



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACEUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA DE LOS ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
QUIMICA

PATROCINANTE

Sr. Eduardo Castro Montero

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química

DIRECTORES

Sr. Eduardo Castro Montero

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química

Sra. Paz Robert Canales

Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química

**OBTENCIÓN DE UNA BASE GRASA PARA MARGARINA MEDIANTE
INTERESTERIFICACIÓN QUÍMICA Y ENZIMÁTICA DE UNA MEZCLA ACEITE DE
NUEZ-ACEITE DE SOYA *FULL* HIDROGENADO**

Memoria para optar al Título de Ingeniero en Alimentos
de la Universidad de Chile

MARIEL IRMA FARFÁN MARTÍNEZ

Santiago-Chile

Noviembre 2007

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Chile y su Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.

A la profesora Paz Robert, por su apoyo y confianza.

Agradezco especialmente a mi querido profesor Eduardo Castro, por sus consejos, comprensión y paciencia.

Además agradezco toda la ayuda y colaboración de Don Carlos Zamora, Manuel Fonseca y Marta Argomedo del laboratorio de Procesos de Alimentos y al apoyo de mi compañera y amiga Verónica Dueik.

A mis papás que los amo, por su paciencia y apoyo.

A mis hermanas y Omita, por todo el cariño y cuidados.

A Cristián, por todo el apoyo y cariño.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	vi
SUMMARY	vii
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1 Grasas y nutrición.....	9
1.1.1 Ácidos grasos esenciales.....	9
1.1.2 Ácidos grasos <i>trans</i>	10
1.2 Modificación de grasas y aceites	12
1.3 Interesterificación.....	12
1.3.1 Interesterificación química.....	14
1.3.2 Interesterificación enzimática	15
1.4 Aceite de nuez	16
1.5 Aceite de soya full hidrogenado	17
1.6 Elaboración de margarinas	19
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20
2.1 Hipótesis.....	20
2.2 Objetivos.....	20
2.2.1 Objetivos generales	20
2.2.2 Objetivos específicos	20
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1 Materias primas	21
3.1.1 Nueces.....	21
3.1.2 Aceite de soya <i>full</i> hidrogenado	21
3.2 Métodos.....	21
3.2.1 Interesterificación química.....	21
3.2.2 Interesterificación enzimática	22
3.3 Diseño experimental	23
3.3.1 Contenido de grasa sólida (CGS).....	24
3.4 Optimización de la reacción	24
3.5 Análisis fisicoquímicos de las muestras óptimas	24
3.5.1 Contenido de grasa sólida (CGS).....	24
3.5.2 Punto de fusión promedio	24
3.5.3 Humedad	24
3.5.4 Ensayos de compresión	24
3.5.5 Acidez libre	25
3.5.6 Índice de peróxido.....	25
3.5.7 Perfil de ácidos grasos	25
3.5.8 Perfil de triglicéridos.....	25
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
4.1 Interesterificación Química	25
4.2 Interesterificación Enzimática.....	26
4.3 Interesterificación Química vs Interesterificación Enzimática.....	28
4.4 Producto Óptimo	31
4.4.1 Análisis Fisicoquímicos.....	33
5. CONCLUSIONES	38
6. BIBLIOGRAFÍA.....	39
Anexo I	44

Anexo II 45
Anexo III 46
Anexo IV 47
Anexo V 48
Anexo VI 49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Representación de ácidos grasos oleico, elaidico y esteárico: resaltando los isómeros <i>cis</i> y <i>trans</i>	11
Figura 2: TAGs formados tras la interesterificación de dos moléculas de TAG	13
Figura 3: Esquema del sistema de interesterificación química y enzimática	22
Figura 4: Curvas de CGS para muestras interesterificadas químicamente de diferente composición/temperatura de reacción.....	26
Figura 5: Curvas de CGS para muestras interesterificadas enzimáticamente de diferente composición/tiempo de reacción	28
Figura 6: Curvas de CGS para muestras de 30% ASH interesterificadas enzimáticamente y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción	29
Figura 7: Curvas de CGS para muestras de 50% ASH interesterificadas enzimáticamente y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción	29
Figura 8: Curvas de CGS para muestras de 70% ASH interesterificadas enzimáticamente y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción	30
Figura 9: Superficie de respuesta para interesterificación química	31
Figura 10: Superficie de respuesta para interesterificación enzimática	31
Figura 11: Curvas de CGS para muestras óptimas interesterificadas química y enzimáticamente	33

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición porcentual de ácidos grasos de aceite de nuez	16
Tabla 2: Composición porcentual de ácidos grasos ASH.....	18
Tabla 3: Diseño factorial 3 ² para interesterificación química y enzimática.....	23
Tabla 4: Composición y condiciones de reacción para mezclas óptimas obtenidas por interesterificación química y enzimática	32
Tabla 5: Características fisicoquímicas de las muestras óptimas.....	34
Tabla 6: Perfil de ácidos grasos porcentual de mezclas óptimas	36
Tabla 7: Perfil de TAG porcentual de mezclas óptimas.....	37

RESUMEN

Los métodos de interesterificación química y enzimática han sido estudiados y utilizados para modificar materias grasas. Permiten alterar la estructura de los triacilglicérols, incorporar ácidos grasos de interés nutricional y así satisfacer requerimientos nutricionales. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de las condiciones de interesterificación en las características físicas del producto obtenido.

Se interesterificó mezclas de aceite de nuez-aceite de soya *full* hidrogenado (ASH) utilizando metóxido de sodio (1%) y lipasa (5%) para catalizar las reacciones química y enzimática, respectivamente. Se estudió el efecto de la temperatura de proceso (70, 85 y 100°C) para la interesterificación química, el tiempo de reacción (1, 3 y 5 h) para la interesterificación enzimática y la composición de las mezclas (30, 50 y 70% ASH) para ambos métodos en el contenido de grasa sólida (CGS). Se realizó una optimización multirespuesta para imitar el perfil de fusión de una base para margarina comercial.

La composición modifica el CGS en ambos métodos mientras que la temperatura de reacción no tiene un efecto significativo en la interesterificación química. Las condiciones óptimas de interesterificación son 70°C por 3,12 h para la interesterificación enzimática y 72,3°C por 1 h para la interesterificación química.

