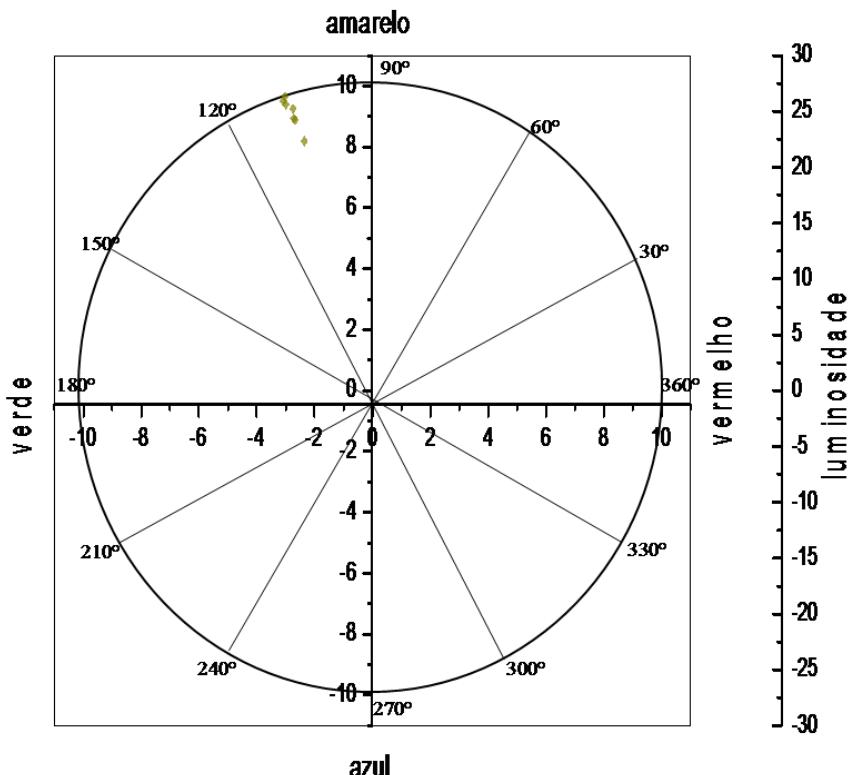


Figura 7.57: Resultados de cores dos leites liofilizados e lecitinados.

As equações do sistema Cielab foram aplicadas para a determinação das variações na cor, tendo-se por referência o leite em pó sem lecitina e os resultados podem ser verificados na Tabela 7.34.

Tabela 7.34: Resultados das variações dos parâmetros de cores (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔC^* , ΔH e ΔE^*).

Experimentos	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔH	ΔC^*	ΔE^*
Leite em pó 0,4% de LC	2,317±0,08	-0,317±0,02	0,693±0,01	0,109±0,01	0,754±0,02	2,439±0,08
Leite em pó 0,8% de LC	2,810±0,08	-0,367±0,01	0,747±0,00	0,141±0,01	0,819±0,01	2,931±0,08
Leite em pó 1,0% de LC	2,800±0,07	-0,677±0,03	1,457±0,02	0,230±0,03	1,589±0,03	3,228±0,07
Leite em pó 0,4% de LCL	3,657±0,05	-0,397±0,03	1,060±0,04	0,101±0,02	1,129±0,05	3,828±0,03
Leite em pó 0,8% de LCL	4,090±0,03	-0,643±0,03	1,200±0,09	0,269±0,03	1,335±0,10	4,311±0,01
Leite em pó 1,0% de LCL	5,170±0,13	-0,733±0,07	1,320±0,02	1,137±0,05	0,994±0,01	5,386±0,14

Nota-se nos resultados obtidos (Tabela 7.34) que a maior variação de luminosidade e variação total da cor (ΔE^*) foi obtida no leite com lecitina clarificada (LCL) adicionada de 1,0% (m/v). Não foi a amostra (LCL 1,0%) que se obteve as maiores variações em cores propriamente ditas (parâmetros a^* e b^*) e tão pouco, a amostra que apresentou maior variação total da tonalidade.

Para verificar estatisticamente, se as variações nas concentrações e tipos de lecitinas diferiram significativamente em relação ao parâmetro de variação total da cor, o qual refere-se a todos os parâmetros de cor avaliados, realizou a ANOVA, ao nível de confiança de 95% ($p<0,05$) do parâmetro ΔE^* . Os resultados podem ser verificados na Tabela 7.35.

Tabela 7.35: Resultados da ANOVA para os leite lecitinados à concentrações diferentes.

ΔE* R² 95,70%	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado médio	F calculado	Valor p
Concentrações	16,26241	1	16,26241	356,7307	0,000000
Resíduos	0,72940	16	0,04559		
Total	16,99181				

Pela análise de variância (Tabela 7.35) todas as amostras de leite lecitinados com lecitina comercial e lecitina clarificada diferem significativamente e diferem entre si e com relação à concentração adicionada de lecitina. Portanto, a adição de lecitina clarificada ou comercial interfere significativamente na cor total do leite e a quantidade de lecitina adicionada no leite também interfere na coloração.

Para se determinar quais das amostras diferenciaram mais significativamente entre si, foi realizado teste de Tukey ao intervalo de confiança de 95% ($p<0,05$), no software Statistica e obteve-se por resultado que a amostras de leite com lecitina comercial com 0,4% e 0,8%, diferiram mais em relação às demais amostras de leite, em relação à cor total.

De acordo com a Instrução Normativa n. 28 (BRASIL, 2007a), a qual refere-se à fixação dos padrões de identidade e qualidade dos produtos lácteos, adicionados ou não de substâncias lácteas ou não lácteas, que podem ser denominados de instantâneos ou não, a lecitina de soja, como emulsificante pode ser adicionado na quantidade máxima de 5 g/kg do produto.

7.2.2 Resultados de Molhabilidade

Após a análise de cor os leites em pó lecitinados, foram avaliados quanto à molhabilidade, segundo Vissotto *et al.*, (2006) onde foi realizada modificação do método. Ao invés de esperar tempo até a total molhabilidade das partículas, foi cronometrado tempo limite para verificação da molhabilidade, de 15 minutos a partir da adição do pó na água destilada e contabilizados os flocos que não foram molhados. A estimativa do tempo foi feita com base no trabalho de Fonseca *et al.*, (2011).

Cerca de 0,5 g de amostras foram colocadas no aparato de vidro (Figura 7.58) e cronometrado o tempo, sendo observado o recipiente ao longo de todo o tempo e caso

houvesse a molhabilidade em tempo inferior, o cronometro era acionado para contabilização do tempo. A análise foi realizada em quadruplicata e os resultados mostrados são médias quantificadas. Na Figura 7.58, podem ser observados a unidade experimental utilizada para a análise e os flocos de leite dispersos na superfície de 100 mL de água destilada

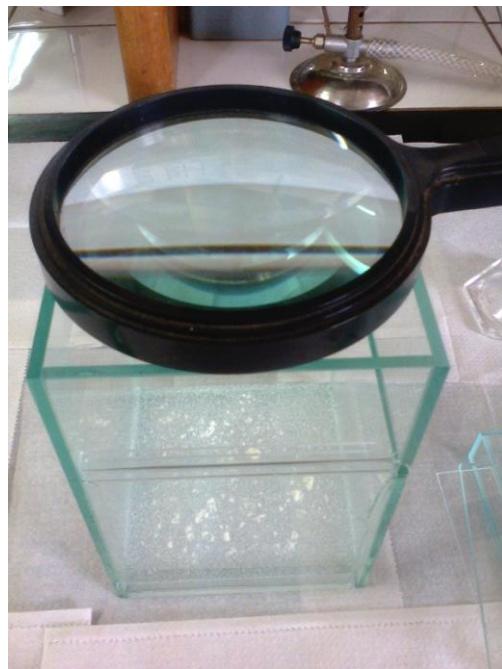


Figura 7.58: Aparato de vidro para análise de molhabilidade, com lupa para auxiliar na contagem de flocos de leite em pó sobre a água.

Os resultados da molhabilidade podem ser verificados na Tabela 7.36, quanto ao número de flocos e tempo determinado.

Tabela 7.36: Resultados de análise qualitativa de molabilidade.

Pontos Experimentais	Tempo (minutos)	Flocos (aglomerados)
Leite em pó 0,0% de lecitina	15,0	12,0±0,21
Leite em pó 0,4% de LC	15,0	9,0±0,16
Leite em pó 0,8% de LC	15,0	10,0±0,13
Leite em pó 1,0% de LC	2,0	0,0±0,11
Leite em pó 0,4% de LCL	15,0	10,0±0,15
Leite em pó 0,8% de LCL	15,0	11,0±0,20
Leite em pó 1,0% de LCL	1,5	0,0±0,10

Comparando-se as amostras de LC e LCL, verificou-se que os resultados são semelhantes, mas foi possível verificar que com a adição de lecitina de soja, quanto maior for a concentração, maior será a molhabilidade, a imersão do pó acontece em menor tempo. Mesmo resultado foi verificado por Fonseca *et al.*, (2011), que estimou tempo máximo de 7 minutos para a menor concentração.

7.2.3 Resultados de Solubilidade

A análise de solubilidade é gravimétrica e resume-se na pesagem final da massa retida e seca em filtro de papel. A metodologia utilizada foi a descrita por Vissotto, (2014), na qual 1 g de cada amostra em pó foram diluídas em 10 mL de água, agitado à rotação de 300 rpm quantificados com tacômetro e realizada à temperatura ambiente. Após diluição, o material foi filtrado em papel filtro previamente, seco e pesado, um para cada amostra e em triplicata. Os resultados podem ser visualizados em percentuais na Tabela 7.37.

Tabela 7.37: Percentual insolúvel de leites lecitinados.

Pontos Experimentais	Insolúveis (%)
Leite em pó 0,0% de lecitina	40,98±0,82
Leite em pó 0,4% de LC	40,72±1,53
Leite em pó 0,8% de LC	40,64±0,94
Leite em pó 1,0% de LC	38,97±0,98
Leite em pó 0,4% de LCL	40,35±0,41
Leite em pó 0,8% de LCL	39,05±1,15
Leite em pó 1,0% de LCL	38,51±1,76

Verifica-se nos resultados que houve uma pequena variação, houve uma menor quantidade de massa retirada no leite lecitinado com lecitina clarificada e diminuição na quantidade de insolúveis em função do aumento na concentração de lecitina adicionada.

VISSOTTO, (2014) ao testar a molhabilidade de achocolatados com açúcar moído, aglomerados em diferentes temperaturas, verificou que a aglomeração realizada em temperaturas elevadas, obteve-se maior quantidade de insolúveis. Determinou quantidades de

insolúveis variando de 7 a 8g/100g e afirmou que a solubilidade depende principalmente da composição química do pó.

Ao comparar-se essa referência com os resultados obtidos (Tabela 7.37) nota-se grande disparidade entre os resultados que podem ser atribuídos ao tipo de secagem realizada para obtenção do pó, que nesse trabalho foi a criosecagem e no trabalho de Vissotto, (2014) foi por atomização e realizada nova lecitinação com 0,3% para o processo de aglomeração.

Os resultados da Tabela 7.36 correspondem aos resultados obtidos na Tabela 7.37, pois a maior quantidade de insolúveis corresponde a maiores tempos de molhabilidade do pó. Para se comparar devidamente os resultados semelhantes de molhabilidade e insolubilidade para as lecitanas comercial e clarificadas faz-se relevante a caracterização morfológica dos grânulos do pó obtido.

Assim, as análises realizadas para os leites em pó com diferentes concentrações de LC e LCL, mostraram que a solubilidade do leite lecitinado com a lecitina de soja clarificada foi maior, que reflete na maior molhabilidade, indicando que a clarificação potencializa o efeito instantaneizante da lecitina.

7.2.4 Resultados das imagens

Como realizado por Vissotto, (2014) as imagens dos leites lecitinados foram submetidas a um tratamento de realce de contraste para excluir sombras interferentes. Cada foto recebeu um tratamento específico de acordo com a quantidade de sombra presente. É relevante ressaltar que todas as amostras foram peneiradas em malha de 0,2 mm, obtidas pela secagem por liofilização e levadas para estuda à 60°C até obtenção de peso constante.

As imagens foram feita com câmera fotográfica digital de 16 megapixels e a análise morfológica em estério microscópio. As imagens com escala podem ser verificadas na figura 68 (A – leite em pó sem lecitina, B – leite em pó com 0,4% de LC, C – leite em pó com 0,8% de LC, D – leite em pó com 1,0% de LC, E – leite em pó com 0,4% de LCL, F – leite em pó com 0,8% de LCL e G – leite em pó com 1,0% de LCL).

Na Figura 7.59 (A), tem-se fotografia em escala de 1 mm, os grânulos do leite em pó sem lecitina, nota-se grande diversidade de grânulos, alguns grandes e outros pequenos com até 0,2 mm, ou seja, sem uniformidade.

Mesmas condições são verificadas nas microfotografias B, C, E e F. Comparando-se os grânulos dos leites em pó, microfotografias B e C com as de E e F nota-se um aumento na quantidade de grânulos pequenos e consequente aglomeração dos mesmos.

Segundo Vissotto *et al.*, (2006) a lecitina de soja adicionada no processo de lecitinação, fica aderida à superfície do material em que é aplicada, portanto, utilizada no processo de aglomeração para formação de grânulos porosos pela interação entre pequenas partículas do produto. Nas micrografias D e G (figura 66) pode-se verificar a formação de aglomerados de pequenas partículas, haja vista o aquecimento à 60°C realizado posteriormente à liofilização. Tais morfologias contribuíram e reforçaram os resultados obtidos nas análises de molhabilidade e insolubilidade/solubilidade.

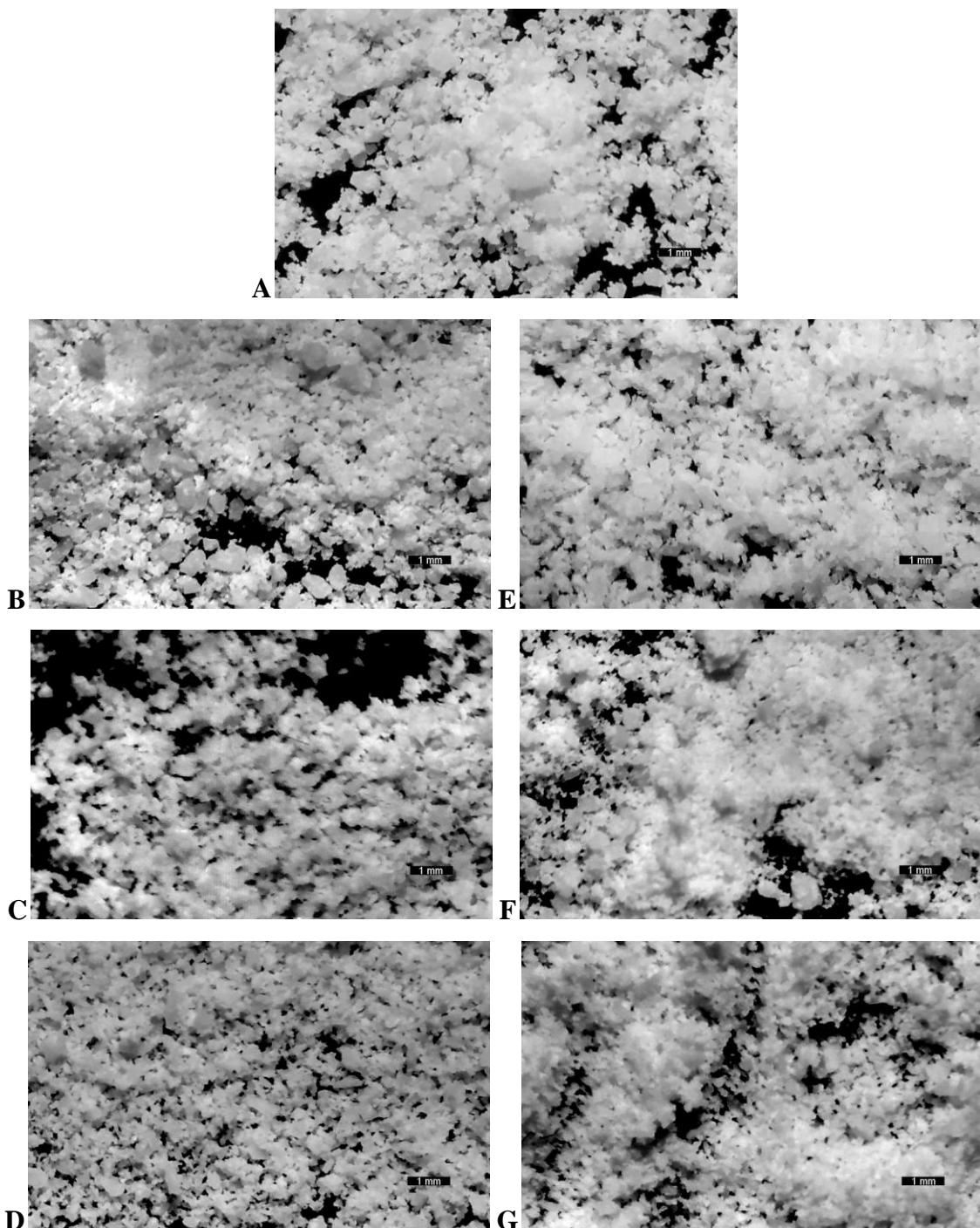


Figura 7.59: Micrografias dos leites em pó ((A – leite em pó sem lecitina, B – leite em pó com 0,4% de LC, C – leite em pó com 0,8% de LC, D – leite em pó com 1,0% de LC, E – leite em pó com 0,4% de LCL, F – leite em pó com 0,8% de LCL e G – leite em pó com 1,0% de LCL).

CAPÍTULO V – CONCLUSÃO

O trabalho desenvolvido buscou a aplicabilidade do produto estudado e ser de fácil entendimento. Buscou ressaltar a importância a lecitina de soja como emulsificante, mostrando aspectos físicos, químicos e qualitativos, de sua modificação com peróxido de hidrogênio a 35% (v/v), aplicado como agente oxidante, a fim de diminuir a cor do produto.

Iniciou-se o trabalho pela etapa de clarificação, na qual visivelmente as lecitinas clarificadas apresentaram-se mais claras, sob as condições específicas de cada experimento. A condição selecionada, que apresentou lecitina mais clara, maior valor em luminosidade foi a 50°C, adição de 2,3% de H₂O₂ (m/v) e tempo de agitação de 520 segundo sob-rotação constante. Nessa condição, a lecitina tornou-se mais clara, porém com cores intensas, amarelo e vermelho, com tonalidade tendendo ao amarelo, cor essa atribuída a pigmentos, como carotenoides e clorofilas. As variações de L*, a* e b* foram influenciadas predominantemente pelo tempo de agitação. Os teores de clorofilas a e b e de carotenóides não foram suficientes para ajustar o modelo de clarificação da lecitina de soja.

Oxidativamente, a lecitina clarificada apresentou baixos valores de atividade de água, que corresponderam a menores índices de acidez, elevados índices de saponificação e consequente oxidação, pela geração de compostos primários e secundários da oxidação. Os parâmetros oxidativos foram praticamente influenciados pela concentração de peróxido de hidrogênio adicionada. A lecitina de soja adicionada de peróxido de hidrogênio a 35% (v/v) foi melhor solubilizada em clorofórmio. Cineticamente a ordem de reação para a diminuição de ácidos graxos foi zero e o tempo mínimo para a estabilização desse conteúdo é de 15 segundos.

A clarificação aumentou os percentuais de insolúveis em acetona e consequentemente os valores de BHL (Balanço Hidrofílico Lipofílico) e as lecitinas clarificadas foram classificadas como emulsificantes O/A.

A lecitina comercial e clarificada a 25°C apresentaram comportamento de fluido pseudoplástico e à temperatura de 50°C apresentaram comportamento de fluido newtoniano.

A clarificação diminuiu percentuais de ácidos graxos poliinsaturados, monoinsaturados e aumentou os saturados, o que não interferiu na aplicação. A aplicação no leite integral UHT, da lecitina clarificada diminuiu a coloração do leite em pó, na

concentração de 1,0%, diminuiu tempo de molhabilidade e mostrou menor retenção de sólidos.