La composición es la variable más importante que determina el CGS en ambos métodos de interesterificación, los cuales pueden ser usados para modificar las propiedades físicas de mezclas aceite de nuez-aceite de soya *full* hidrogenado y obtener bases para margarina con bajo contenido en ácidos grasos *trans*.

SUMMARY

Obtaining of a margarine basis by chemical and enzymatic interesterification of walnut oil-full hydrogenated soybean oil blend

Chemical and enzymatic interesterification has been used to change the structure of a triacylglycerol and to satisfy nutritional requirement. The aim of this work was to study the effect of chemical and enzymatic interesterification conditions on the physical characteristics of the obtained product.

We interesterified full hydrogenated soybean oil (FHSO) and walnut oil blends and used sodium methoxide (1%) and lipase (Granozyme LT IM; 5%) to catalyze chemical and enzymatic interesterification, respectively. The effect of process temperature (70, 80 and 100°C) in chemical interesterification, time of reaction (1, 3 and 5 h) in enzymatic interesterification and composition (30, 50 and 70% of FHSO) in both methods on the melting profile (solid fat content) of interesterified blends were evaluating. To imitate the melting profile of a comercial fat basis of a margarine, a multiresponse optimization was making.

Under our working conditions, blends composition modified the solid fat content in both methods and have a significative effect in the reaction rate on enzymatic interesterification. A low content of FHSO cause a slower reaction. There were no differences between 70, 85 and 100°C chemically interesterified blends. In order to imitate a comercial basis of margarine, composition was set to 58,8% FHSO and 70 °C for 1 hour for chemical interesterification and 55,6% FHSO for 3,12 hours at 70°C for enzymatic interesterification. The optimum enzymatically interesterified blends obtained higher desirability or similarity with comercial basis than optimum blends by chemical interesterification.

Composition was the most important variable to determinate solid fat content in both methods. They can be used to modify physics properties of blends to obtain a zero *trans* margarine base.

1. INTRODUCCIÓN

Los lípidos han sido identificados como componente fundamental de la dieta, junto a proteínas y carbohidratos, constituyen una fuente concentrada de energía. Aportan cerca del 40% del total de la ingesta calórica en una dieta occidental, y de ácidos grasos esenciales; además participan en la absorción de nutrientes como las vitaminas liposolubles (Bowman y Russell, 2003; Mu y Høy, 2004).

La mayoría de las grasas y aceites no modificados tienen aplicaciones limitadas; para ampliar sus usos se pueden modificar químicamente, por hidrogenación o interesterificación, o físicamente por mezcla o fraccionamiento (Rodrigues y Gioielli, 2003; Fattahi-far *et al.*, 2006; Noor Lida *et al.*, 2006).

Desde la aparición de las margarinas, éstas han sido un serio competidor de las mantequillas y su producción ha evolucionado en el tiempo. Inicialmente se obtenían fraccionando sebo por cristalización y luego mezclando con leche descremada. Posteriormente se elaboraron mediante hidrogenación parcial de grasas vegetales. Actualmente, el Codex Alimentarius (1989) define margarina como una emulsión líquida o plástica (w/o), obtenida sobre todo a partir de grasas y aceites comestibles que no proceden de la leche (Bailey's, 1964; Zhang *et al.*, 2004; Litz *et al.*, 2006)

Los consumidores han tomado conciencia de la relación entre la salud humana y las propiedades nutricionales de los alimentos y una dieta balanceada. La mayoría de las preocupaciones respecto al consumo de lípidos se centran en las grasas saturadas y los ácidos grasos *trans*, compuestos de similar estructura y con demostrados efectos fisiológicos adversos (Willis *et al.*, 1998; Rodrigues y Gioielli, 2003).

En los últimos años se ha producido un incremento en la demanda de alimentos que ofrezcan beneficios además de estar asociados con la nutrición. Los alimentos funcionales son aquellos aparentemente similares a los convencionales; consumidos como parte de una dieta normal y con demostrados efectos metabólicos o fisiológicos, más allá de los nutricionales. Recientemente, con un mayor entendimiento sobre el efecto del largo de cadena, grado de insaturación y distribución posicional de los ácidos grasos en el metabolismo, ha focalizado el uso de los lípidos tanto en el tratamiento como en la prevención y mejora de enfermedades (Willis *et al.*, 1998; Rodrigues y Gioielli, 2003).

1.1 Grasas y nutrición

Los lípidos han sido identificados como componente fundamental de la dieta; su fracción cuantitativamente más importante es la de los triacilgliceroles (Mu y Høy, 2004).

1.1.1 Ácidos grasos esenciales

Estudios realizados en la década del '60, en los cuales se observaban signos clínicos de deficiencia en lactantes alimentados con fórmulas basadas en leche descremada o vía nutrición parenteral sin lípidos, demostraron la real importancia de ciertos ácidos grasos. Los ácidos alfa linolénico (C18:3 ω -3) y linoleico (C18:2 ω -6) son considerados esenciales ya que deben ser suministrados en la dieta, dado que el organismo los requiere pero no puede sintetizarlos. Los humanos carecen de las enzimas que introducen dobles enlaces a los átomos de carbono más allá del carbono 9 en la cadena de un ácido graso. (Uauy y Valenzuela, 2000; Lorgeril y Salen, 2004).

Después de la ingesta, los ácidos grasos esenciales de 18 carbonos, linoleico y linolénico, pueden ser elongados y desaturados hasta ser convertidos a ácidos grasos poliinsaturados de cadena muy larga, formando ácidos grasos altamente especializados tales como ácido eicosapentanoico (EPA, C20:5 ω -3), docosahexanoico (DHA, C22:6 ω -3) y araquidónico (AA, C20:4 ω -6) (Lorgeril y Salen, 2004; Wijendran y Hayes, 2004).

Las familias de ácidos grasos ω -3 y ω -6 son requeridos en funciones fisiológicas normales relacionadas con la integridad de la membrana y señales de regulación celular. Tienen una importante influencia en los lípidos plasmáticos y en las funciones cardíaca y endotelial, con impacto en la prevención y tratamiento de enfermedades coronarias crónicas (Wijendran y Hayes, 2004).

Durante las últimas dos décadas se ha demostrado la esencialidad de los ácidos grasos ω -3 para el desarrollo neuronal y salud cardiovascular. Estudios epidemiológicos indican que el ácido linolénico puede ser importante en relación con la patogénesis y prevención de enfermedades cardíacas; asociando un alto contenido de ácido linolénico en el tejido adiposo con menor riesgo de infarto al miocardio (Uauy y Valenzuela, 2000; Lorgeril y Salen, 2004; Wijendran y Hayes, 2004).