Portanto, a clarificação controlada da lecitina de soja apontou parâmetros de qualidade como satisfatórios quanto à aplicabilidade industrial, como agente emulsificante, de boas características oxidativas e reológicas.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Para futuros trabalhos a serem realizados com lecitina de soja clarificada com peróxido de hidrogênio:

- Obtendo-se experimento ótimo com maior luminosidade, adição de 2,3% de peróxido de hidrogênio, sugere-se análise de resíduo de H₂O₂ na lecitina clarificada.
- A quantificação de resíduos de peróxido de hidrogênio nos leites clarificados, se excedem o limite permitido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 300 a 800 ppm no leite.
- Experimento de clarificação na etapa de degomagem;
- Testar molhabilidade, solubilidade e morfologia dos leites em pó para diferentes tipos de secagens.
- Realizar análises para determinação de pigmentos como substâncias marrons e tocoferóis para ajuste no modelo de clarificação da lecitina de soja com peróxido de hidrogênio.
- Testar metodologias para determinação de pigmentos na lecitina de soja, vista a escassez de referenciais.
- Purificar a lecitina de soja, extraíndo-se estruturas proteicas que contenham grupos ônimos livres que possam interferir na coloração da lecitina de soja, pelas reações de Maillard.
- Otimizar processo de secagem do leite integral lecitinado pela liofilização.
- Otimizar etapa de lecitinação, comparando-se métodos de inserção da lecitina de soja clarificada.
- Testar sensorialmente o uso de lecitina clarificada em detrimento à lecitina comercial.
- Realizar estudo granulométrico aprofundado das partículas de leite em pó lecitinado.
- Realizar estudo mais abrangente da reologia da lecitina clarificada em faixas maiores de concentração de peróxido de hidrogênio e temperaturas.

- Verificado o efeito da clarificação no valor de BHL, tornando a lecitina de soja emulsificante O/A, testar aplicabilidade em outros produtos.
- Quantificar componentes fosfolipídicos da lecitina de soja clarificada, fragmentando as frações de cada um, uma vez que possuem ação emulsificante diferentes.

REFERÊNCIAS

ADM. **Lecithin emulsifying.** 2014.

AKOH, C. C.; MIN, D. B.; DEKKER, M. **Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology.** 2002.

AKOH, C. C.; WRIGHT, A. J.; ALEJANDRO G. MARANGONI. **Handbook of functional lipids.** crc, 2006.

ALMEIDA, R. A.; ARYANA, K. J.; AUGUSTIN, M. A.; et al. **Dairy Processing and Quality Assurance.** 1^a ed. Iowa: Wiley-Blackwell, 2008.

ANDERSON, D. A Primer on Oils Processing Technology. In: F. Shahidi (Ed.); **Bailey's Industrial Oil and Fat Products.** Sixth ed., p.1–56, 2005. John Wiley and Sons, Inc.

ANGHINONI, M. Controle da cor. Disponível em: <<http://sellerink.com.br/blog/tag/modelo-cielab>>..

ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática.** 5th ed. Viçosa: Editora da Universidade Federal de Viçosa, 2011.

BEI, N. **Otimização do processo de degomagem de óleo de soja por membrana cerâmica,** 2005. Universidade Estadual de Campinas (Unicamp).

BHATTACHARYA, S.; SHYLAJA, M. H.; MANJUNATH, M. S.; SANKAR, U. Rheology of lecithin dispersions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 75, n. 7, p. 871–874, 1998. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/s11746-998-0239-9>>..

BRASIL. Regulamento técnico de aditivos alimentares. , 1997. Brasil.

BRASIL. Regulamento técnico de identidade e qualidade de óleos vegetais refinados. , 1999. Braisl.

BRASIL. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados, tornando obrigatória a rotulagem nutricional. , 1. Feb. 2003. Brasil. Disponível em: <www.anvisa.gov.br>..

BRASIL. Instrução Normativa n. 28. , 2007a. Brasil.

BRASIL. Peróxido de Hidrogênio. **Informe Técnico n. 34**, p. 10, Oct. 2007b. Brasil.

BRASIL. Peróxido de Hidrogênio. , 2008. Brasil.

BRASIL. Produtos, ingredientes e aditivos isentos de registros. , 2010. Brasil.

CANON ADITIVOS PARA ALIMENTOS LTDA. Emulsificantes. **Food Ingredients Brasil**, p. 10, 2013. Brasil.

CASTEJON, L. V. **Estudo da clarificação da lecitina de soja**, 2010. Universidade Federal de Uberlândia.

CEVC, G. **Phospholipids Handbook**. 1st ed. New York: Marcel Dekker, Inc., 1993.

CHAKRABARTY, M. M. **Chemistry and Technology of oil and fats**. 1st ed. Mumbai: Allied PVT, 2003.

COURTNEY, S. D. L.; RIEGER, M.; RHEIN, L. D. **Surfactants in Cosmetics**. 2nd ed. Marcel Dekker, Inc., 1997.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2010a.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2010b.

DERE, S.; GUNES, T.; SIVACI, R. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll - A , B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. **Tr J. of Botany**, v. 22, p. 13–17, 1998.

DIEFFENBACHER, A.; POCKLINGTON, W. D. (EDS.). **Standard Methods for the Analysis of Oils , Fats and Derivatives.** 7^a ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1992.

DORSA, R. **Tecnologia de óleos vegetais.** São Paulo: Westfalia Separator do Brasil, 2004.

EL-SHATTORY, Y.; EL-MAGOLI, S. B.; ABU-RIA, S. H.; MEGAHEDE, M. G. Chemical and Physical characteristics of local lecithin in comparison with some other food emulsifiers. **Grasas y aceites**, v. 50, n. 4, p. 260–263, 1999.

FERREIRA, E. E.; BRANDÃO, P. R. G.; KLEIN, B.; PERES, A. E. C. Reologia de suspensões minerais: uma revisão. **Mineração**, v. 58, n. 1, p. 83–87, 2005.

FILHO, A. B. DE M.; VASCONCLOS, M. A. DA S. **Produção Alimentícia - Química dos Alimentos.** 1^a ed. Recife: UFRPE/CODAI, 2011.

FINZER, J. R. D. **Liofilização.** Erechim, 2002.

FONSECA, C. R.; BENTO, M. S. G.; QUINTERO, E. S. M.; GABAS, A. L.; OLIVEIRA, C. A. F. Physical properties of goat milk powder with soy lecithin added before spray drying. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 46, n. 3, p. 608–611, 2011. Disponível em: <<http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2621.2010.02527.x>>. Acesso em: 2/12/2014.

FRANCISCO, A. R. **PROCESSAMENTO DO LEITE EM PÓ DESNATADO**, 2011. Universidade Regional de Blumenau.

FRANKEL, E. N. **Lipid Oxidation.** 2nd ed. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2012.

GARBELOTTO, P. **Solventes Industriais: seleção, formulação e aplicação.** 1st ed. São Paulo: Blucher, 2008.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos.** 2^a ed. São Paulo: Nobel, 2007.

GUSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; DIJKSTRA, A. . **The lipid handbook.** 3rd ed. New York: CRC Press, 2007.

HAMMES, M. V. **Estudo da Influência da Adição de lecitina de soja na molhabilidade do leite de búfala em pó obtido por spray drying**, 2013. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

HASENHUETTL, G. L.; HARTEL, R. W. **Food Emulsifiers and Their Applications**. 2^a ed. New York: Springer, 2008.

HERTRAMPF, J. W.; PEIDAD-PASCUAL, F. **Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds**. 1st ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000.

JHA, S. N. Colour Measurements and Modeling. In: S. N. Jha (Ed.); **ondestructive Evaluation fo food quality**. p.17–42, 2010. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-15796-7>>. Acesso em: 6/9/2014.

JUNG, M. Y.; YOON, S. H.; MIN, D. B. Effets of Processing Steps on the contents of minor compounds and oxidation of soybean oil. **AOCS**, v. 66, n. 1118-123, 1989.

KABRI, T.-H.; ARAB-TEHRANY, E.; BELHAJ, N.; LINDER, M. Physico-chemical characterization of nano-emulsions in cosmetic matrix enriched on omega-3. **Journal of nanobiotechnology**, v. 9, n. 1, p. 41, 2011. BioMed Central Ltd. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3200990/>>tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 4/12/2014.

KIKUTI, E.; CONRRADO, R.; BOCCHI, N.; BIAGGIO, S. R.; ROCHA-FILHO, R. C. Chemical and Electrochemical Colorantion of Stainless Steel and Pitting Corrosion Ressitance Studies. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 4, p. 472–480, 2004.

KJELLIN, M.; JOHANSSON, I. **Surfactants from renewable resources**. 1st ed. Chichester: John Wiley and Sons, Inc., 2010.

LAMBOURNE, D.; COVEY, G. H.; CHAI, E.; DUNSTAN, D. Lecithin Gum Rheology and Processing Implications. **AOCS**, v. 1, n. 76, p. 67–72, 1999.

LEZEROVICH, A. Determination of colored Substances in Soybean Lecithin. **AOCS**, v. 62, n. 5, p. 883–889, 1985.

LIMA, C. M.; GONÇALVEZ, J. C.; COSTA, T. R. V. DA; et al. COMPORTAMENTO DA COR DE LÂMINAS DE MADEIRA DE PAU-MARFIM (*Balfourodendron riedelianum*) TRATADA COM PRODUTOS DE ACABAMENTO. **Revista Árvore**, v. 37, n. 2, p. 377–384, 2013.

LINA, M.; ADRIANA, R. I.; MARQUES, R.; et al. Cinética da degradação de carotenoides e da alteração de cor do azeite de pequi submetido ao aquecimento em temperatura de fritura Kinetics of carotenoids degradation and color change of pequi oil submitted to heating at frying temperature. **Ciência Rural**, v. 4, n. 8, p. 1509–1515, 2013.

LUTZ, I. A. **Métodos fisico-químicos para análise de alimentos**. 4^a ed. São Paulo: IAL, 2008.

MACEVOY, B. WaterColors. Disponível em: <www.handprint.com>..

MALHEIROS, G. C. **ERVA-MATE TIPO CHIMARRÃO**, 2007. Universidade Federal de Santa Maria.

MARTIN, C. A.; ALMEIDA, V. V. DE; RUIZ, M. R.; et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6 : importância e ocorrência em alimentos. **Revista Nutrição**, v. 19, n. 6, p. 761–770, 2006.

MARTINS, E. DO C.; LEONARDI, R. R.; OLIVEIRA, C. R.; MATSUMOTO, F. M. T. Liofilização como alternativa para conservação do leite humano. **Journal Health Science Institute**, v. 29, n. 2, p. 119–122, 2011.

MATTOS, I. L. DE; SHIRAI SHI, K. A.; BRAZ, A. D.; FERNANDES, J. R. Peróxido de Hidrogênio: Importância e Determinação. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 373–380, 2003.

MCCLEMENTS, D. J. **Food Emulsions: principles, practice and techniques**. 1st ed. Florida: CRC Press, 1999.

MELCHIADES, F. G.; BOSHI, A. O. Cores e Tonalidades em Revestimentos Cerâmicos Introdução Aspectos que Influenciam a Visualização das Cores. **Cerâmica Industrial**, v. 4, n. 4, p. 11–18, 1999.

MILLQVISTFUREBY, A; SMITH, P. In-situ lecithination of dairy powders in spray-drying for confectionery applications. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 5-6, p. 920–927, 2007. Disponível em: <<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X06002785>>. Acesso em: 2/12/2014.

MINOLTA, K. **PRECISE COLOR COMMUNICATION**. 2007.

MINOLTA, K. Entendendo o Espaço de Cor L*a*b*..

MITCHELL, E. L. **Advances in food research**. San Diego: Academic Press, 1988.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. **A soja no Brasil**. 1st ed. Brasília: Secretaria de Tecnologia Industrial do Ministério da Indústria e Comércio, 1981.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. 1^a ed. São Paulo: Varela, 1998.

NIELSEN, S. S. **Food Analysis Laboratory Manual**. 2nd ed. New York: Springer Science, 2010.

NIEUWENHUYZEN, W. VAN. Emulsions 101. **Inform AOCS**, v. 25, n. 4, p. 193–272, 2014.

NIGAM, A.; AYYAGARI, A. **Lab Manual in Biochemistry, Immunology and Biotechnology**. 1st ed. Tata McGraw-Hill, 2007.

NOGUEIRA, F. A. G.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. DISPONIBILIDADE DE CÁLCIO EM LEITES INTEGRAL E DESNATADO ADICIONADOS DE FRUTAS , CAFÉ E ACHOCOLATADO. **Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 213–228, 2008.

NORN, V. **Emulsifiers in food technology**. 2nd ed. Chenai: Wiley-Blackwell, 2015.

OETTERER, M.; BISMARA REGITANO D`ARCE, M. A.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1st ed. Barueri: Manole, 2006.

OHTA, N.; ROBERTSON, ALAN R. **Fundamentals and Applications**. 1^a ed. Englad: John Wiley and Sons, Inc., 2005.

OLIVEIRA, A. G. DE; SCARPA, M. V.; CORREA, M. A.; CERA, L. F. R.; FORMARIZ, T. P. Microemulsões: estrutura e aplicações como sistema de liberação de fármacos. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 131–138, 2004.

OLIVEIRA, C. G. DE. **Proposta de modelagem transiente para clarificação de óleos vegetais**, 2001. Universidade Federal de Santa Catarina.

OTHMER, K. **Food and Feed Technology**. 1st ed. New York: Wiley Interscience, 2007.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; et al. **Tecnologia de Alimentos**. 1^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PERRONE, Í. TULER. **Soro de leite: concnetração, cristalização da lactose e secagem**, 2010. Universidade Federal de Viçosa.

POKORNY, J.; SCHMIDT, S. **Chemical, Biological and Funtional Aspects of Food Lipids**. 2nd ed. New York: CRC Press, 2011.

POMERANZ, Y. J. **Funtional of Properties of Food Components**. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1991.

POMERANZ, Y.; MELOAN, C. E. **Food Analysis: theory and practice**. 3rd ed. New York: An Aspen Publication, 1994.

RAHMAN, M. S. **Handbook of food preservation**. New York: CRC Press, 2007.

RAMALHO, H. F.; SUAREZ, P. A. Z. Artigo A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. **iftm**, v. 5, n. 1, p. 2–15, 2013.

RANKEN, M. D.; KILL, R. C.; BAKER, C. G. J. (EDS.). **Food Industries Manual**. 24th ed. Cornwall: Blackie Academic & Professional, 1997.

RIBEIRO, E. P.; SERAVALLI, E. A. G. **Química de Alimentos.** 2^a ed. São Paulo: Blucher, 2007.

SANTANA, R. C. Análise Instrumental aplicada a polímeros. , 2014. Porto Alegre. Disponível em: <http://chasqueweb.ufrgs.br/~ruth.santana/analise_instrumental/aula4c.html>.

SATUFFER, C. E. **Functional additives for bakery foods.** New York: Van Nostrand Reinhold, 1990.

SCHOLFIELD, C. R. ~ Composition of Soybean Lecithin. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v. 58, n. 10, p. 889–892, 1981.

SCRIMGEOUR, C. Chemistry of Fatty Acids. In: F. Shahidi (Ed.); **Bailey's Industrial Oil and Fat Products.** 6th ed., p.1–44, 2005. New York: John Wiley and Sons, Inc.

SHAHADI, F. **Nutraceutical and Specialty Lipids and their co-products.** 1st ed. New York: CRC Press, 2006.

SHIROMA, P. H. **ESTUDO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE SUSPENSÕES AQUOSAS DE BENTONITA E CMC: INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO NaCl ESTUDO DO COMPORTAMENTO REOLÓGICO DE SUSPENSÕES AQUOSAS DE BENTONITA E CMC: INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DO NaCl,** 2012. Escola Politecnica da Universidade de São Paulo.

SHOLFIELD, C. R.; DUTTON, H. S. Sources of color in soybean lecithin. **Journal of American Oil Chemists Society**, p. 258 – 263, 1954.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Métodos para Avaliação do Grau de oxidação Lipídica e da capacidade Antioxidante. **Química Nova**, v. 22, n. 1, p. 94–103, 1999.

SILVA, N. M. C. DA. **PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS E COMPORTAMENTO REOLÓGICO DA POLPA DE JENIPAPO (Genipa americana L.),** 2008. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

SINGHAL, R.; S., R.; KULKA, P. R.; REGE, D. V. **Handbook of indices of Food quality and Authenticity**. 1st ed. Cambridge: Woodhead Publishing, 1997.

SMOUSE, T. H. Oil Quality and Stability. In: K. Warner; N. A. M. Eskin (Eds.); **Methods to Assess Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods**. 1^a ed., p.17–36, 1995. AOCS Press.

SOUZA, N. E. DE; MATSUHITA, M.; VISENTAINER, J. V. ACIDOS GRAXOS : Estrutura, Classificação, nutrição e saúde. **Arq. Apadec.**, v. 2, n. 2, p. 102–107, 1998.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2nd ed. Freeman Press, 1996.

STOPPER, H. R.; SAFFER, B. A.; BAUER, S. T. Factors Influencing the determination of the acetone insolubles of commercial lecithins. **AOCS**, p. 408–413, 1953.

STOPPER, H. R.; SAFFER, B. A.; BAUER, S. T. Factors Influencing the determination of the acetone insolubles of commercial lecithins. **JAOCs**, p. 408–412, 1953.

SZUHAJ, B. F. **Lecithins:Sources, Manufactures and Uses**. Illinois: Society, American Oil Chemists, 1989.

TORRES, E. A. F. S.; CAMPOS, N. C.; DUARTE, M.; et al. Composição centesimal e valor calórico de alimentos de origem animal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 2, p. 8, 2000.

VARELA, J. J.; GLIESE, R.; PETTER, C. O.; PEIXOTO, C. A. Controle de qualidade no processamento de polpas de caulin utilizando propriedades óticas. **Mineração**, v. 58, n. 3, p. 201–206, 2005.

VISSOTTO, F. Z. “**Estudo do processo de aglomeração com vapor e perda de qualidade por caking de achocolatados em pó,**” 2014. Universidade Estadual de Campinas.

VISSOTTO, F. Z.; MONTENEGRO, F. M.; MOREIRA, J.; JULIANA, S.; OLIVEIRA, R. DE. Avaliação da influência dos processos de lecitinação e de aglomeração nas propriedades físicas de achocolatado em pó. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 666–671, 2006.

WHITEHURST, R. J. **Emulsifiers in Food Technology**. 1st ed. Blackweel Publishing, 2004.

ZÜGE, L. C. B. **Estudo da inversão catastrófica e transicional de emulsões de óleo de soja com diferentes tensoativos**, 2012. Universidade Federal do Paraná.

ANEXO I - ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE PRODUTO

 CARAMURU	ESPECIFICAÇÃO TÉCNICA DE PRODUTO	2100319
		Revisão: 02
		Página 1 de 1

Título: LECITINA DE SOJA CARAMURU 150 BS

Data de aprov.: 09.11.2011

Produto: Lecitina de Soja produzida a partir de soja em grãos não geneticamente modificada, cuja rastreabilidade é controlada por um Sistema de Identidade Preservada – Hard IP, validado pela Cert ID.

Descrição: Produto natural, composto de uma mistura concentrada de fosfolipídios de soja, obtido sob rigoroso controle microbiológico, cujas principais características são: Viscosidade média, baixa acidez e cor castanha.

Aplicação: Emulsionante natural e agente estabilizante de uso tradicional nas indústrias de alimentos e farmacêuticas. Elaborado especialmente para indústrias que requerem grande assepsia, maior concentração de fosfolipídios e baixa acidez.

Características:

Físico-química		Métodos
Aspecto	Fluida	
Cor Gardner	Máximo 15	AOCS Ja 9-87
Insolúveis em acetona	Mínimo 63%	AOCS Ja 4-46
Insolúveis em hexano	Máximo 0,30%	AOCS Ja 3-87
Umidade	Máximo 0,7%	AOCS Ja 2b-87
Índice de acidez	Máximo 28	AOCS Ja 6-55
Índice de Peróxidos	Máximo 20meqO ₂ /kg	AOCS Ja 8-87
Viscosidade, 25 °C	Máximo 150 poise	AOCS Ja 10-87

Microbiológica		Métodos
Contagem padrão em placas	Máximo 1.000 ufc/g*	ICMSF / APHA
Bolores e Leveduras	Máximo 100 ufc/g*	ICMSF / APHA
NMP** Coliformes totais	Ausente/g	ICMSF / APHA
NMP** <i>E. coli</i>	Ausente/g	ICMSF / APHA
<i>Salmonella</i> sp	Ausente/25g	ISO 6579

* ufc/g = unidade formadora de colônia por grama

** NMP = Número Mais Provável

AOCS: American Oil Chemists' Society

APHA: American Public Health Association

ICMSF: International Commission on Microbiological Specifications for Food

ISO: International Organization for Standardization

Embalagem: Tambor de aço com tampa removível - Peso líquido: 200kg

Container – Peso líquido: 1.000kg;

Isotanques de 20 a 25t.