Relativamente pequeñas cantidades de éstos ácidos grasos son requeridas en la dieta para satisfacer las necesidades de adultos sanos. Se sugiere que una ingesta de alrededor de 6% de ácido linoleico, 0,75% de ácido linolénico (cerca a 2 g/día) y 0,25-0,5% de EPA+DHA debe ser adecuada para la mayoría de los adultos sanos (% en base al total de calorías consumidas diariamente). Esto corresponde a una razón de ω -6/ ω -3 de ~6:1, balance que es un factor crítico para la salud cardiovascular. A excepción de algunas algas y otros productos marinos, las principales fuentes de ácido α -linoleico (ALA) en nuestra dieta son aceites de canola y soya (aceites y margarinas en base de estos aceite) además de frutos secos, en que entre 3 y 5 g de nueces por día son necesarios para satisfacer las necesidades (Lorgeril y Salen, 2004; Wijendran y Hayes, 2004).

1.1.2 Ácidos grasos *trans*

Es conocido que la hidrogenación parcial de ácidos grasos insaturados genera isómeros de posición y geométricos. Los ácidos grasos *trans*, aparecen en la alimentación humana principalmente generados por éste proceso de endurecimiento industrial de aceites comestibles, y en menor proporción, por hidrogenación bacteriana de ácidos grasos poliinsaturados en el proceso digestivo de los rumiantes, por la acción de enzimas y por efecto del calor (Tsanev *et al.*, 1998; Wagner *et al.*, 2000; Stender y Dyerberg, 2004).

Durante la hidrogenación parcial algunos dobles enlaces de los ácidos grasos son saturados, pero parte de los dobles enlaces *cis* son isomerizados a su forma *trans*. En éste proceso se forman ácidos grasos *trans* predominantemente monoinsaturados, de los cuales el ácido elaidico (C18:1 ω -9 *trans*) es el mayor componente; en la Figura 2 se presenta una comparación de los ácidos grasos de 18 carbonos saturados y monoinsaturados *cis* y *trans*. La hidrogenación bacteriana en el rumen resulta principalmente en la formación de ácido vaccenico (C18:1 ω -11 *trans*) pero también en el isómero del ácido linolénico (ácido linolénico conjugado, C18:2 ω -9 *cis*, ω -11 *trans*) (Alonso *et al.*, 2000; Stender y Dyerberg, 2004).

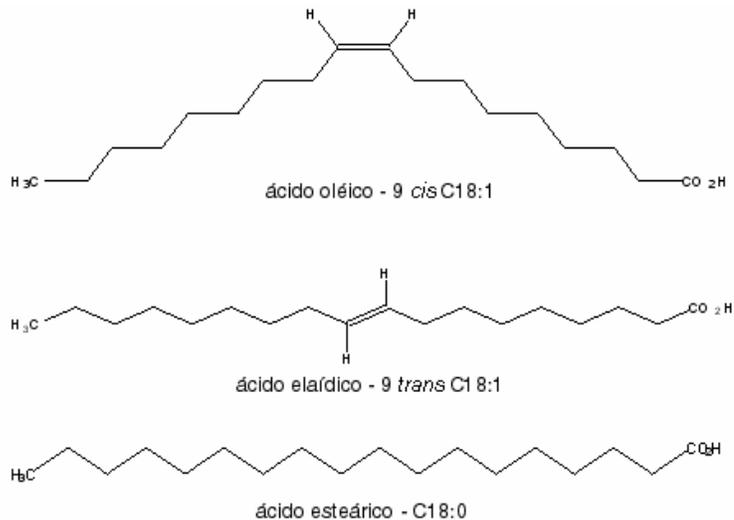


Figura 1. Representación de ácidos grasos oleico, elaidico y esteárico, resaltando los isómeros *cis* y *trans* (Vasconcelos *et al.*, 2006).

En el pasado, la formación de los ácidos grasos *trans* era industrialmente beneficiosa, ya que estos ácidos grasos presentan mayores puntos de fusión y mayor estabilidad que sus isómeros *cis*. Por esto, el proceso era usado para mejorar la estabilidad térmica y oxidativa de aceites destinados a fritura y alcanzar la plasticidad y propiedades físicas característicos de *shortenings* y margarinas (Alonso *et al.*, 2000; Wagner *et al.*, 2000).

Estudios metabólicos y epidemiológicos fueron las bases para postular la relación entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y la patogénesis de enfermedades coronarias cardíacas. Los ácidos grasos *trans* aumentan la concentración plasmática de lipoproteínas de baja densidad (LDL), reducen la concentración de las de alta densidad (HDL) y aumentan la relación colesterol total/colesterol HDL comparado con las grasas saturadas. Además, se ha establecido una relación entre la ingesta de ácidos grasos *trans* y una mayor incidencia de infarto al miocardio; siendo esta relación 10 veces mayor que la existente con la ingesta de ácidos grasos saturados. También existen algunas evidencias que soportan otros efectos negativos de los ácidos grasos *trans* en la salud, tales como problemas durante el embarazo (preeclampsia) y con el recién nacido (desarrollo visual y del sistema nervioso central, parto prematuro, bajo peso); además de mayor incidencia de cáncer de seno y colon, y un mayor riesgo de padecer

diabetes *mellitus* tipo II (Tsanev *et al.*, 1998; Alonso *et al.*, 2000; Wagner *et al.*, 2000; Stender y Dyerberg, 2004).

1.2 Modificación de grasas y aceites

La composición en ácidos grasos de los triacilgliceroles (TAGs) tiene un efecto directo en las propiedades físicas, químicas y biológicas de las grasas dietarias. Las características físicas naturales de grasas y aceites pueden ser modificadas, lo que ofrece mayor funcionalidad para un gran número de productos formulados. Además de la mezcla, otras tecnologías han sido utilizadas exitosamente para modificar grasas y aceites, tales como la hidrogenación, fraccionamiento e interesterificación química y enzimática (Alonso *et al.*, 2000; Rodrigues y Gioielli, 2003; Noor Lida *et al.*, 2006).