Armazenamento: Manter o produto em embalagens fechadas, em local seco e arejado, a temperaturas entre 20 e 40°C. Evitar mudanças bruscas de temperatura bem como o armazenamento estático por períodos longos. Caso seja necessário aquecimento, nunca utilizar temperaturas superiores à 60°C.

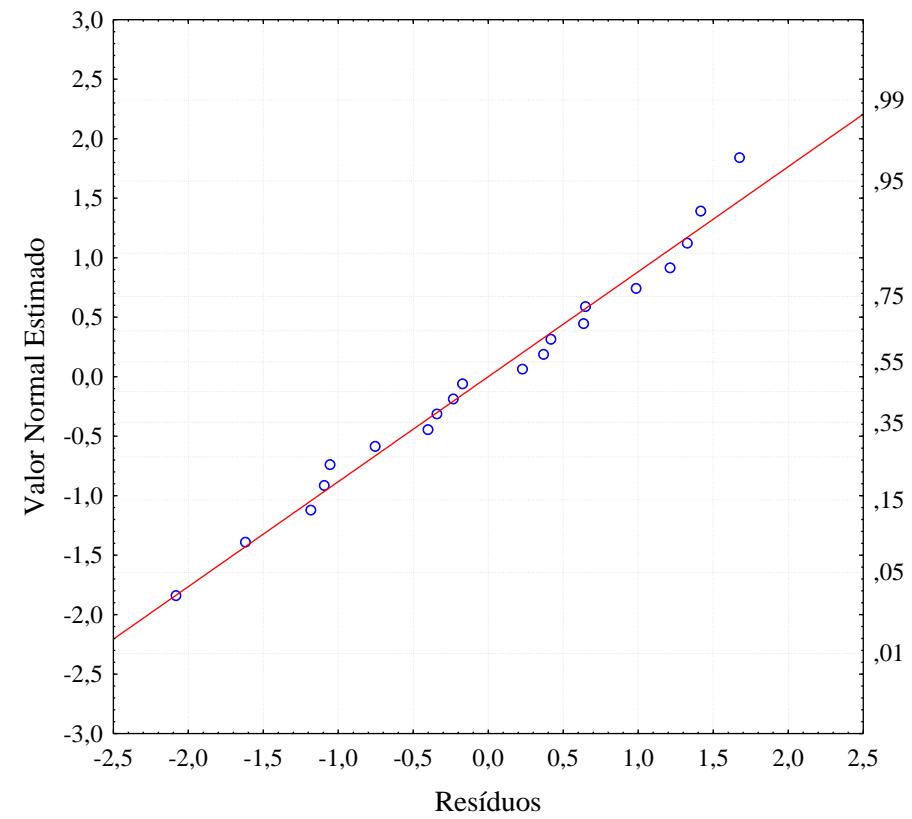
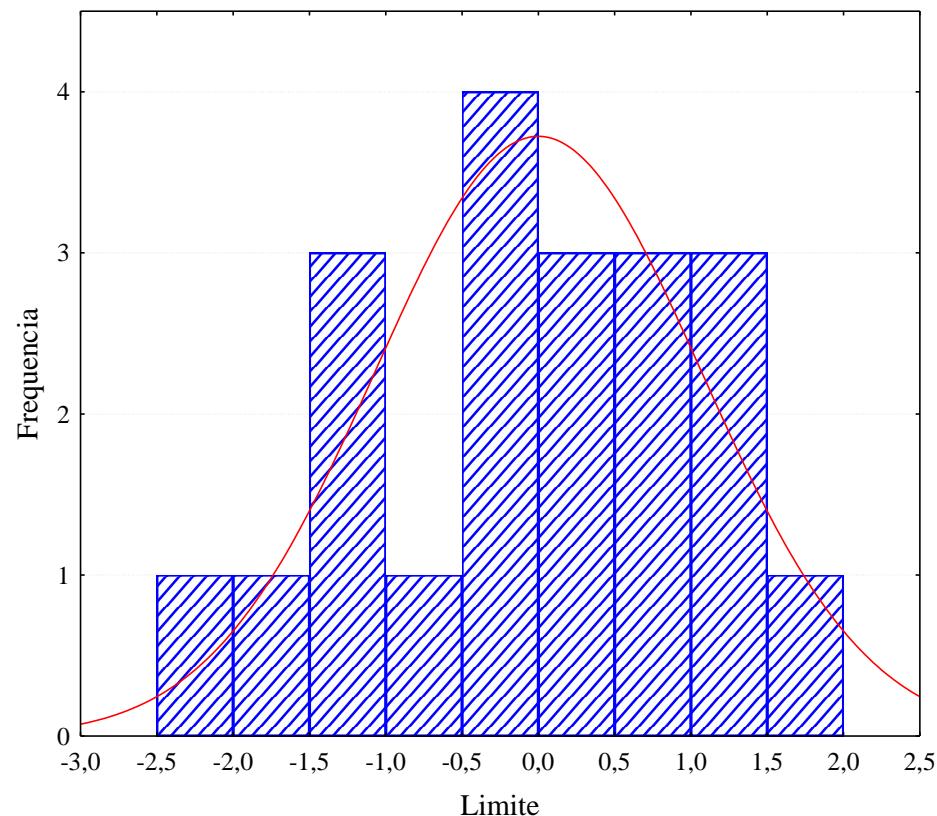
Validade: 24 meses.

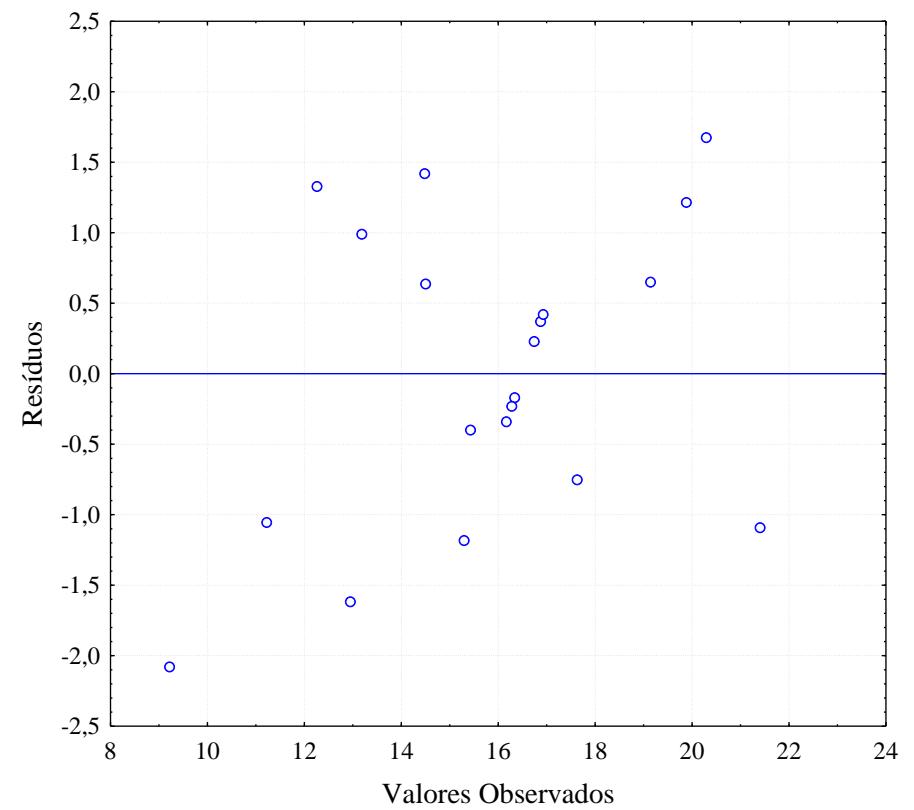
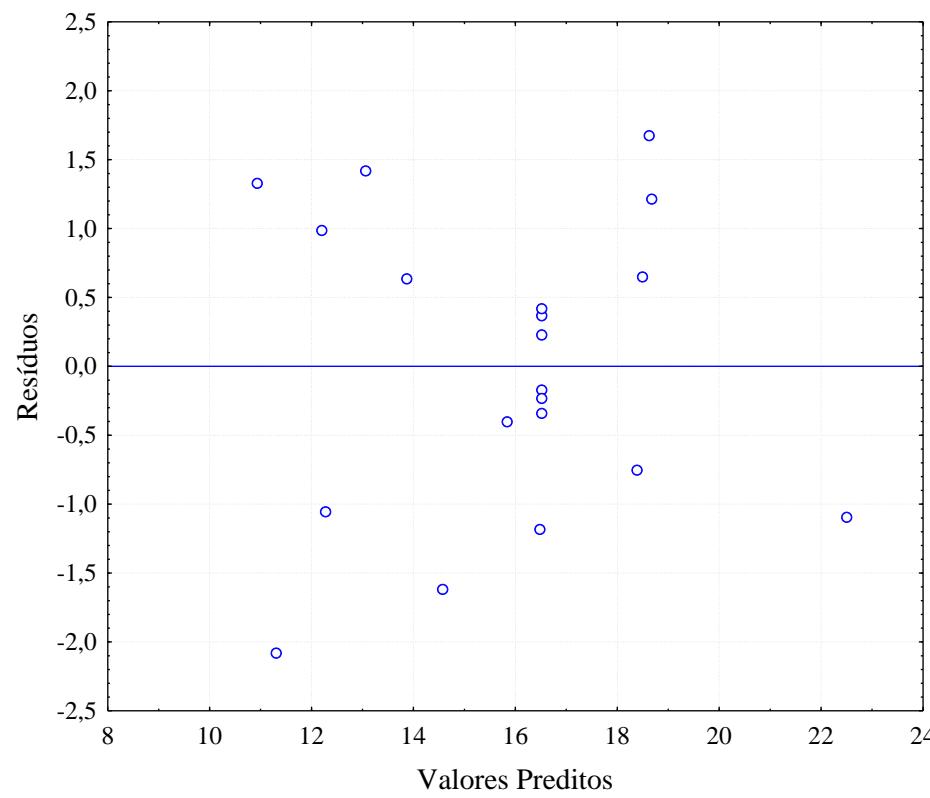
Elaboração	Aprovação
Nome: Sandra Regina Rodrigues	Nome: Edwirges Michellon
Data: 09/11/2011	Data: 09/11/2011

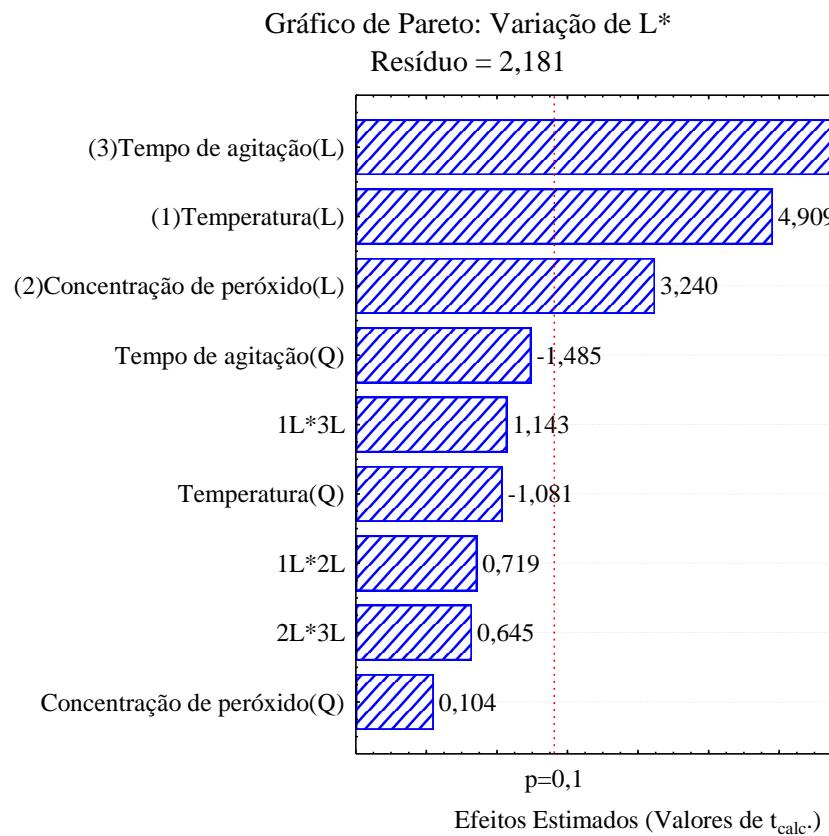
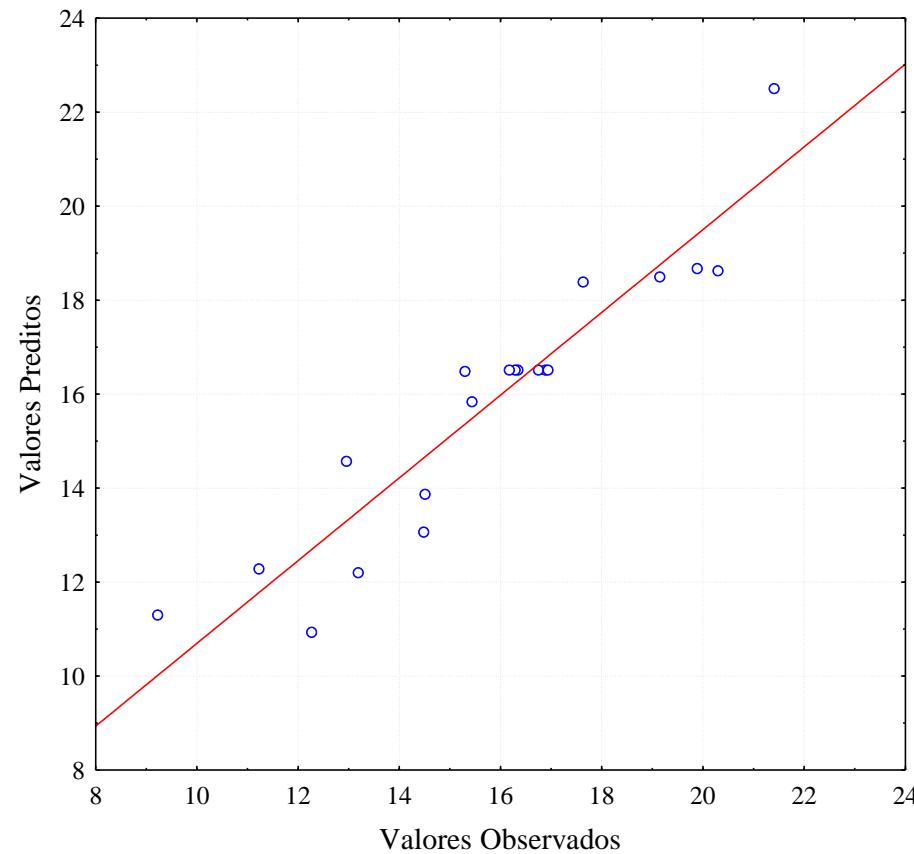
CÓPIA CONTROLADA

JADER1203300958210404003307

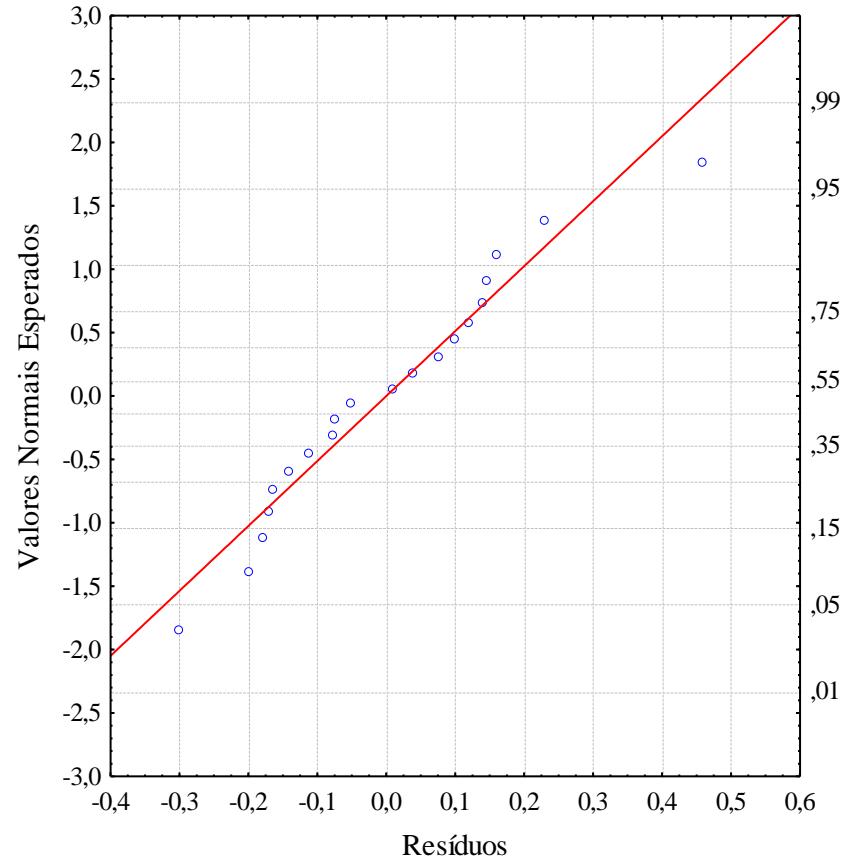
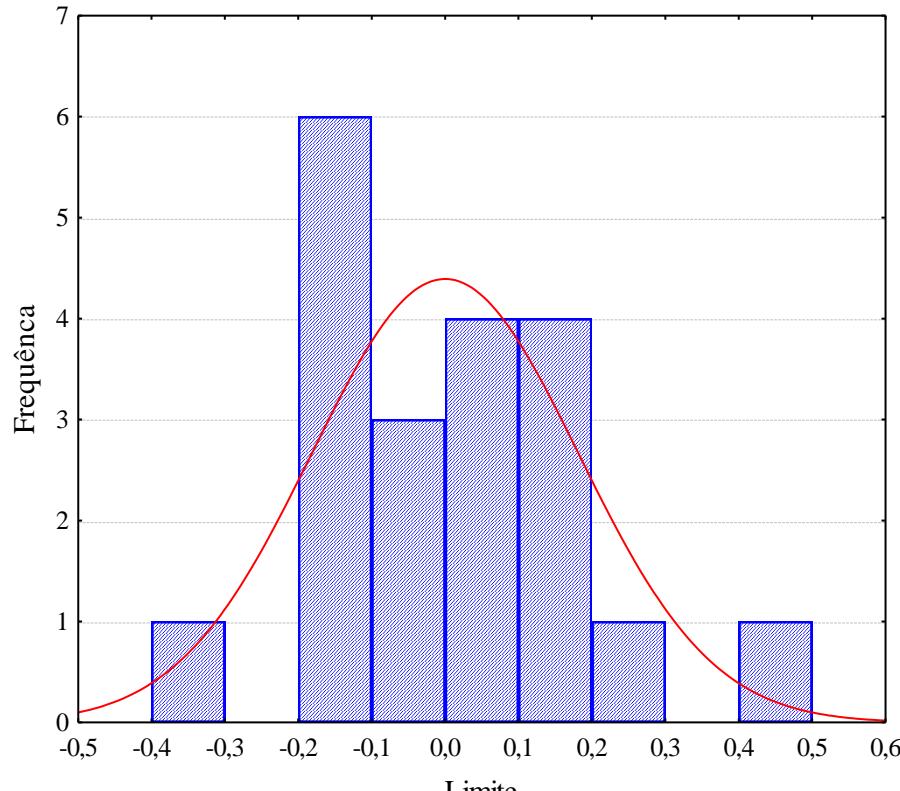
APÊNDICE I – Resíduos da Variação de L* (ΔL^*)

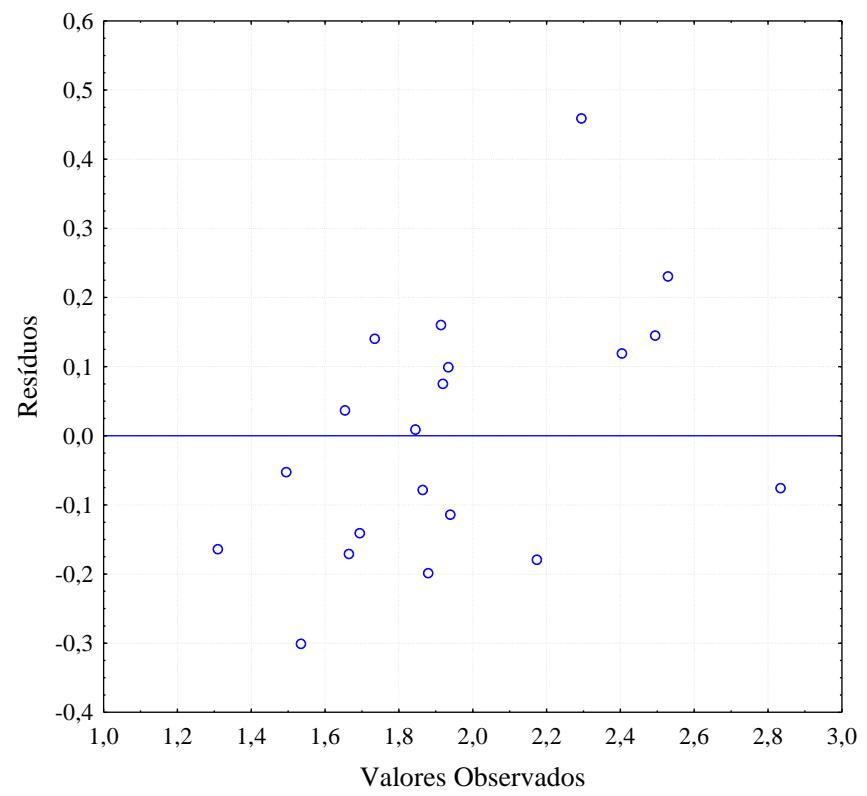
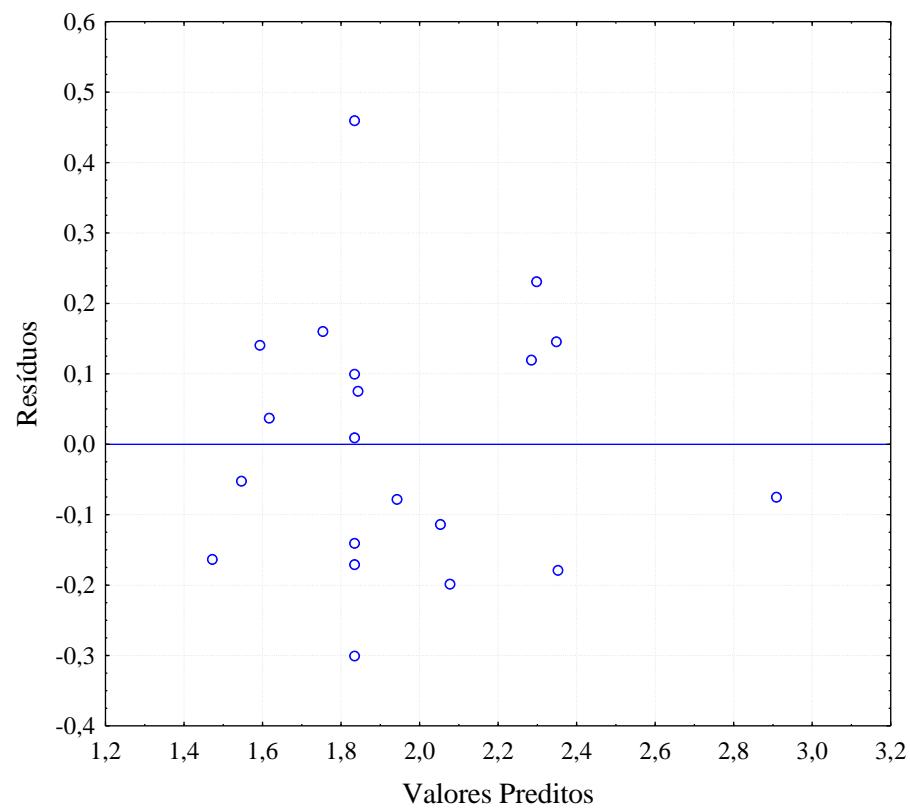


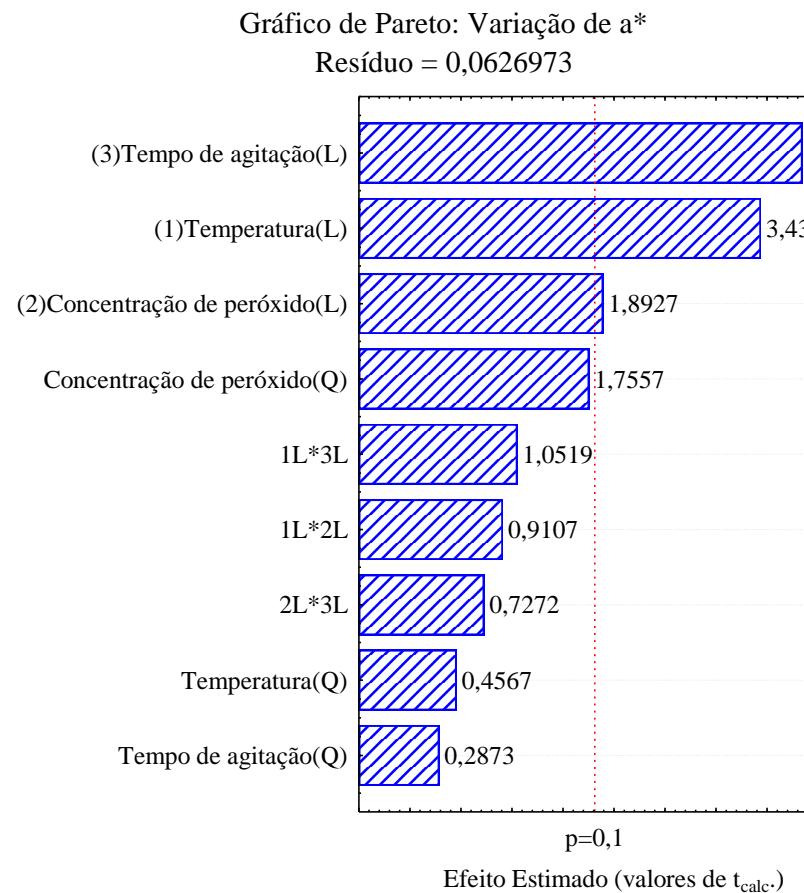
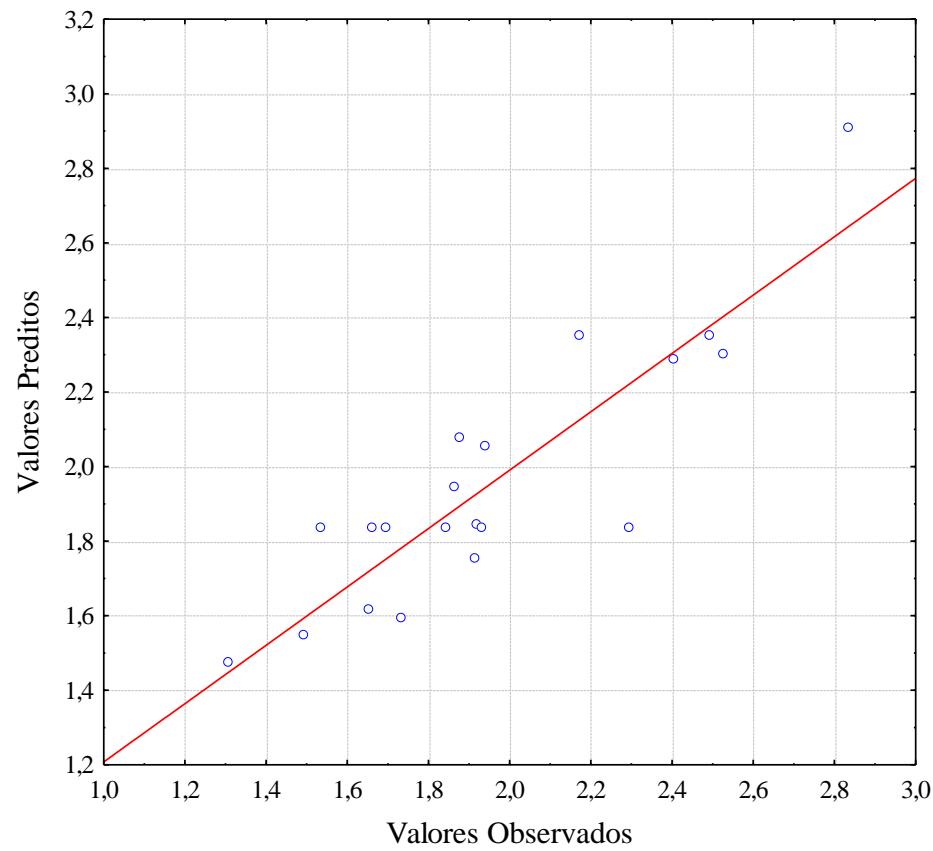


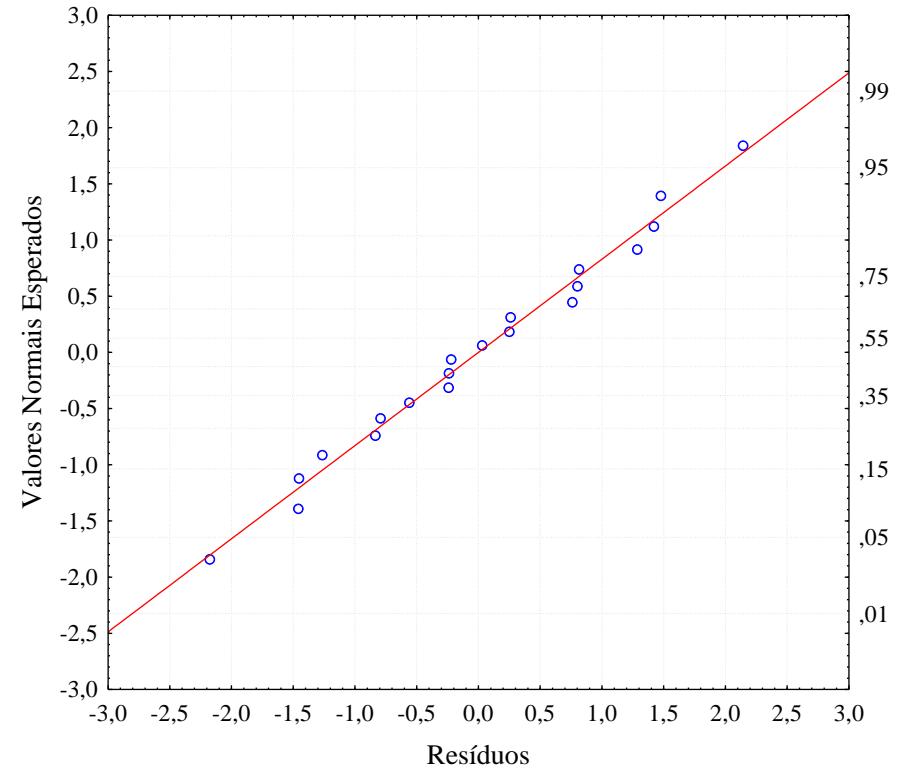
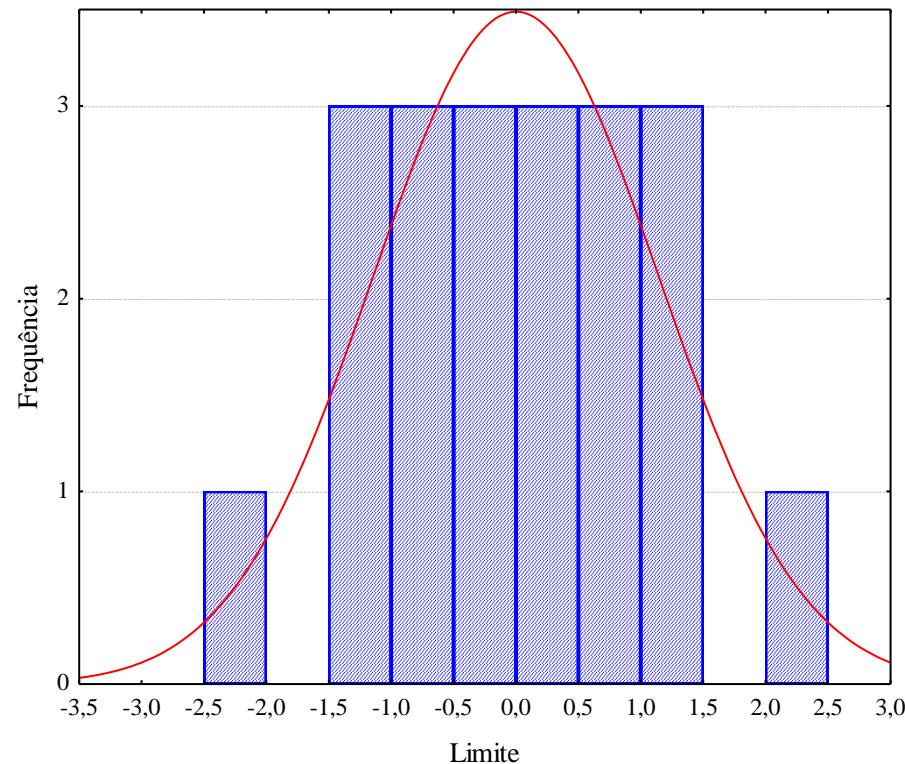


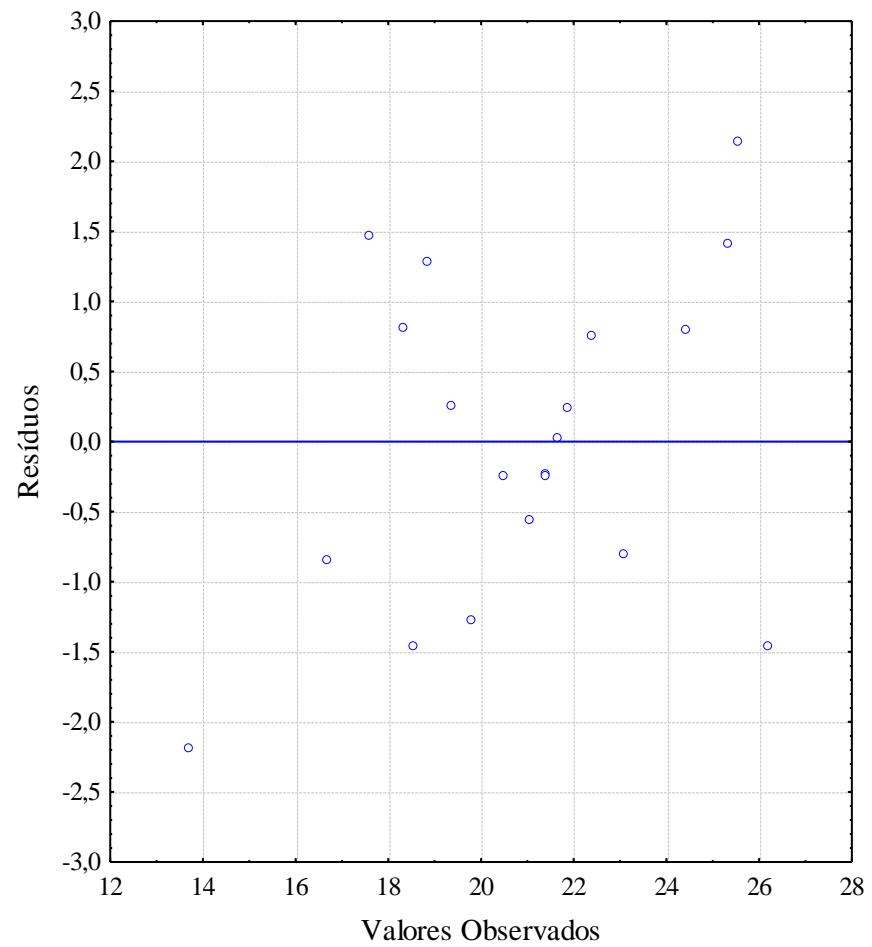
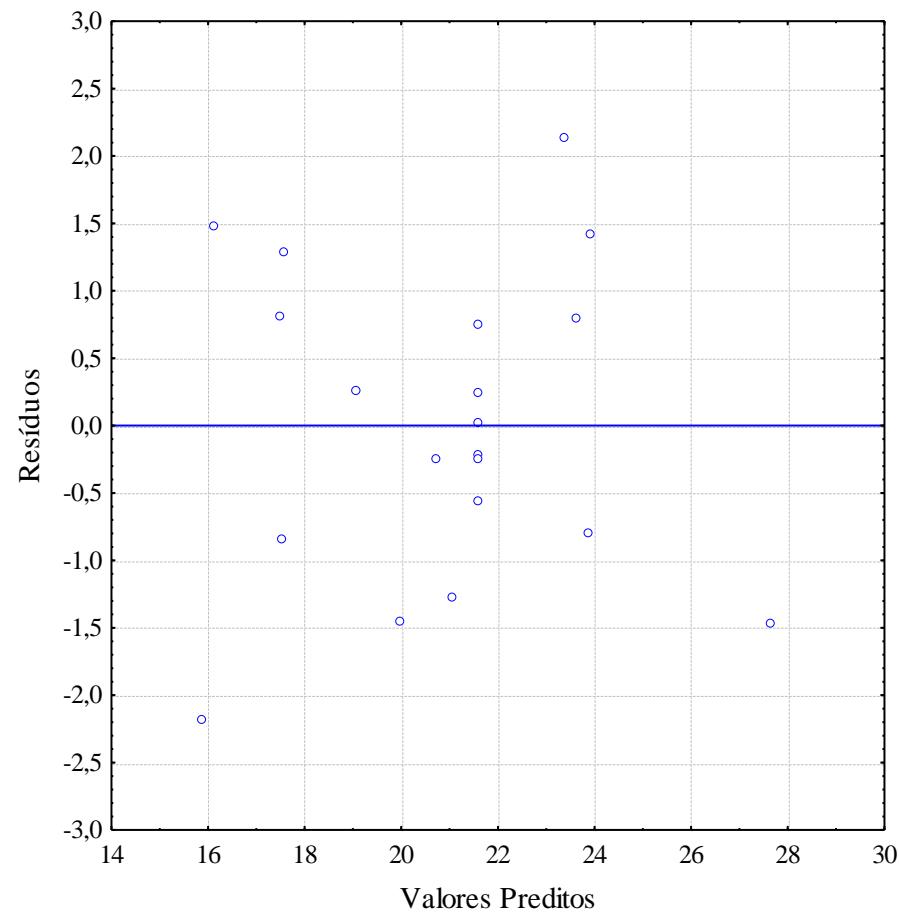
APÊNDICE II – Resíduos da Variação de a^* (Δa^*)







APÊNDICE III – Resíduos da Variação de b^* (Δb^*)