La mezcla es la modificación más simple, pero muchas veces, su aplicación individual no satisface los requisitos impuestos a los productos grasos. Se requieren otras técnicas de modificación para ser usadas en las mezclas y así cumplir con las especificaciones de los productos a un menor costo. La hidrogenación de aceites vegetales poliinsaturados es frecuentemente menos atractiva debido a la evidencia de que los ácidos grasos *trans* tienen efectos aterogénicos (Noor Lida *et al.*, 2006).

Diferentes métodos de fraccionamiento de grasas han sido desarrollados principalmente con el objetivo de modificar su textura y perfil de fusión. Técnicas de fraccionamiento mediante cristalización por fusión o por solventes, extracción con fluidos supercríticos y destilación molecular, permiten obtener fracciones con propiedades físicas, químicas y nutricionales mejoradas para su uso en alimentos (Willis *et al.*, 1998).

La interesterificación, es un método elegido en la industria de grasas para manipular las propiedades de esparcibilidad y alterar substancialmente las propiedades físicas de las grasas; cuyo uso ha ido en aumento en los últimos años (Rodrigues y Gioielli, 2003).

1.3 Interesterificación

La interesterificación es una reacción que cambia los ácidos grasos en y entre las moléculas de TAGs, produciendo un reordenamiento en su distribución, sin cambiar la composición química; esto se esquematiza en la Figura 1. El intercambio se produce

hasta que se establece un equilibrio, que depende entre otros factores, de la estructura y concentración de los TAGs modificados. Este proceso, uno de los más importantes en la modificación de las características fisicoquímicas de grasas y aceites, modifica la estructura de los TAGs, mejorando las propiedades físicas y nutricionales de los lípidos (Belitz y Grosch, 1997; Karabulut *et al.*, 2004; Klinkerson *et al.*, 2004; Norizzah *et al.*, 2004).

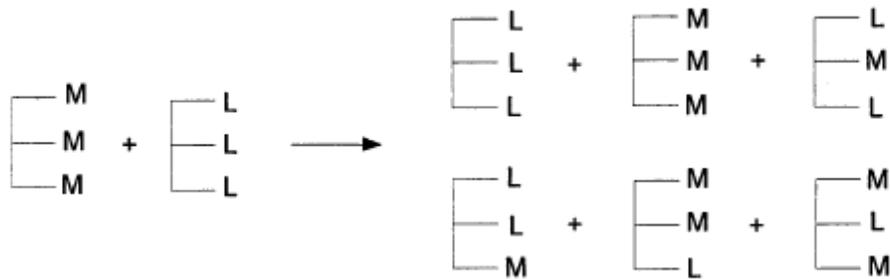


Figura 2: TAGs formados tras la interesterificación de dos moléculas de TAG, en base a Willis *et al.*, (1998).

La redistribución involucrada en la interesterificación, resulta en un producto que conserva la composición de ácidos grasos totales de la mezcla original y altera el perfil de TAG. La interesterificación se ha usado industrialmente para modificar grasas y entregarles propiedades de plasticidad y untabilidad, características deseables en productos como margarinas y *shortening* (Rodrigues y Gioielli, 2003; Norizzah *et al.*, 2004; Houmøller *et al.*, 2006).

La primera vez que en Estados Unidos se utilizó este proceso con fines tecnológicos fue en los años '40; se buscaba mejorar el defecto de arenosidad observada en manteca de cerdo. Ésta característica se debe a la uniformidad de sus TAG (con el ácido palmítico en la posición sn-2), lo que produce la formación de cristales β . La interesterificación de manteca de cerdo elimina su arenosidad al redistribuir aleatoriamente los ácidos grasos en las moléculas de TAG, resultando en la formación de cristales β' , más deseables. Éste cambio indica que los ácidos grasos no se encuentran distribuidos al azar en las moléculas de TAG de las grasas no modificadas (Rodrigues y Gioielli, 2003; Nor Aini y Noor Lida, 2005).

La interesterificación puede ocurrir espontáneamente a muy altas temperaturas (250°C) o bajo la acción de un catalizador; lo cual da origen a la interesterificación química y enzimática. En la primera se utilizan catalizadores químicos, tales como sodio o potasio y sus alcoholatos. La interesterificación enzimática usa como catalizador lipasas, enzimas que hidrolizan los ésteres de ácidos grasos y pueden reaccionar en una posición específica de la molécula sustrato; ambos métodos ofrecen ventajas y desventajas en costo, rendimiento y producción (Amadori, 1995; Belitz y Grosch, 1997, Liu, 2004).

1.3.1 Interesterificación química

La interesterificación química es usada en la elaboración de *shortenings*, margarinas y pastas con el fin de mejorar sus propiedades texturales, modificar su comportamiento de fusión y aumentar su estabilidad. Es una reacción conducida entrópicamente que, en teoría, produce una completa randomización de los grupos acilos en los TAGs. Diferencias en la reactividad de ácidos grasos específicos y variaciones en las velocidades de esterificación, explican la posible randomización incompleta (Willis *et al.*, 1998).

La interesterificación química puede ser inducida por catalizadores químicos tales como metales alcalinos, alcoholatos e hidróxido de sodio con glicerol. Uno de los más utilizados es el metóxido de sodio, el cual se utiliza en concentraciones entre 0,1 y 0,6% (p/p); un aumento en la concentración produce pérdidas debidas a la formación de jabones y metil ésteres. La temperatura que se alcanza en los procesos industriales de interesterificación química pueden llegar a los 200°C, pero los catalizadores de uso común permiten trabajar a 100-50°C (Willis *et al.*, 1998; Liu y Lampert, 1999).

La reacción es comúnmente dividida en tres períodos; inducción, intercambio y término. Durante el periodo de inducción, que puede durar de segundos a minutos, el catalizador de sodio reacciona con los glicéridos para producir un intermediario, compuesto de sodio derivado de un diacilglicerol, comúnmente conocido como "catalizador real"; no hay intercambio de los grupos acilos durante este periodo. La aparición de un color marrón indica que la interesterificación se ha iniciado completamente (Willis *et al.*, 1998; Liu y Lampert, 1999; Liu, 2004). Una vez que el catalizador real se ha formado, el periodo de intercambio comienza. El intercambio de

los grupos acilos continúa hasta alcanzar un equilibrio termodinámico, no encontrándose cambios netos adicionales en la distribución de ácidos grasos. En éste punto la reacción alcanza el tercer periodo de término, el cual usualmente finaliza por extinción con agua para destruir el catalizador real (Liu, 2004).