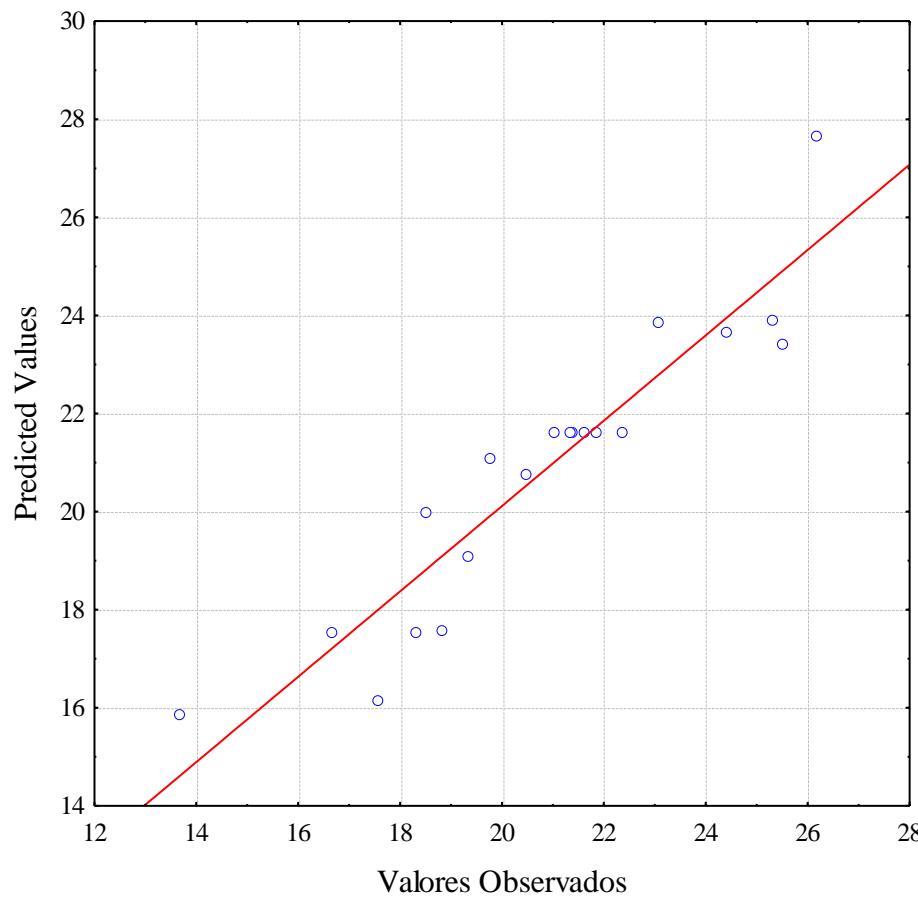
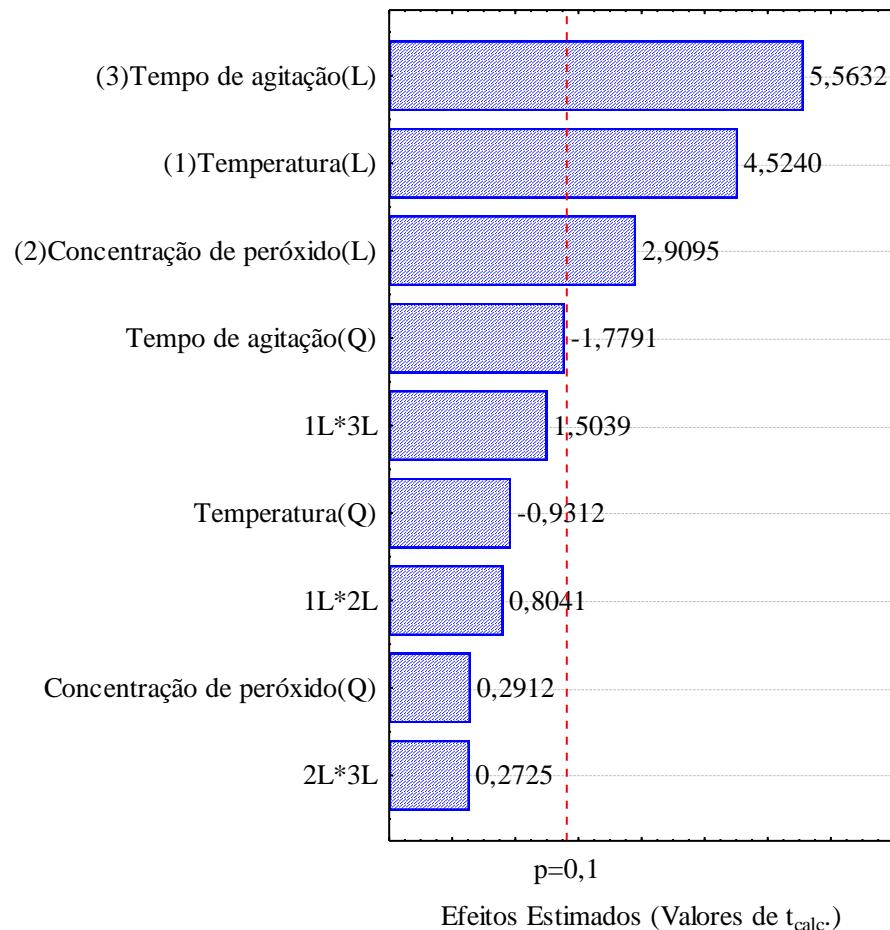
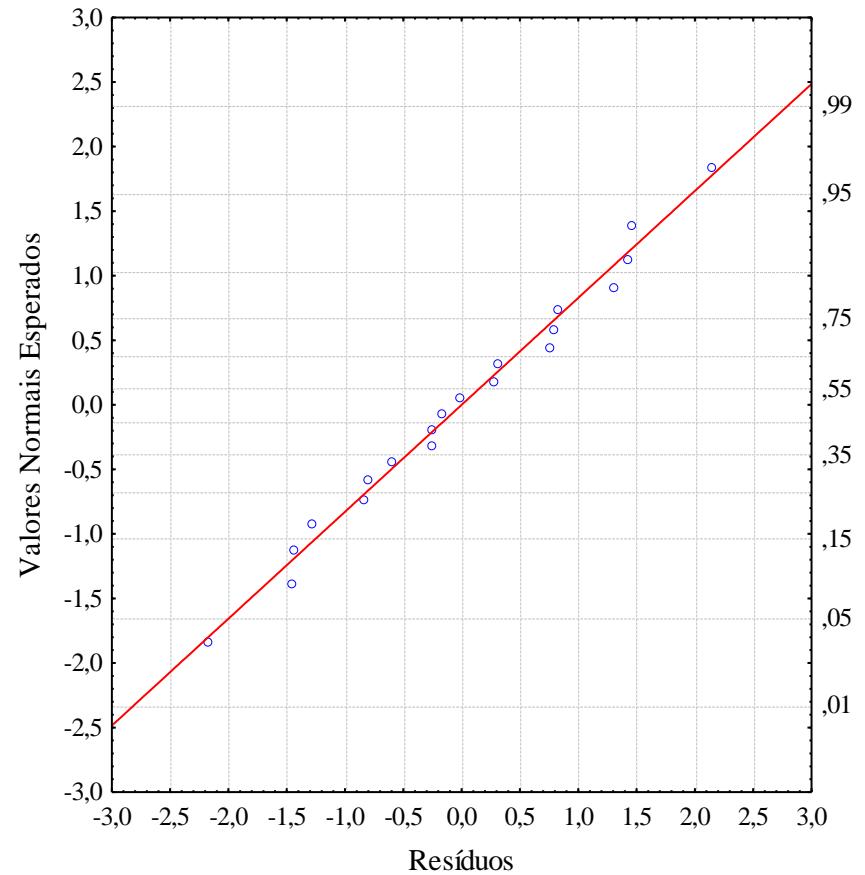
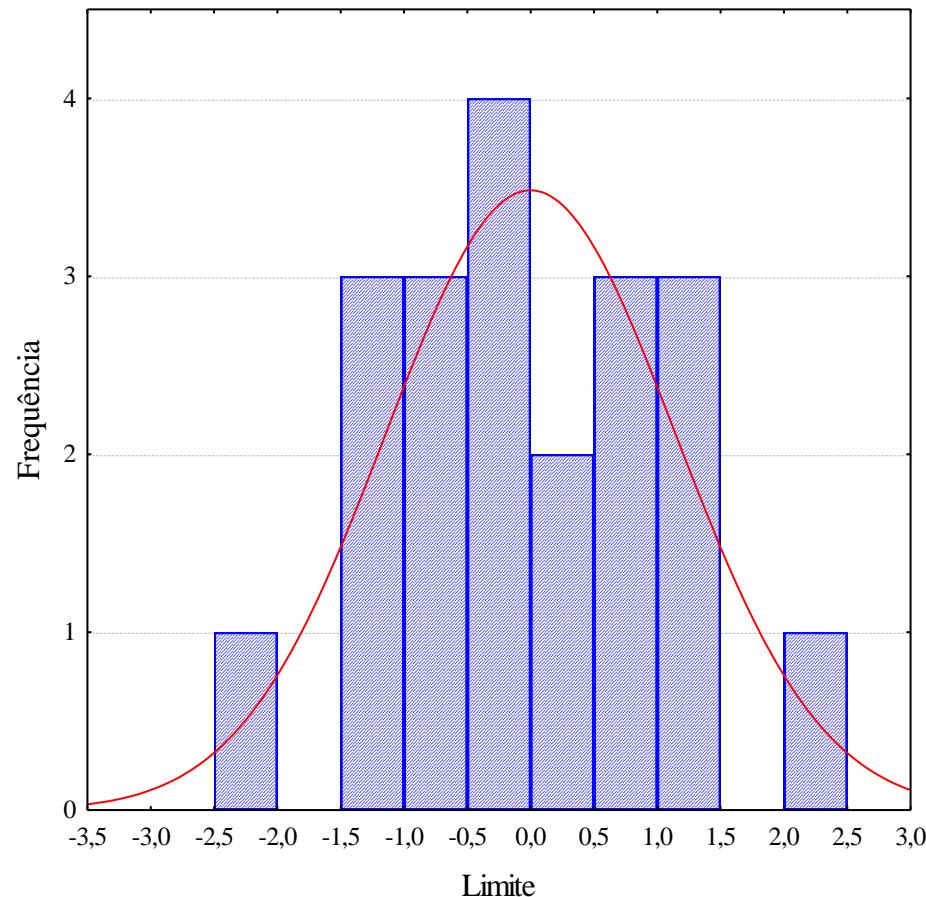
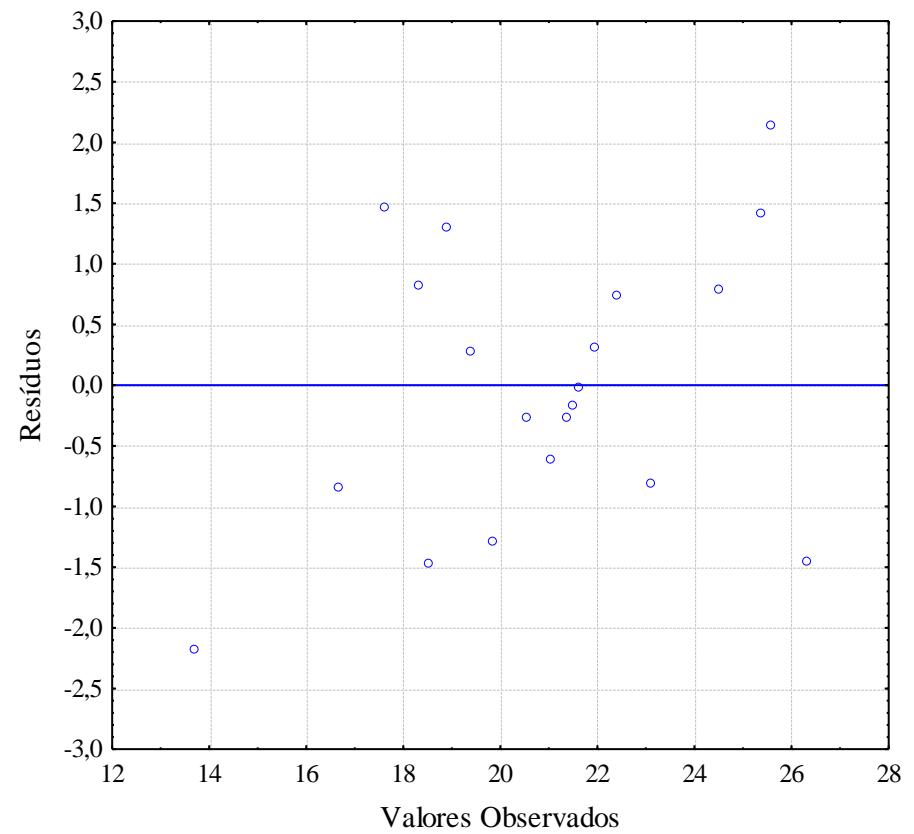
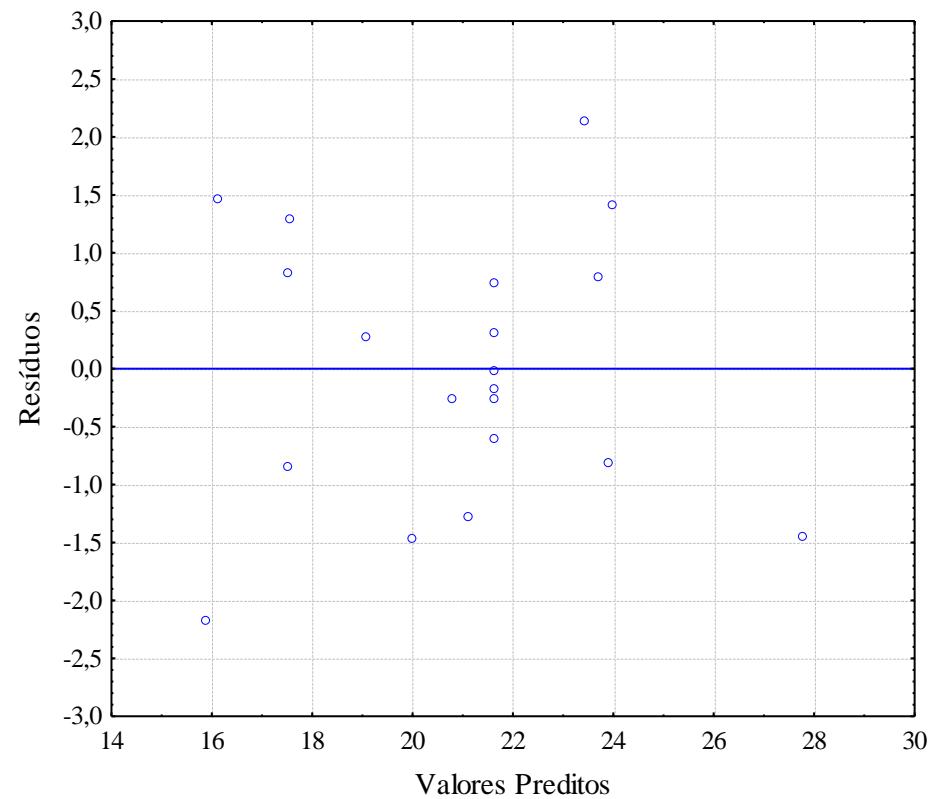
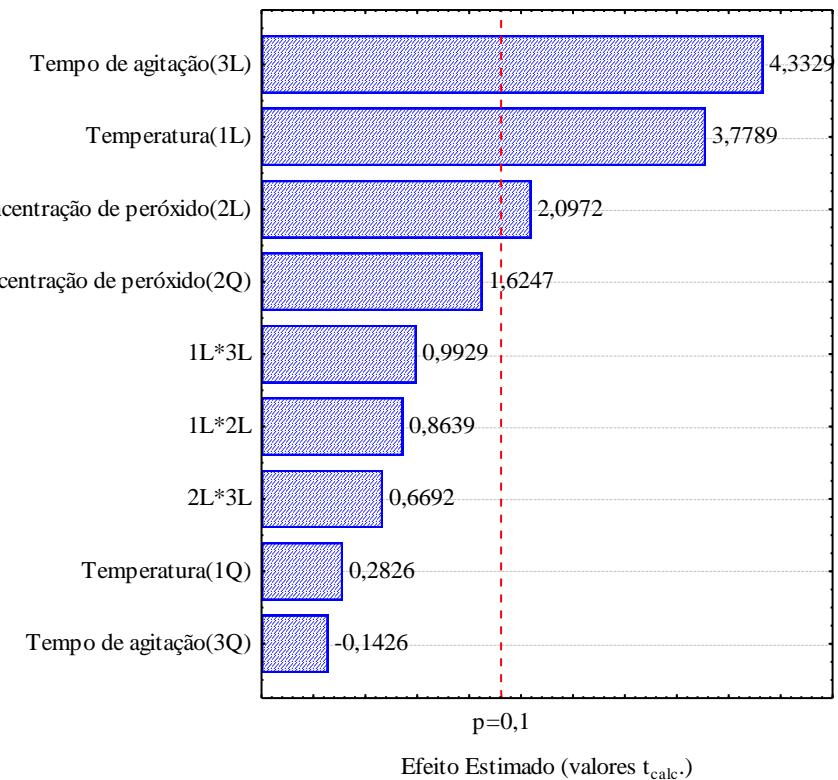
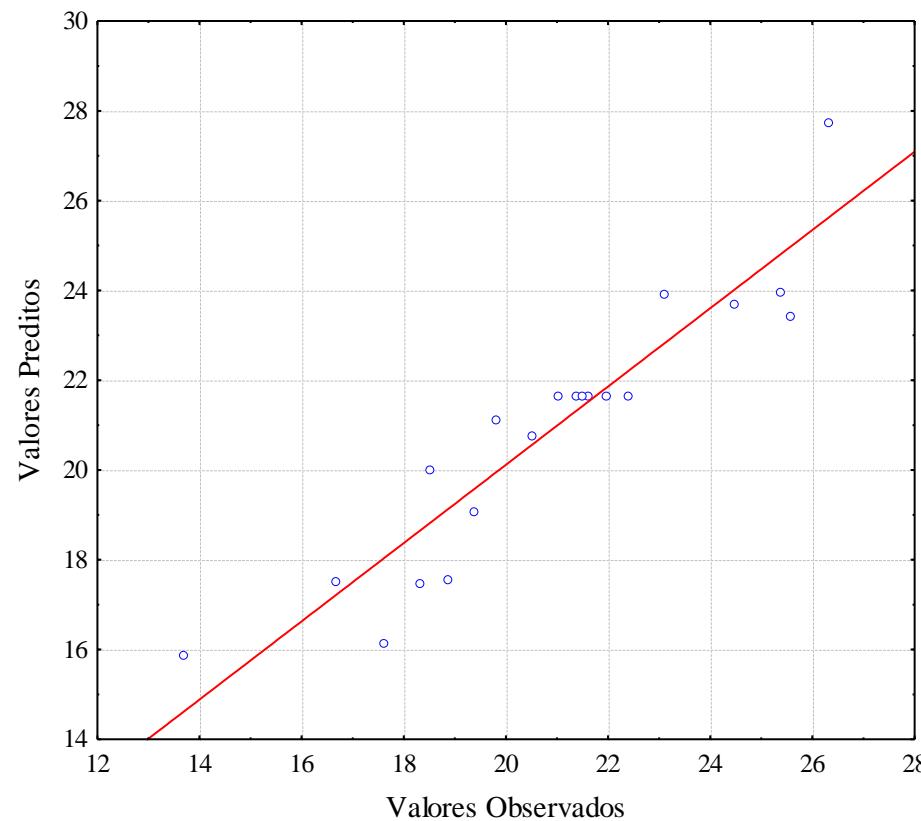


Gráfico de Pareto: Variação de b^*
Resíduo = 2,484411

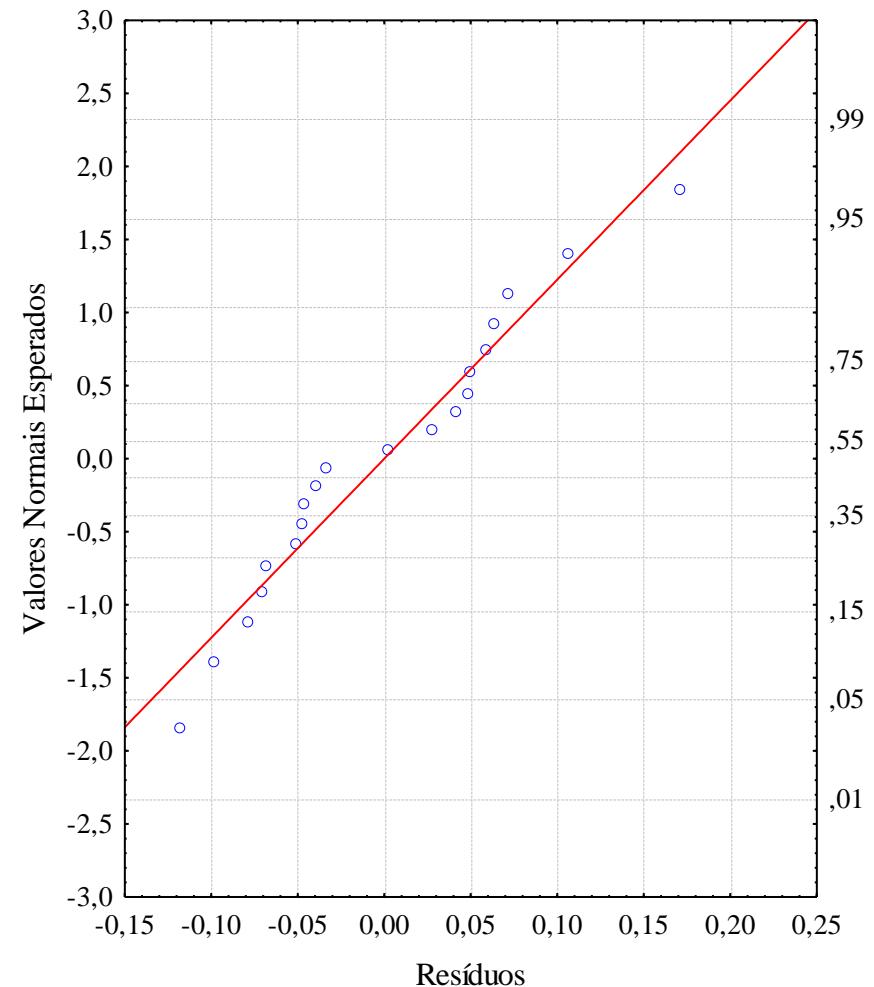
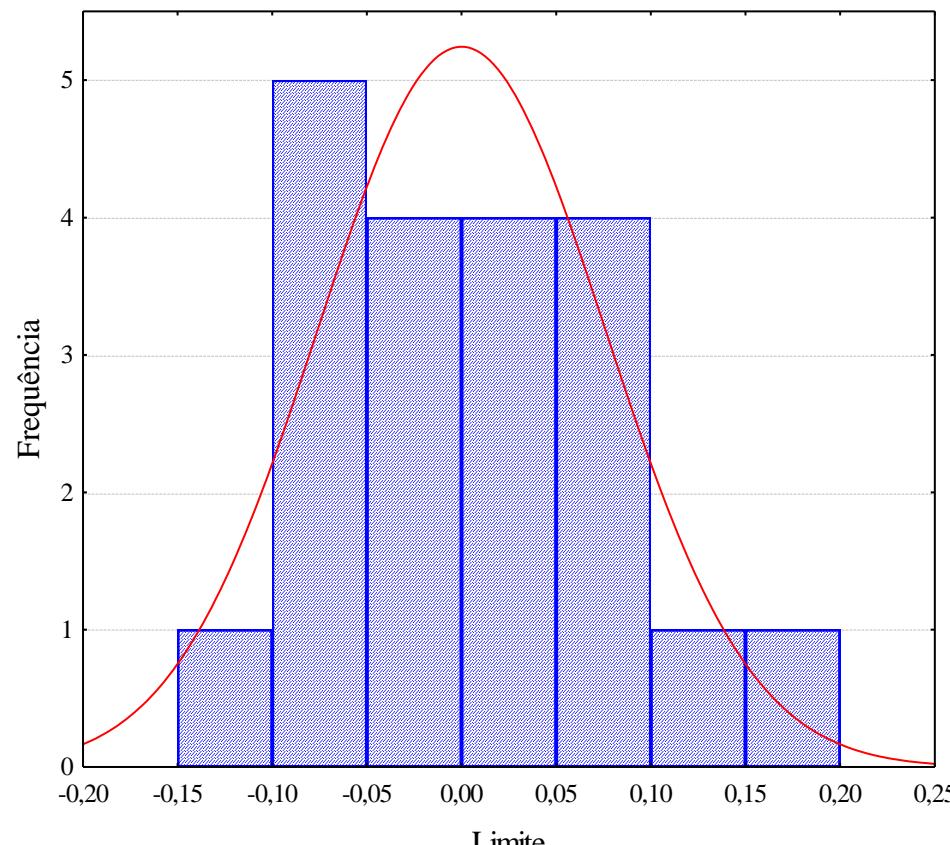


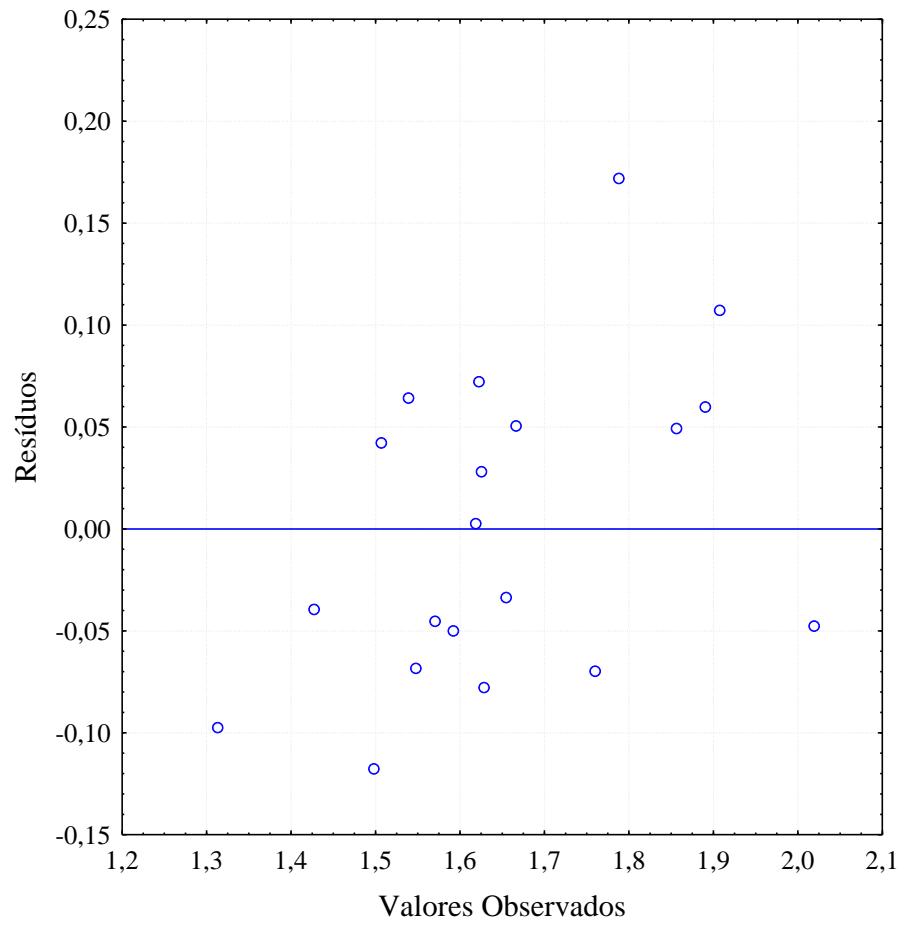
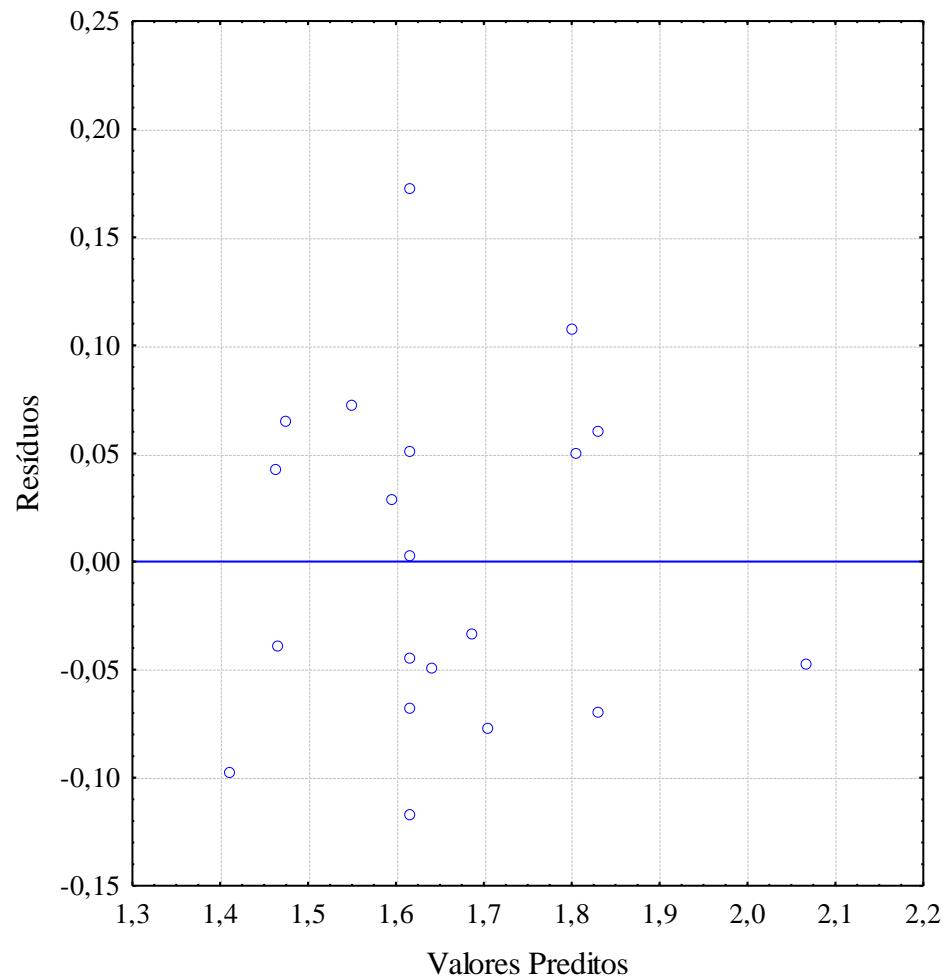
APÊNDICE IV – Resíduos da Variação de C^* (ΔC^*)

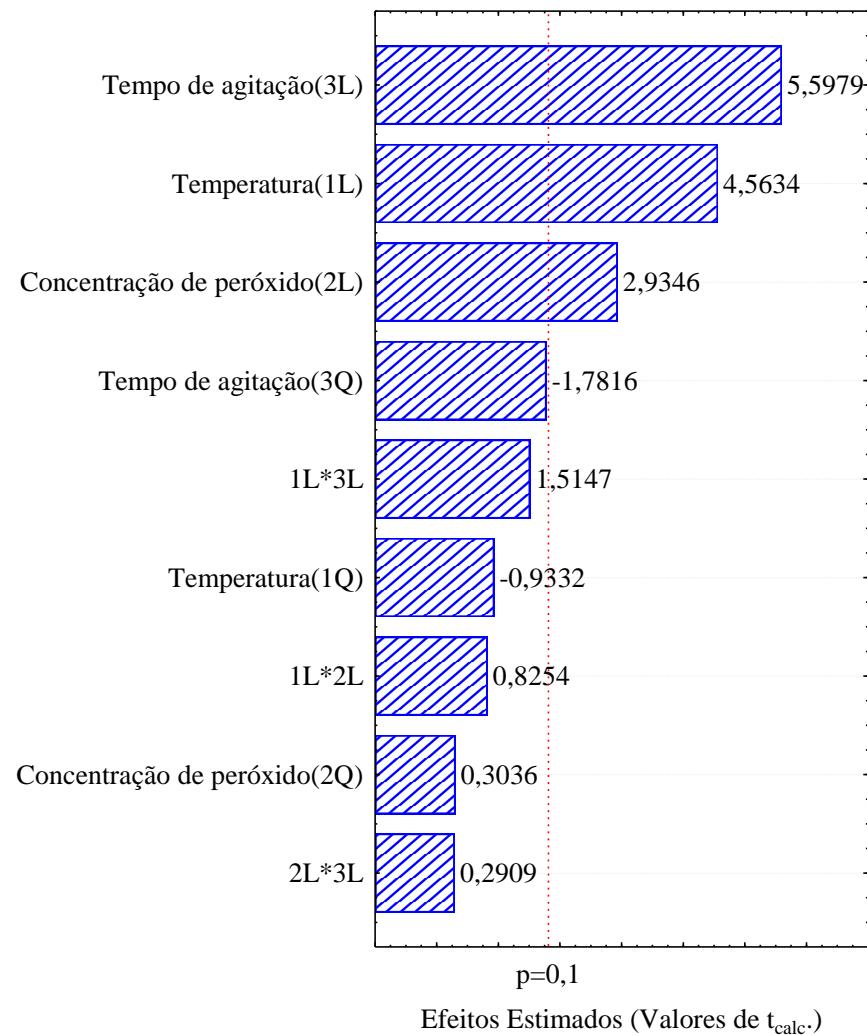
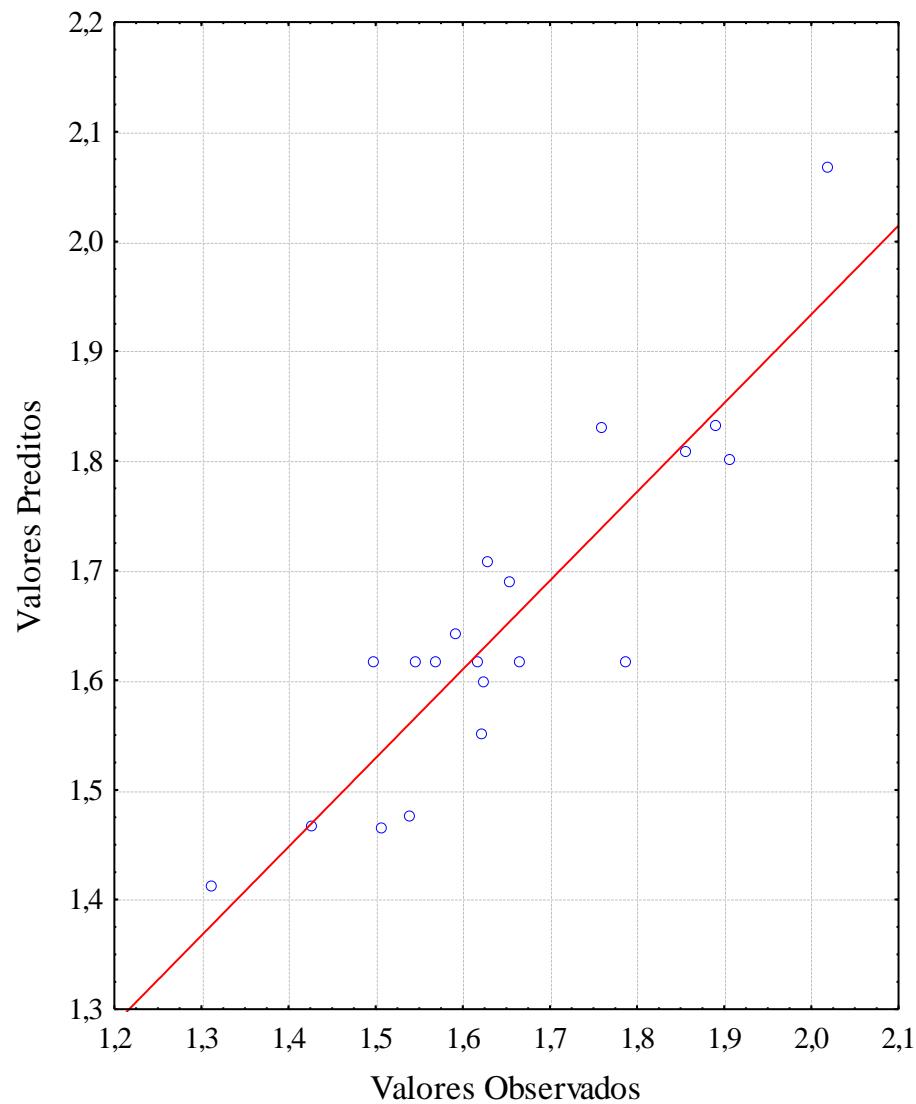


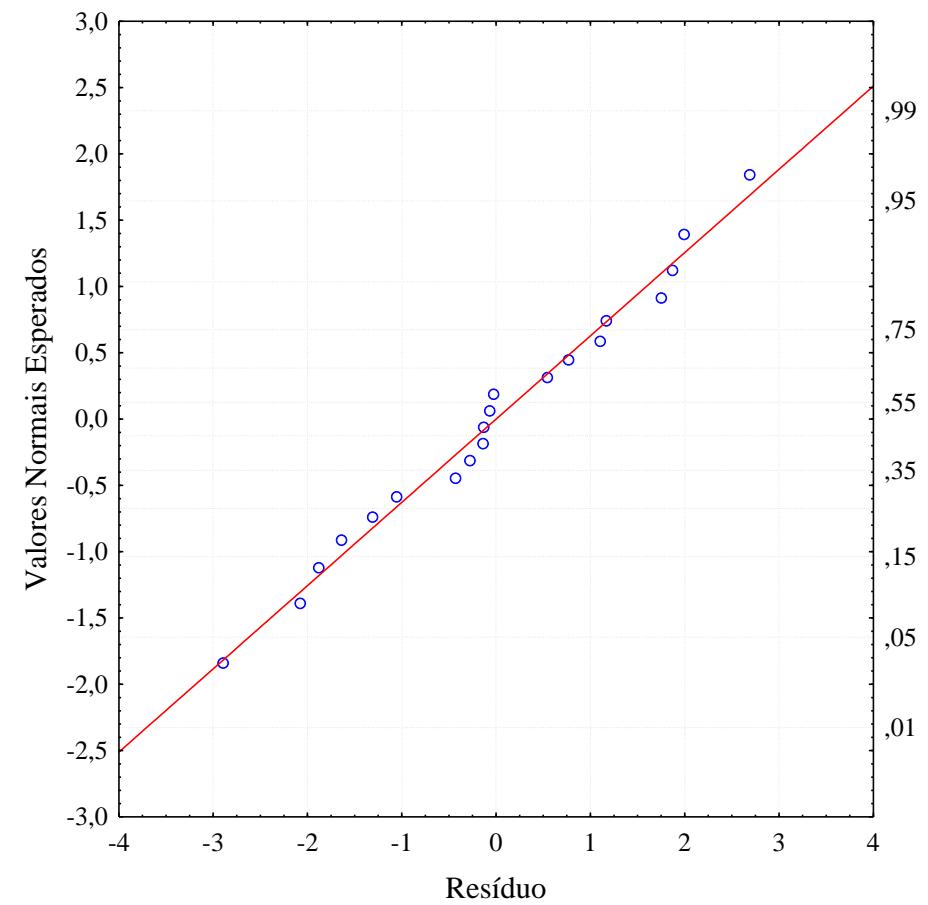
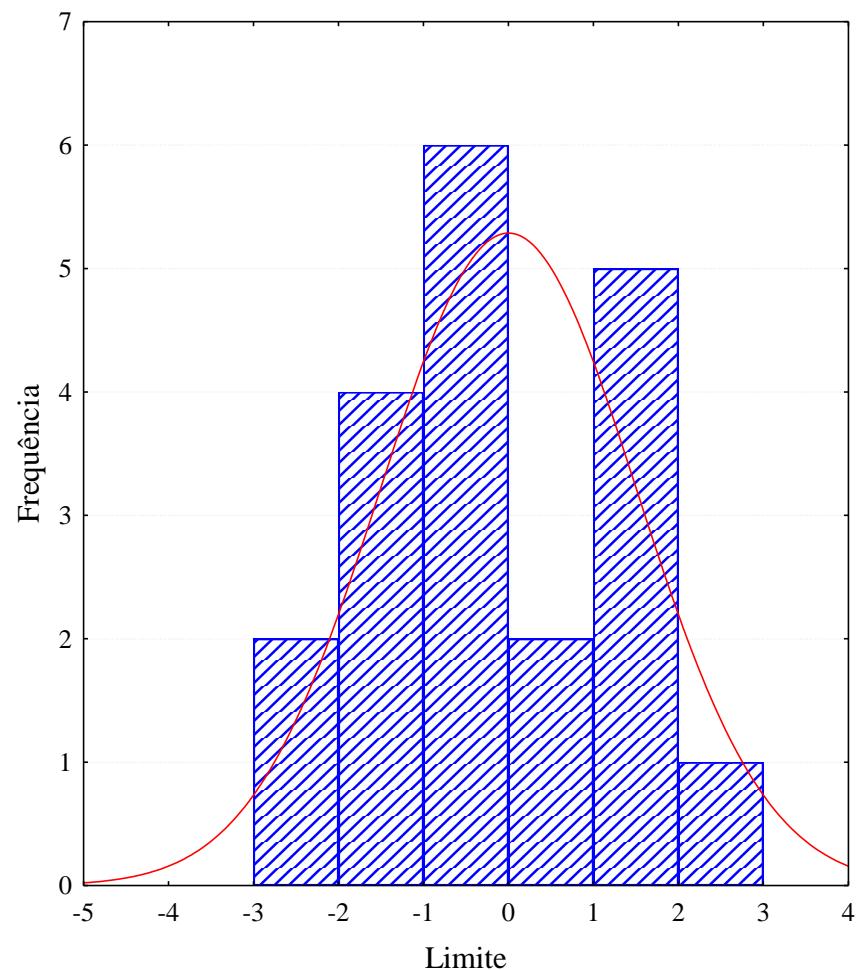