La efectividad de la interesterificación química es altamente dependiente del estado inicial del aceite. La acidez libre y humedad inicial deben ser menores a 0,1 y 0,01%, respectivamente. Si estos niveles son excedidos, se requieren mayores concentraciones de catalizador debido a que es inicialmente degradado por el agua y usado en la neutralización de los ácidos grasos libres. Durante la interesterificación química se producen bajas concentraciones de ácidos grasos libres y acilgliceroles parciales (Willis *et al.*, 1998).

1.3.2 Interesterificación enzimática

Otro método de interesterificación es el enzimático, se aplica especialmente en casos donde se requiere una composición de triglicéridos bien definida. Los desarrollos actuales en la interesterificación enzimática han dado como resultado la aplicación industrial de este proceso bioquímico. En Europa se utiliza principalmente en la elaboración de productos de alto valor agregado, tales como lípidos estructurados para uso en confitería (Kellens, 2000; O'Brien, 2004).

La modificación enzimática de grasas se realiza utilizando lipasas, lo cual ofrece ventajas y desventajas sobre el proceso químico. Estas enzimas son obtenidas generalmente de bacterias, levaduras y hongos. Las principales ventajas de este método son la especificidad de las lipasas, que puede ser de posición, ya que algunas enzimas actúan sobre las uniones selectivamente; y de sustrato, discriminando según el largo de cadena o grado de insaturación. La segunda ventaja es el mayor control que se tiene sobre el grado de reacción. Las desventajas que presenta este proceso son su menor velocidad de reacción y una sensibilidad más alta para con las impurezas y las condiciones de reacción como pH, temperatura o contenido de agua (Willis *et al.*, 1998; Kellens, 2000; O'Brien, 2004).

La especificidad exhibida por algunas lipasas puede producir diferencias nutricionales en el producto final comparado con el químico. Los aceites de pescado y algunos vegetales contienen altas concentraciones de ácidos grasos esenciales, los que

usualmente se ubican en la posición sn-2. En el intestino delgado, los monoacilgliceroles en la posición 2 son más fácilmente absorbidos que en las posiciones 1 y 3. Una interesterificación catalizada por lipasa 1,3 estereoespecífica puede ser usada para alterar la composición de ácidos grasos en esas posiciones, satisfaciendo las necesidades estructurales, mientras que la posición 2 es retenida. Sin embargo, la retención y mejora en el contenido de ácidos grasos beneficiosos en la posición sn-2 no puede ser alcanzada por interesterificación química, debido a la completa randomización de los ácidos grasos en los TAGs (Willis *et al.*, 1998).

1.4 Aceite de nuez

La nuez es conocida y consumida desde varios miles de años; originaria de Asia Central y del Sudeste de Europa, existen más de quince variedades de la familia de las Juglanáceas, pero la más apreciada es la *Juglans Regia*. Las nueces son ricas en aminoácidos esenciales específicos, minerales como magnesio y cobre, fibra y compuestos presentes en el aceite tales como fitoesteroles y vitamina E (Chisholm *et al.*, 2005; Fundación Nucis, 2005).

Tabla 1. Composición porcentual de ácidos grasos de aceite de nuez.

Ácido graso	Contenido (%)
C16:0 Ác. Palmítico	8,0
C18:0 Ác. Esteárico	3,4
C20:0 Ác. Eicosanoico	trazas
Total Saturados	11,4
C16:1 Ác. Palmitoleico	trazas
C18:1 Ác. Oleico	17,3
Total Monoinsaturados	17,3
C18:2 n-6 Ác. Linoleico	60,0
C18:3 n-3 Ác. Linolénico	11,3
Total Poliinsaturados	71,3

Fuente: Masson y Mella, 1985.

En Francia el aceite de nuez ha sido utilizado como una alternativa al aceite de oliva para aderezo de ensaladas. Las nueces, tanto como otros frutos secos, han sido estudiados con el fin de evaluar sus posibles beneficios nutricionales, especialmente los relacionados a un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares (Oliveira *et al.*, 2002; Amaral *et al.*, 2004).

El contenido de lípidos de las nueces (*Juglans regia* L.) puede variar entre un 52 y 70%, dependiendo del cultivo, lugar de crecimiento y tasa de irrigación. Los principales ácidos grasos encontrados en el aceite de nuez se especifican en la Tabla 1, entre los que destacan los ácidos linoleico, oleico y linolénico; éste último considerado el más valioso para la salud humana, ya que una apropiada composición de ácidos grasos de la dieta, puede ser un factor determinante del riesgo de enfermedades cardiovasculares (Oliveira *et al.*, 2002; Chisholm *et al.*, 2005).

Ensayos de alimentación han demostrado el efecto reductor del colesterol de dietas suplementadas con nueces (fruto y aceite), almendras, avellanas y otros frutos secos, en comparación con una dieta occidental o baja en grasas. En comparación con una dieta mediterránea control, las nueces redujeron el colesterol y mejoraron la función endotelial. Éstas ventajas provienen de los altos niveles de ácidos mono y poliinsaturados (ω -3 y ω -6) y posiblemente del contenido de tocoferoles (Oliveira *et al.*, 2002; Chisholm *et al.*, 2005).

1.5 Aceite de soya *full* hidrogenado

Desde un punto de vista químico, la hidrogenación de grasas y aceites es una reacción química en la cual se agrega hidrógeno a los dobles enlaces de los TAGs. Para que la hidrogenación ocurra se requiere de un aceite insaturado, hidrógeno gaseoso y un catalizador, comúnmente níquel. La hidrogenación se realiza por dos razones; la primera busca cambiar las propiedades físicas de grasas y aceites, y obtener características de manejo adecuadas a los requerimientos. La segunda razón es incrementar la estabilidad oxidativa del aceite insaturado (Kellens, 2000; O'Brien, 2004).