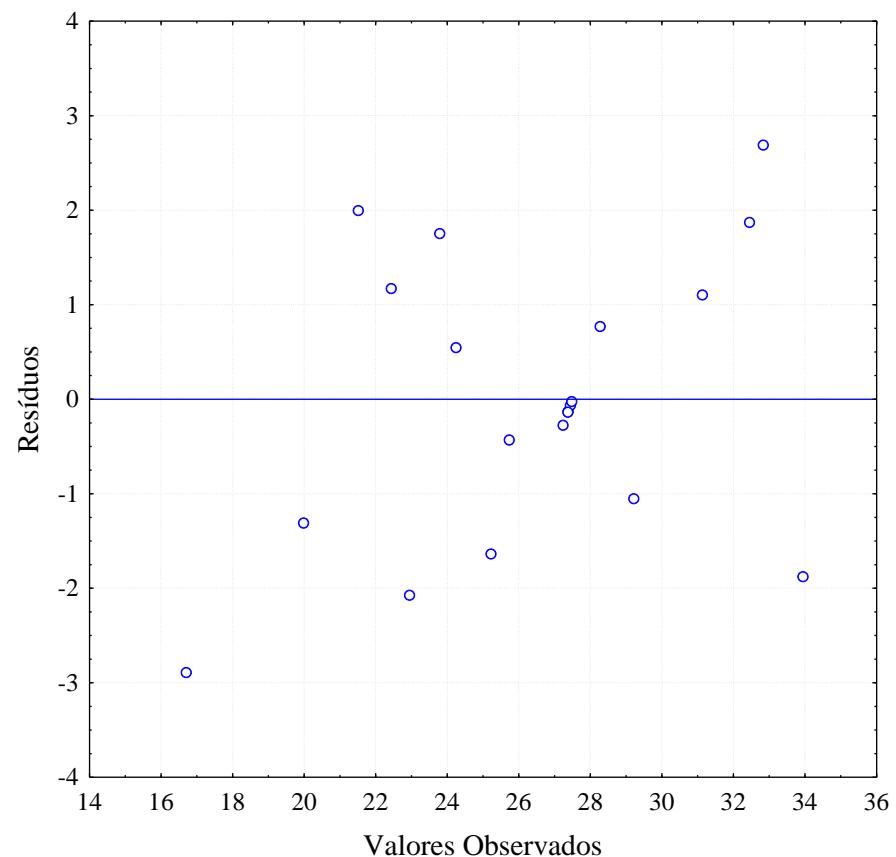
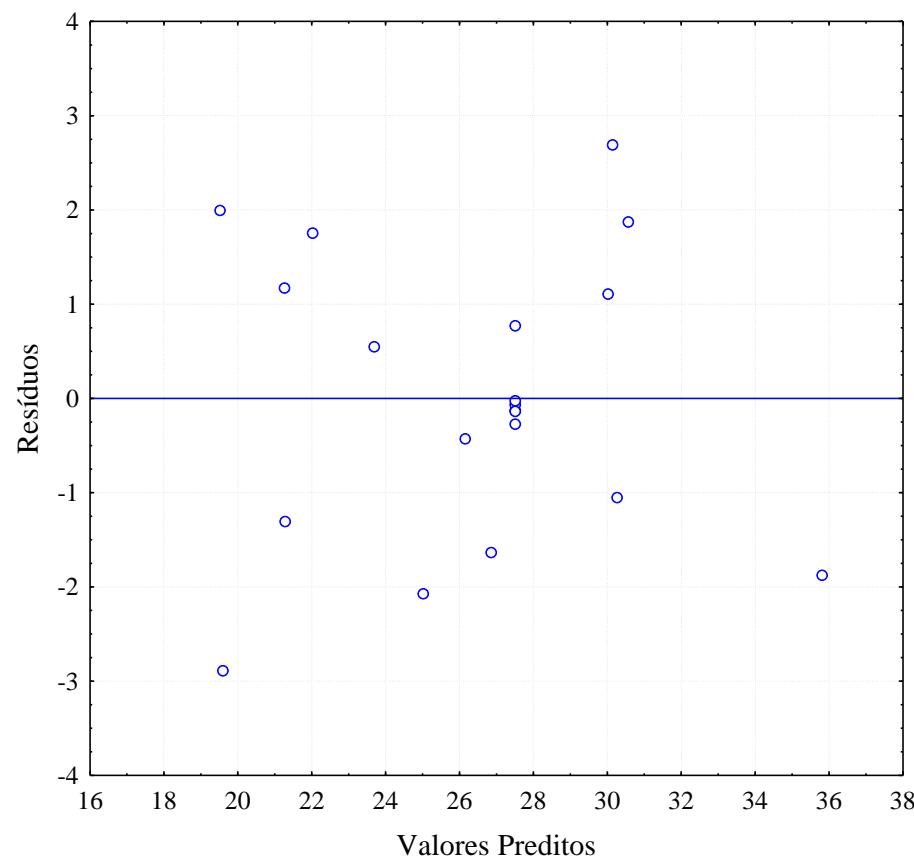
APÊNDICE V – Resíduos da Variação de H (ΔH)

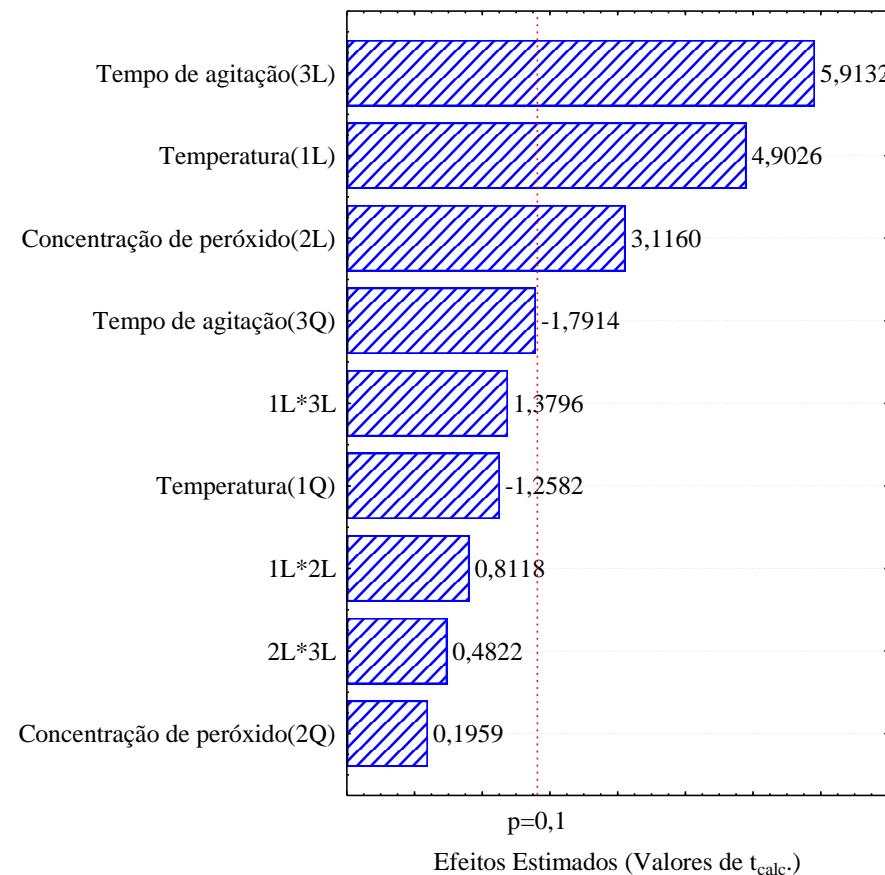
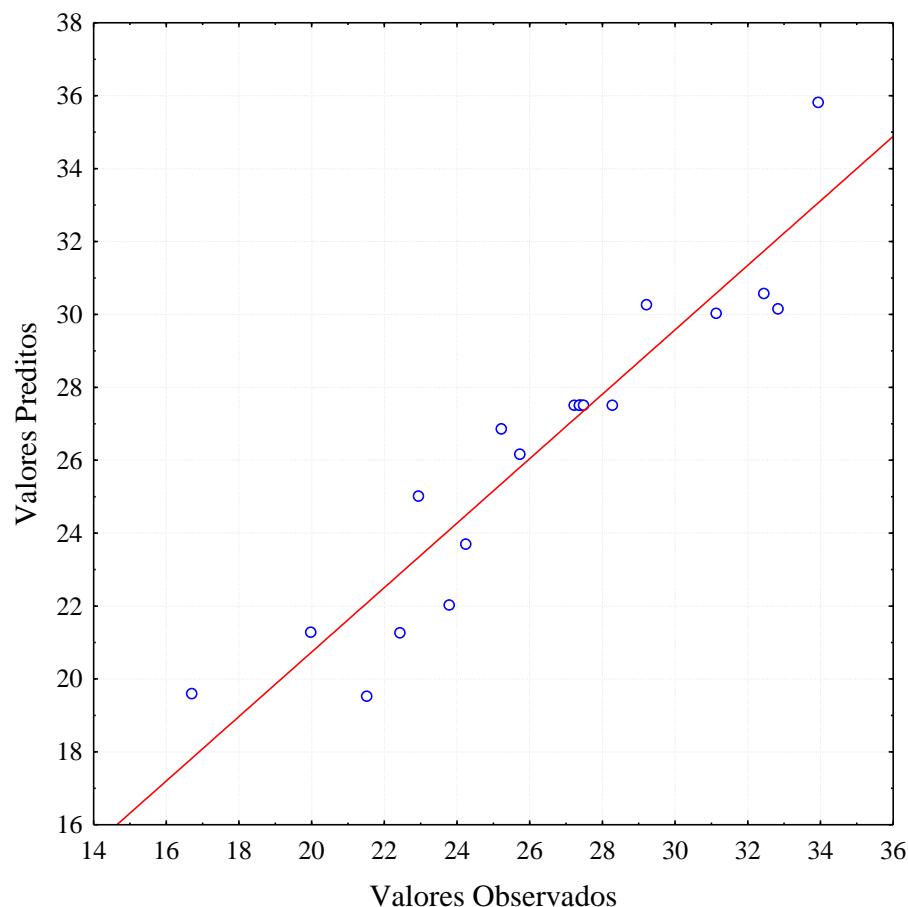


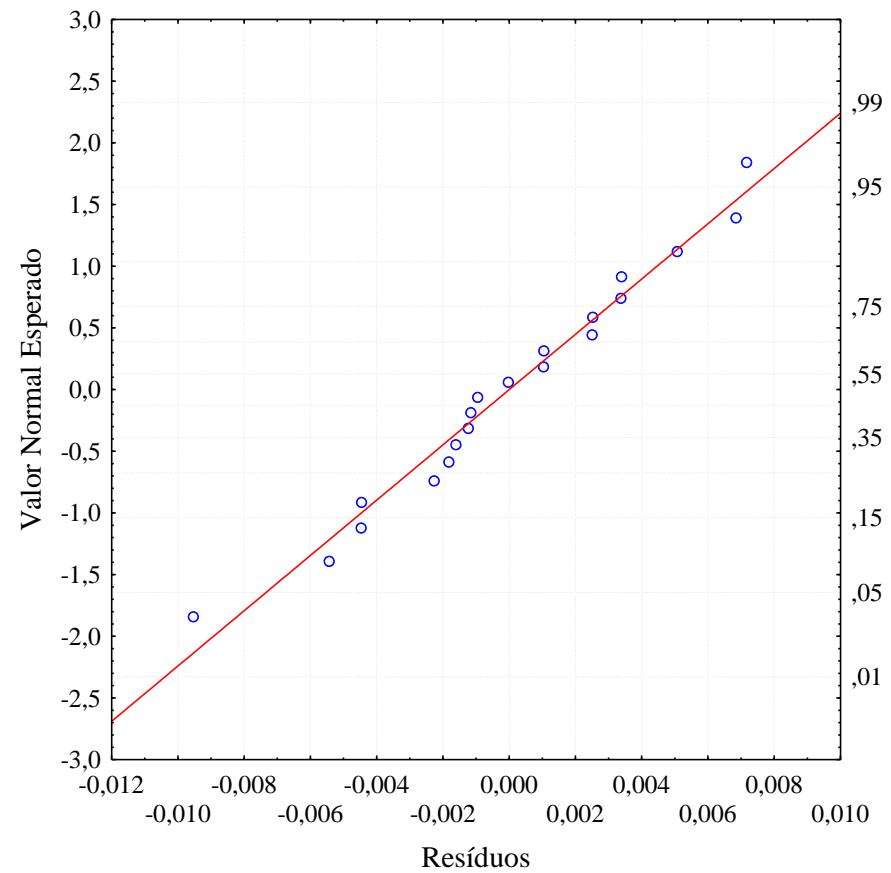
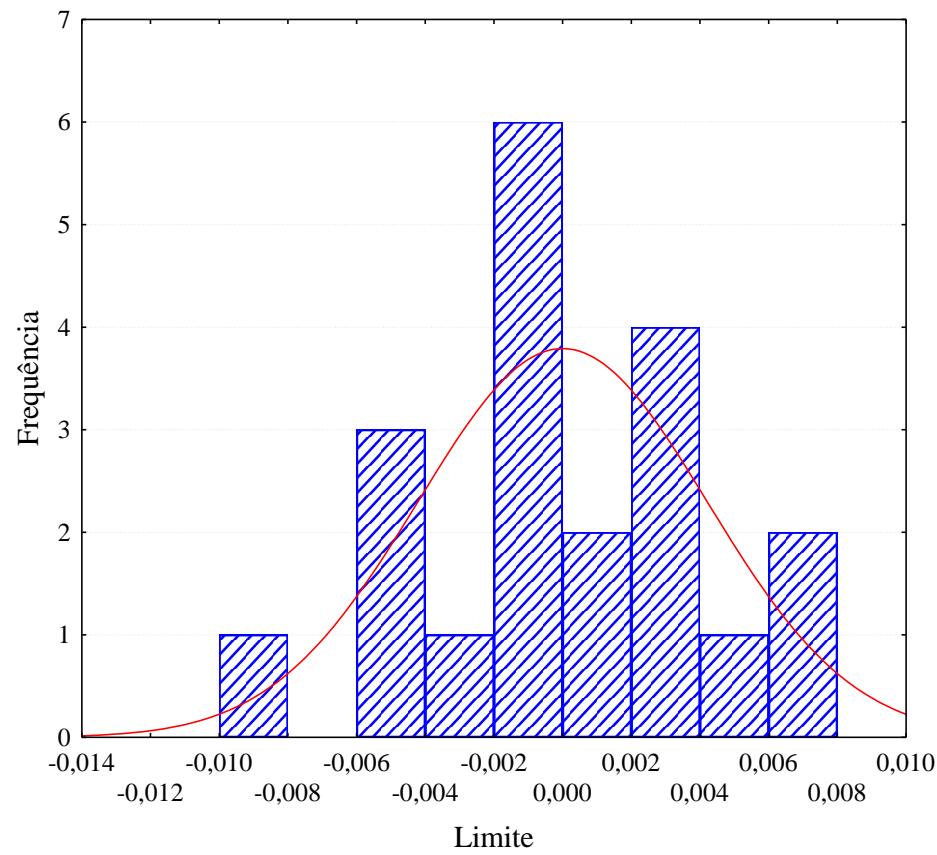


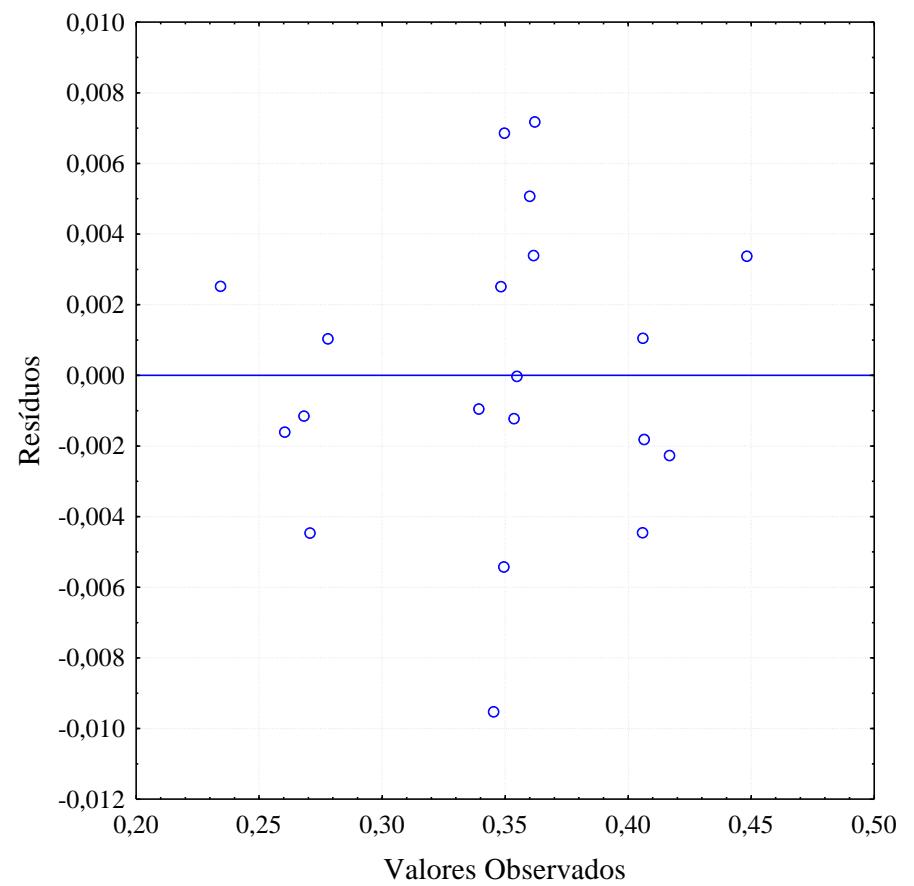
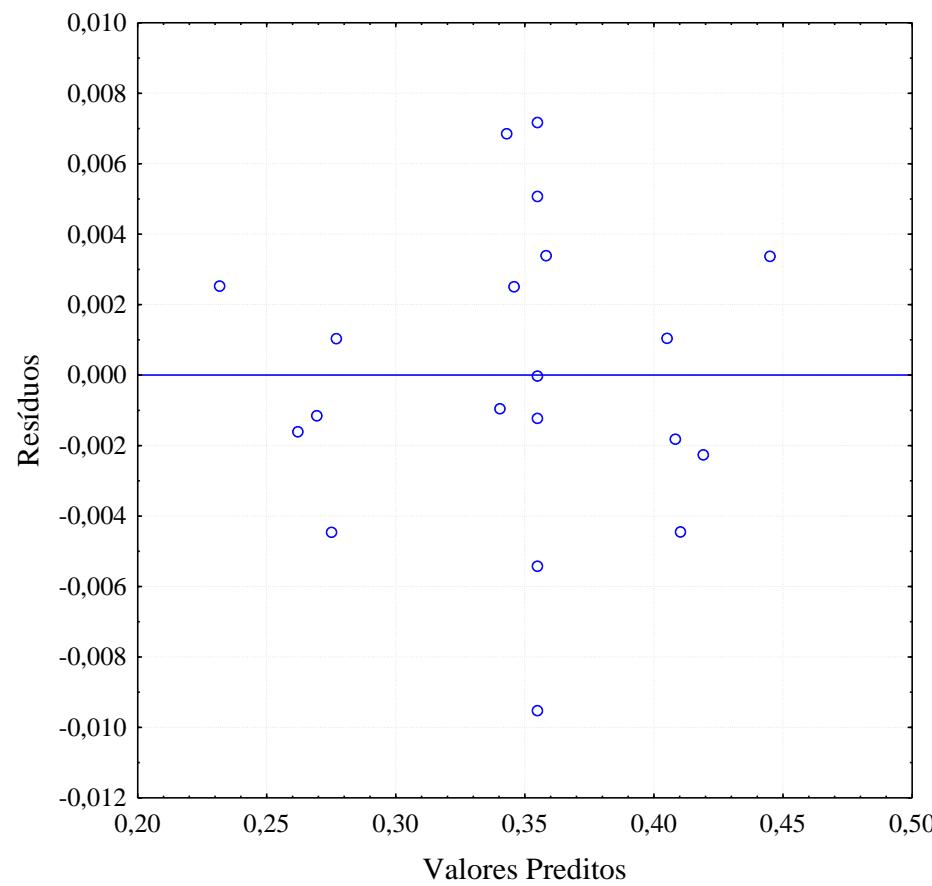