La consistencia de mezclas hidrogenadas está dada por las propiedades físicas del producto a elaborar. Esto determina el grado de hidrogenación a alcanzar y con ello el tipo de catalizador y las condiciones de proceso, y las materias primas que se

utilizarán. Industrialmente se elaboran algunos productos que cubren un amplio rango de requerimientos, y el objetivo puede ser:

- Producir un producto líquido o semi-líquido mediante remoción de sólo los enlaces dobles más reactivos y así mejorar la estabilidad oxidativa.
- Obtener una grasa sólida oxidativamente estable, con un perfil de fusión relativamente lento, apto para producir una margarina clásica mediante hidrogenación parcial de la materia prima.
- Obtener una grasa sólida oxidativamente estable, con un perfil de fusión muy rápido, utilizable como sustituto de manteca de cacao. Se obtiene mediante hidrogenación parcial.
- Elaborar una grasa sólida de lenta fusión con un amplio rango plástico, para elaborar el clásico shortening o grasa para horneado (Kellens, 2000; O'Brien, 2004).
- Obtener grasas duras completamente hidrogenadas o grasas duras de bajo índice de yodo. Se obtienen por hidrogenación a alta presión (4 bar o mayor) y alta temperatura (230 °C); bajo éstas condiciones la reacción ocurre tan rápido como es posible. La regulación exige un índice de yodo cero para designar grasas completamente hidrogenadas (O'Brien, 2004).

Tabla 2. Composición porcentual de ácidos grasos del aceite de soya *full* hidrogenado

Ácido graso	Contenido (%)
C14:0 ác. Mirístico	trazas
C16:0 ác. Palmítico	11,5
C18:0 Ac. Esteárico	85,6
C20:0 Ac. Eicosanoico	trazas
Total Saturados	97,1
C18:1 Ac. Oleico	1,2
C18:1 <i>trans</i> Ac. Elaidico	0,7
Total Monoinsaturados	1,9
Total Poliinsaturados	0

Fuente: Farmani *et al.*, 2007.

La reducción del índice de yodo a un nivel aproximadamente igual a cero, es el único camino posible para lograr un contenido de isómeros *trans* cero en los productos derivados de dicho aceite. Los aceites completamente hidrogenados que contienen un nivel cero de isómeros *trans*, pueden ser empleados como materia para interesterificación con el propósito de elaborar productos comestibles con un nivel de isómeros *trans* igual a cero (Kellens, 2000).

El aceite de soya *full* hidrogenado es un aceite vegetal totalmente saturado; en la mayoría de los casos el principal ácido graso es el ácido esteárico (Tabla 2) y se comporta como sólido a temperatura ambiente. Éste producto no contiene ácidos grasos *trans*, por lo que es relativamente menos perjudicial para la salud.

1.6 Elaboración de margarinas

Las margarinas fueron introducidas en 1869 como una alternativa a la mantequilla, debido a la necesidad de producir una adecuada cantidad de grasas para satisfacer a la población en constante crecimiento. Actualmente se utilizan operaciones unitarias básicas que comienzan con la mezcla, emulsificación, y un posterior enfriamiento; éste proceso es originario de las primeras producciones industriales de margarina (Caponio *et al.*, 2003; Robinson, 2005).

Existen varios tipos de margarinas en el mercado y se diferencian en términos de composición y contenido lipídico. Según su contenido graso se dividen en tradicional, medio y bajo, con contenidos que varían entre al menos un 80%; 60-62% y 40-42% de materia grasa, respectivamente. También se clasifican según su consistencia, algunas son suaves y fáciles de esparcir y se consiguen generalmente en envases contenedores, mientras que las más firmes se venden en bloques (Caponio *et al.*, 2003).

La selección de las materias primas adecuadas para la elaboración de bases grasas se ve afectada por los demostrados efectos negativos atribuidos a los ácidos grasos *trans*. Éstos ácidos grasos están presentes en los aceites parcialmente hidrogenados, principal materia prima utilizada en la elaboración de margarinas.

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La interesterificación de aceite de nuez y aceite de soya full hidrogenado puede ser utilizada para la formulación de bases grasas destinadas a la elaboración de margarinas con alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, y libres de ácidos grasos *trans*.

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivos generales

Aplicar los procesos de interesterificación química y enzimática de mezclas de aceite de soya *full* hidrogenado con aceite de nuez, y evaluar el uso del producto obtenido en una base para margarina untable con alto contenido de ácidos grasos ω -3 y bajo contenido de ácidos grasos *trans*.

2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la interesterificación química en las propiedades físicas en mezclas de distintas proporciones de aceite de soya *full* hidrogenado: aceite de nuez.
- Determinar el efecto de la interesterificación enzimática en las propiedades físicas en mezclas de distintas proporciones de aceite de soya *full* hidrogenado: aceite de nuez.
- Estudiar el efecto de la temperatura en el grado de interesterificación química en mezclas de distintas proporciones de aceite de soya *full* hidrogenado: aceite de nuez.
- Estudiar la evolución de la reacción de interesterificación enzimática en mezclas de distintas proporciones de aceite de soya *full* hidrogenado y aceite de nuez.
- Determinar las condiciones de proceso óptimas para interesterificación química y enzimática

- Establecer las composiciones de mezcla adecuadas para elaborar una base para margarina que imite el perfil de fusión de una base para margarina comercial.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materias primas

3.1.1 Nueces

Se utilizó aceite de nuez extraído por prensado en frío de nueces (*Juglans regia*) variedades Semilla California, Serr y Chandller cosecha 2005, donadas por ECONUT Ltda. La materia prima fue recibida envasada en bolsas de polietileno de alta densidad (0,9 mm de espesor) bajo atmósfera modificada (80% N₂ y 20% CO₂). La extracción del aceite se llevó a cabo en la prensa hidráulica *Oleodynamic Industrial Press* de Bertuzzi a 25°C y 200 bar de presión. El aceite así extraído fue almacenado en botellas color ámbar a 3°C.

La composición de ácidos grasos y TAGs del aceite de nuez se determinó mediante cromatografía gas-liquido (GLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), respectivamente. Las características del aceite de nuez se detallan en el Anexo I.

3.1.2 Aceite de soya *full* hidrogenado

El aceite de soya completamente hidrogenado fue donado por la empresa Unilever Chile Ltda. y fue almacenado a 3°C hasta su uso. La composición de ácidos grasos de éste producto fue determinada mediante GLC, y se detalla en el Anexo I.

3.2 Métodos

3.2.1 Interesterificación química

Para la interesterificación química se utilizó el método de Rodríguez *et al.* (2001) realizando algunas modificaciones.

La mezcla se dispuso en un balón de tres cuellos como se muestra en la Figura 3 y se acondicionó mediante la aplicación de calor, agitación y vacío (100 Torr) con el fin de fundir y homogeneizar la mezcla, y también para eliminar la humedad. Luego de llegar

a la temperatura de reacción (70, 85 y 100°C) y estabilizarla, se adicionó un 1% p/p de catalizador (metóxido de sodio 95%) y se dejó reaccionar bajo las mismas condiciones por el tiempo correspondiente según el diseño.

Luego de transcurrido el tiempo establecido se detuvo la reacción agregando una solución de ácido cítrico (1,78 g/g CH₃ONa) para inactivar y neutralizar el catalizador. Los residuos de ácido o base se eliminaron mediante 3 lavados sucesivos con agua destilada en ebullición en proporción 1:1. Posteriormente se aplicó vacío por 20 minutos para retirar la humedad de la mezcla interesterificada. La mezcla se envasó y almacenó a 3°C.

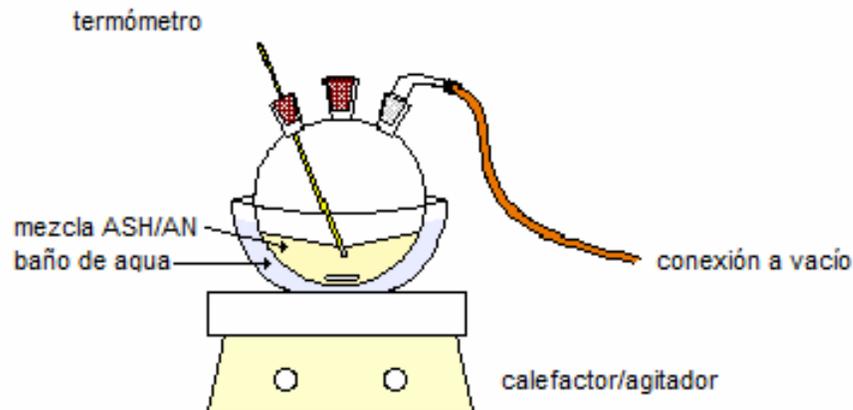


Figura 3: Esquema del sistema de interesterificación química y enzimática.

3.2.2 Interesterificación enzimática

La interesterificación enzimática se realizó modificando el método utilizado por Abigor *et al.* (2003).

La mezcla se dispuso y acondicionó del mismo modo que para la interesterificación química y ya estabilizada la temperatura en 70°C, se le adicionó un 5% p/p de enzima (lipasa inmovilizada *Granozyme TL IM*, donada por la empresa Granotec) y se la dejó humectar por 10 minutos con el fin de eliminar el aire ocluido. Luego se dejó reaccionar con agitación y vacío a temperatura constante por el tiempo de reacción (1, 3 y 5 horas).

La reacción se detuvo mediante remoción de la enzima. Esto se realizó mediante filtración a vacío a través de papel filtro de la mezcla en caliente. La mezcla interesterificada se envasó y almacenó a 3°C.

Para recuperación de la enzima, ésta se lavó con hexano y filtró hasta quedar libre de grasas.

3.3 Diseño experimental

De acuerdo a la bibliografía, las variables independientes que tienen relevancia en los resultados son; para interesterificación química, temperatura de trabajo y proporción de las materias grasas en la mezcla, y para interesterificación enzimática se consideran como variables independientes el tiempo de reacción y la proporción de las materias grasas.

Se realizaron para interesterificación química y enzimática, las corridas presentadas en la Tabla 3, correspondientes a un diseño factorial 3², que consta de 8 corridas experimentales y 3 puntos centrales. Como variable de respuesta se utilizó el contenido de grasa sólida de la mezcla interesterificada.

Tabla 3. Diseño factorial 3² para interesterificación química y enzimática.

Interesterificación Química			Interesterificación Enzimática		
Experimento	T (°C)	Composición (% ASH)	Experimento	t (h)	Composición (% ASH)
IQA	70	30	IEA	1	30
IQB	85	30	IEB	3	30
IQC	100	30	IEC	5	30
IQD	70	50	IED	1	50
IQE*	85	50	IEE*	3	50
IQF	100	50	IEF	5	50
IQG	70	70	IEG	1	70
IQH	85	70	IEH	3	70
IQI	100	70	IEI	5	70

con ASH: aceite de soya *full* hidrogenada; IQ: interesterificación química; IE: interesterificación enzimática; A, B, C, D, E, F, G, H, I: código de experimento.

* muestra central, se hacen tres repeticiones

3.3.1 Contenido de grasa sólida (CGS)

El contenido de grasa sólida se determinó mediante resonancia magnética nuclear de pulso, realizando una adaptación del Método oficial AOCS Cd 16– 81, 1993. Los análisis se realizaron en Watt's Alimentos S.A. y se utilizó un espectrómetro de resonancia magnética nuclear pulsante, modelo Minispec.

3.4 Optimización de la reacción

Los resultados de las muestras sometidas al análisis de contenido de grasa sólida, se analizaron estadísticamente, mediante el programa Statgraphics Plus 4.0. La mezcla óptima correspondió a aquella que imita el perfil de fusión de una base grasa para margarina comercial (estándar); esto se obtuvo realizando una optimización de respuesta múltiple, la cual combinó las optimizaciones parciales de las respuestas de mediciones de CGS a cada temperatura. Se midió la similitud de las muestras elaboradas con la muestra estándar utilizando el parámetro de deseabilidad, con valores entre 0 y 1 para productos con perfiles de fusión diferente e igual, respectivamente.

3.5 Análisis fisicoquímicos de las muestras óptimas

3.5.1 Contenido de grasa sólida (CGS)

El contenido de grasa sólida se determinó según lo señalado en el punto 3.2.4

3.5.2 Punto de fusión promedio

La determinación del punto de fusión promedio de las mezclas se realizó mediante el Método Oficial AOCS Cc 3-25, (1993).

3.5.3 Humedad

Se realizó siguiendo el Método Oficial AOCS Ca 2b-38 (1993).

3.5.4 Ensayos de compresión

Los ensayos de compresión se realizaron en una maquina universal de ensayo de materiales Lloyd LR 5K a dos temperaturas; 4 y 20°C como temperaturas de refrigeración y ambiente. Para ambas mediciones de dejó ambientar las muestras

cilíndricas (2 cm de diámetro, 2 cm de altura), por al menos 3 horas. Las mediciones se realizaron con una carga de celda de 5000 N; velocidad de compresión de 70 mm/seg y una deformación del 50%.