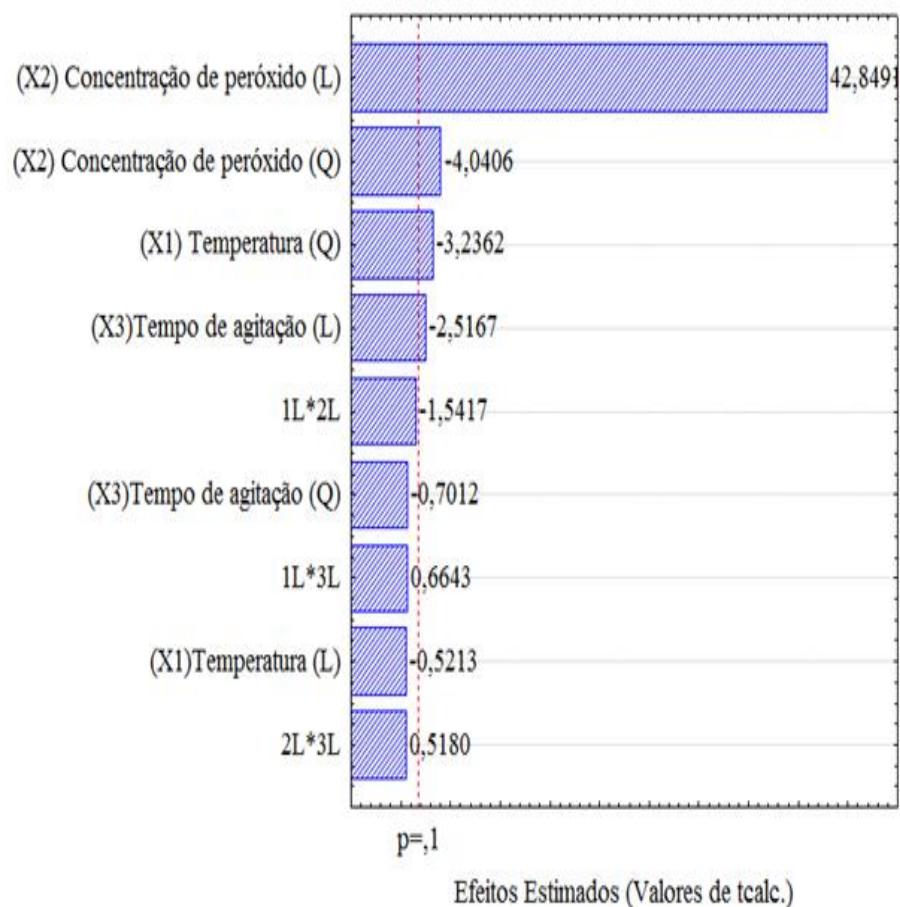
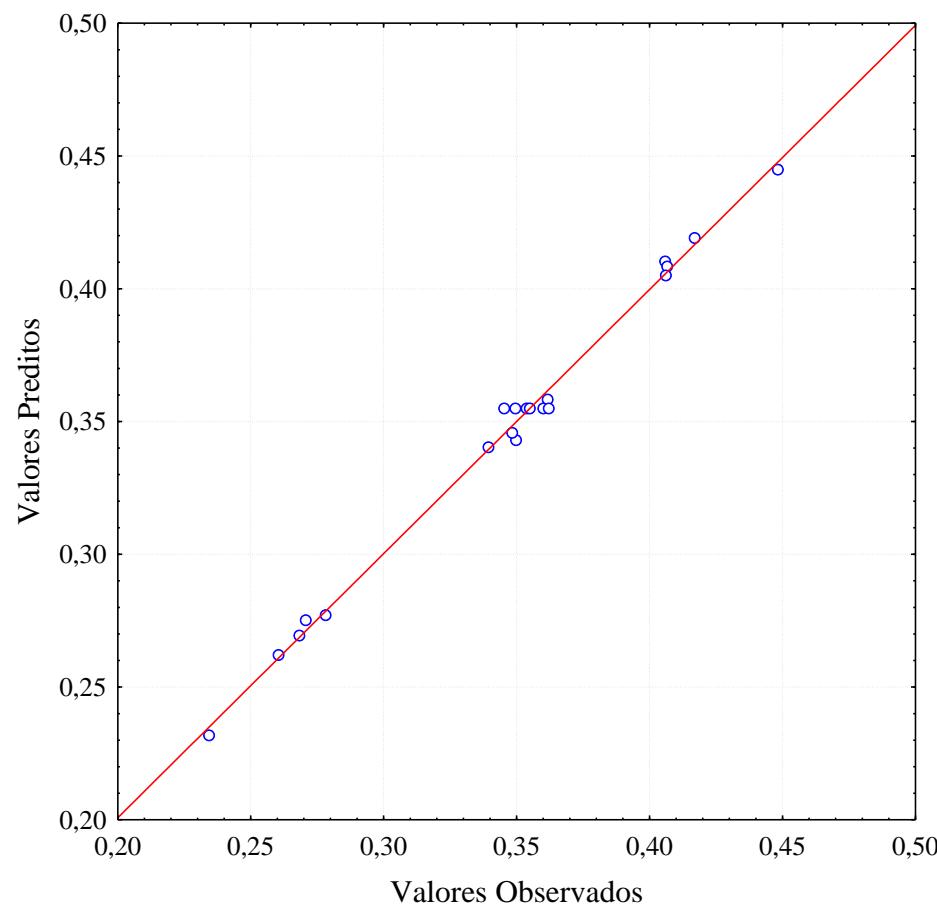
APÊNDICE VI – Resíduos da Variação Total da Cor (ΔE^*)

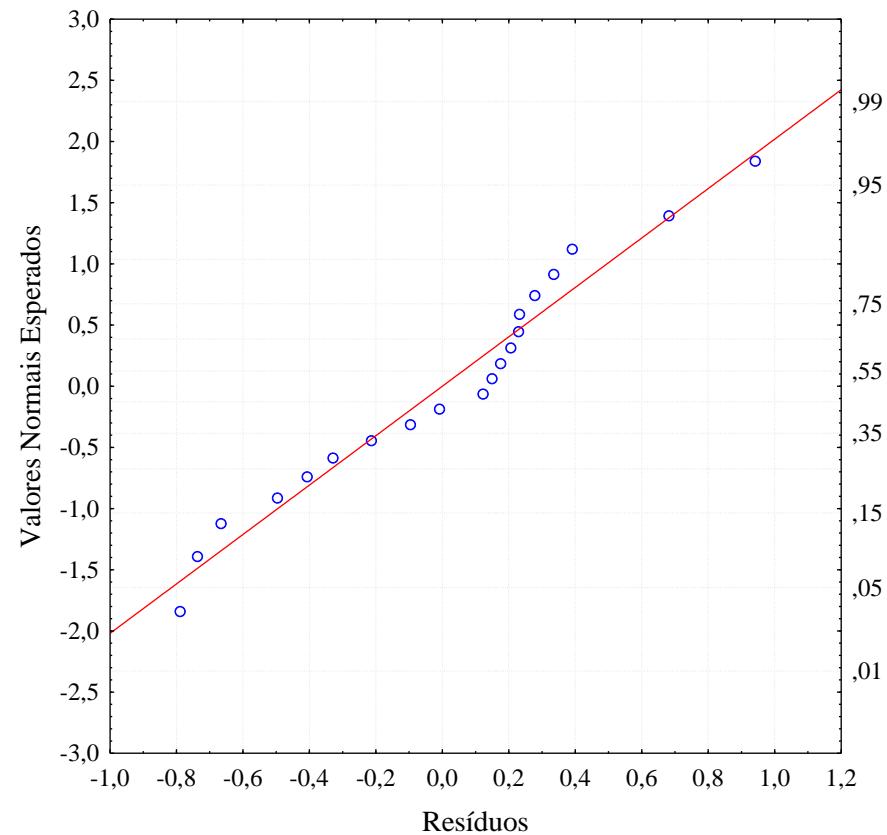
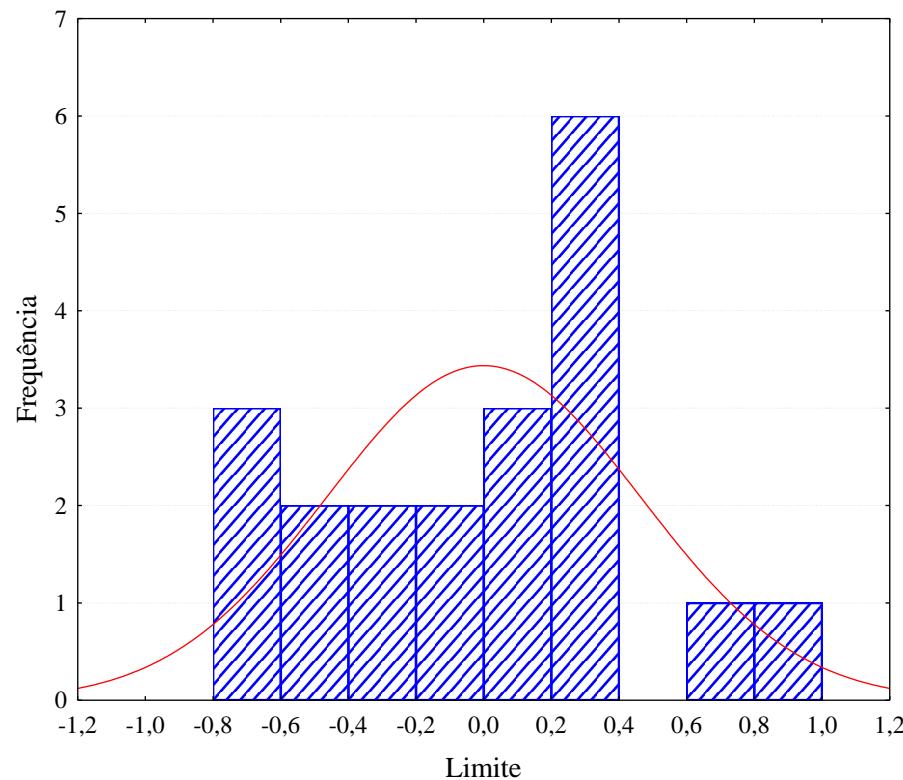


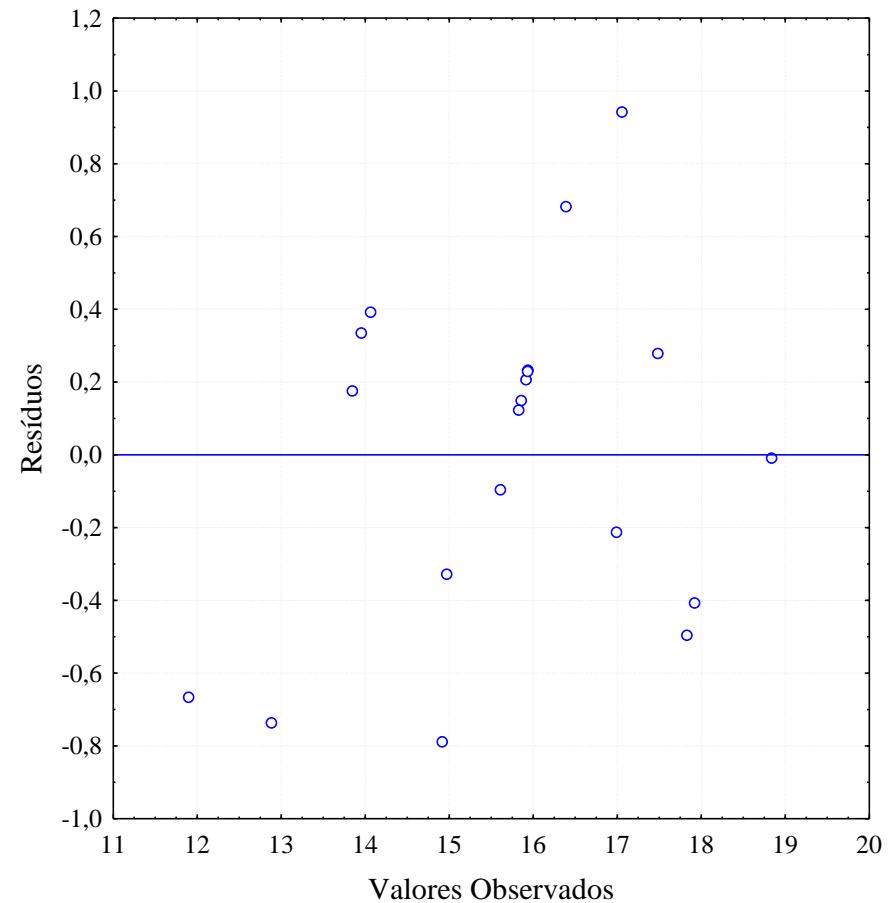
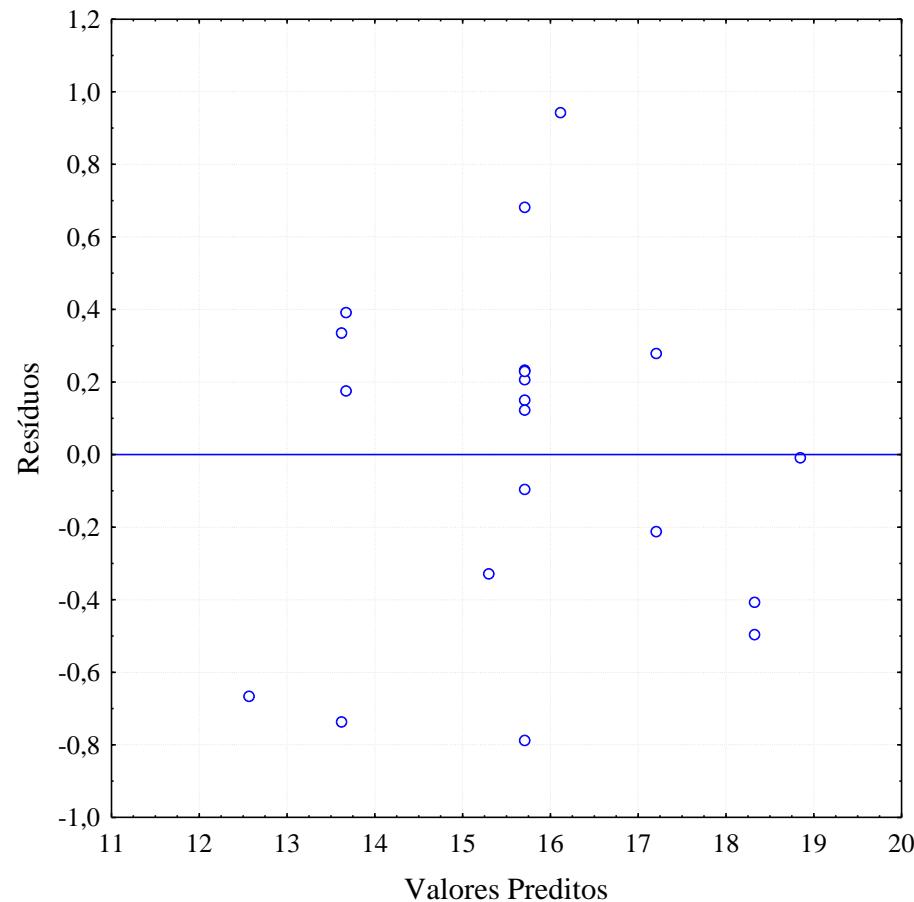


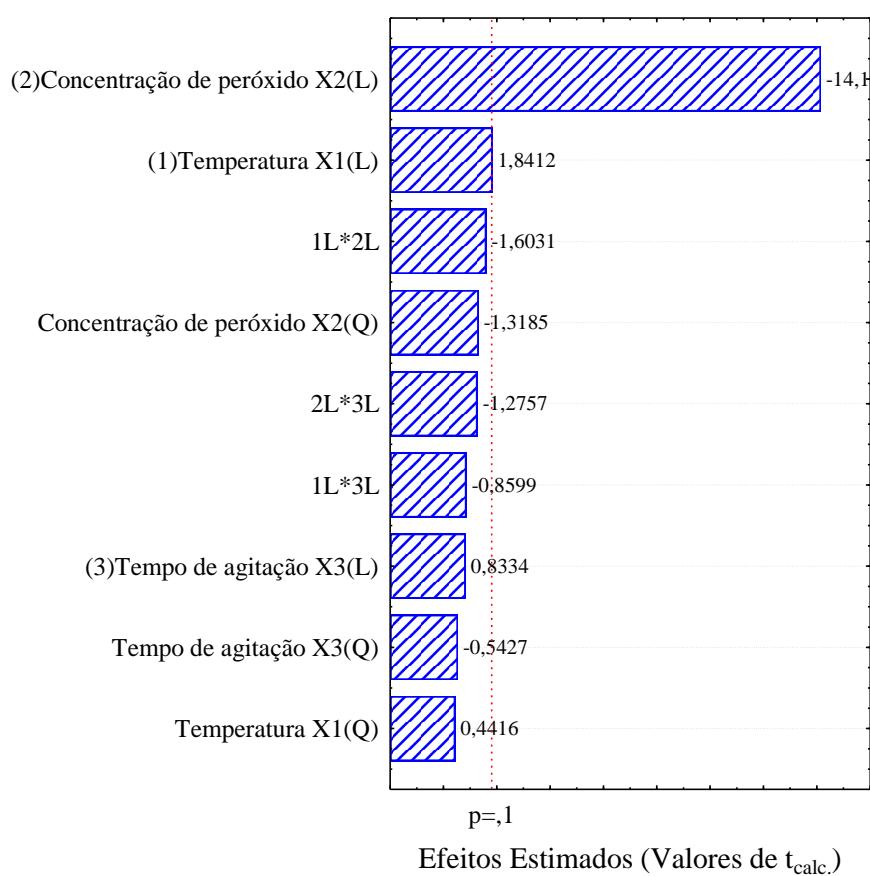
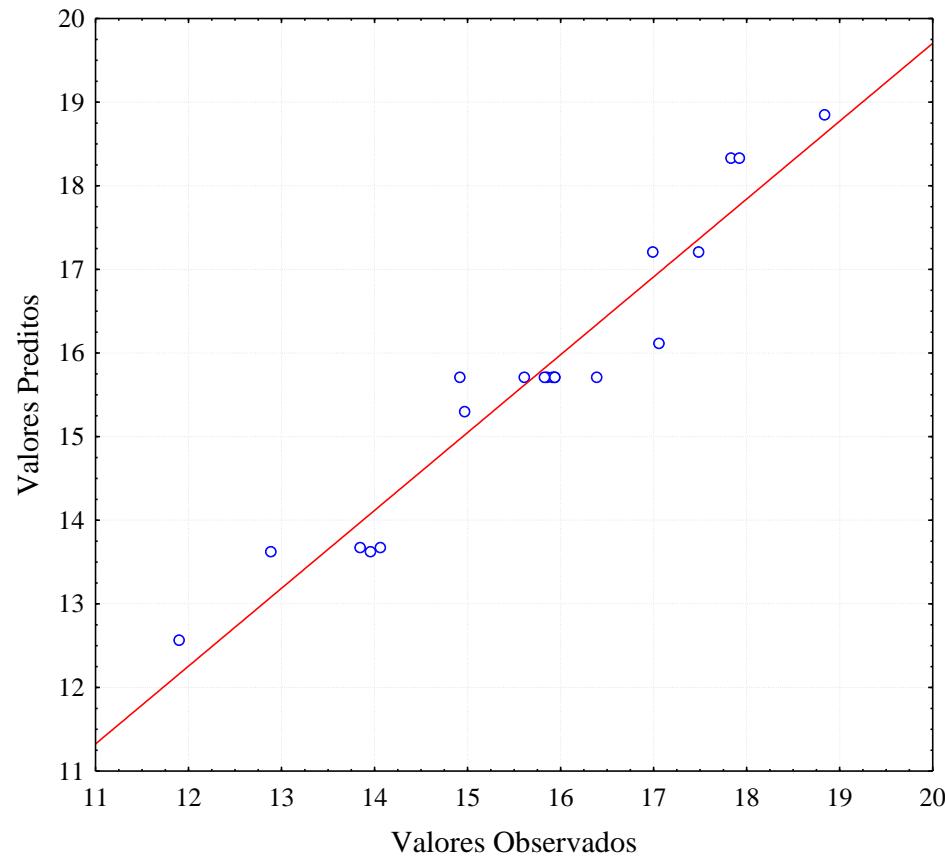
APÊNDICE VII – Resíduos de Atividade de Água





APÊNDICE VIII – Resíduos de Índice de Acidez





APÊNDICE X – Resíduos de Índice de Saponificação