3.5.5 Acidez libre

Se determinó midiendo el porcentaje de ácidos grasos libres, expresado como % de ácido oleico, según el Método Oficial AOCS Ca 5a-40, 1993.

3.5.6 Índice de peróxido

Se determinó mediante el Método Oficial AOCS Cd 8-53, 1993.

3.5.7 Perfil de ácidos grasos

El perfil de ácidos grasos, incluido C18:1 *trans* ω -9, se determinó mediante GLC según el Método Oficial AOCS Ce 1-62, 1997 en un Cromatógrafo de Gases HP 5890. Se utilizó una columna capilar BPX-70 (50 m; 0,25 μ m de film) y las muestras se corrieron entre 160 y 230 °C a una tasa de 2 °C/min.

3.5.8 Perfil de triglicéridos

El perfil de TAGs se realizó por HPLC según el Método Oficial AOAC 993.24, 1993 utilizando una columna C18 Symmetry Waters (5 μ m, 4,6x250 mm), bomba Merck Hitachi L-6200 y el detector Merck Differential Refractometer RI-71; acoplado al programa Clarity preliminary version 2.4.1.43. Se utilizó como fase móvil una mezcla acetona:acetonitrilo en una proporción 1:1 a un flujo de 1 mL/min.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Interesterificación Química

En la Figura 4 se observa la gran influencia que ejerce la composición en el CGS de las muestras interesterificadas químicamente. Un mayor contenido de ASH desplaza las curvas a mayores temperaturas, esto se debe al mayor aporte de ácidos grasos saturados provenientes del ASH a la mezcla.

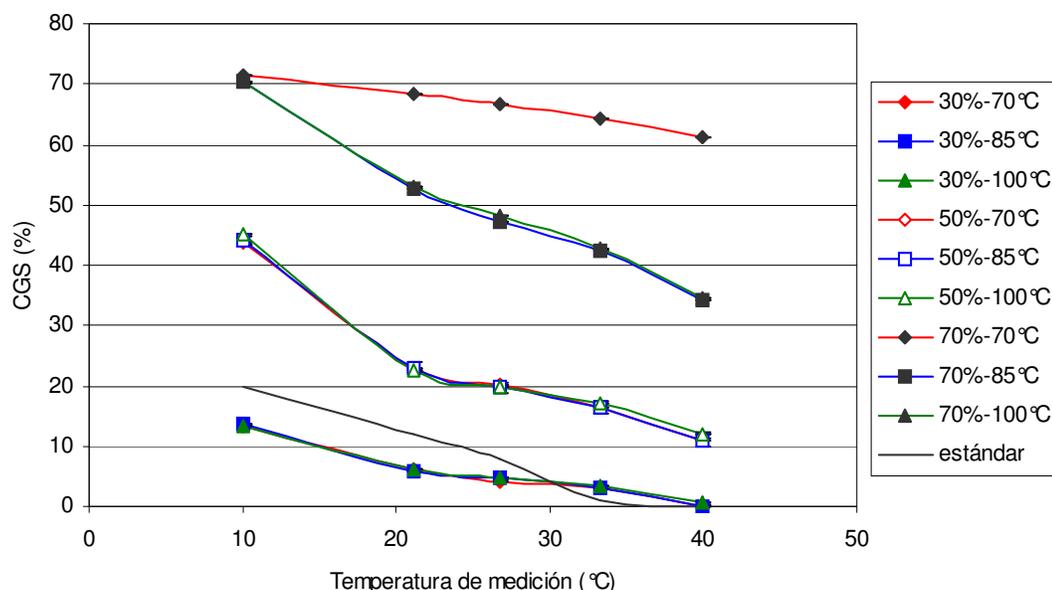


Figura 4: Curvas de CGS para muestras interesterificadas químicamente de diferente composición/temperatura de reacción.

Bajo las condiciones estudiadas, no se observan diferencias significativas por efecto de la temperatura de proceso sobre el CGS, a excepción de la muestra 70/70 (70% ASH, interesterificada químicamente a 70 °C); esto sugiere que la reacción aún no se ha completado. La independencia del progreso de la reacción para con la temperatura no concuerda con lo informado por Klinkerson *et al.* (2004), quien afirma que la temperatura afecta la cinética de la reacción y por lo tanto la hace dependiente. Considerando que el metóxido de sodio se activa entre 50 y 90 °C (Marangoni y Rousseau, 1995), a todas las temperaturas de prueba, el catalizador ha sido activado y por lo tanto, todas las mezclas se encuentran en condiciones de reaccionar, similarmente Liu y Lampert (1999) señalaron que la reacción puede ser iniciada a 70-120 °C por un 0,05-0,5% de metóxido de sodio, proporción ampliamente superada en este diseño.

4.2 Interesterificación Enzimática

En éste método se repite el efecto de la composición sobre las curvas de CGS en las muestras interesterificadas químicamente. En la Figura 5 se grafica el perfil de fusión

de las muestras interesterificadas enzimáticamente y se observa que para un mayor contenido de ASH las curvas se encuentran desplazadas hacia mayores CGS.

Además se observa una mayor pendiente en las curvas de mayor contenido de ASH, coincidiendo con el trabajo de Kellens (2000), quien muestra en mediciones de CGS realizadas a mezclas aceite líquido/grasa sólida que la pendiente aumenta con el CGS en la mezcla (Anexo III); sugiriendo que el aceite hidrogenado mejora la plasticidad de la mezcla luego de la interesterificación.

También se observa la evolución de las reacciones a distinta composición. Las muestras de 30% ASH interesterificadas por 1, 3 y 5 horas presentan diferencias con el tiempo de reacción, esto indica que para esta composición no es posible demostrar un equilibrio termodinámico, pero si se observa la disminución del contenido de grasa sólida con el progreso de la reacción. Para la serie de 50% ASH existen diferencias entre la muestra interesterificadas por 1 hora con las interesterificadas por 3 y 5 horas. La ubicación de la curva de fusión de la muestra interesterificada enzimáticamente por 1 hora sobre las curvas de las muestras que reaccionaron 3 y 5 horas indica que la mezcla de 50% ASH no había reaccionado completamente durante el primer tiempo de reacción; el no encontrar diferencias significativas entre las curvas de las muestras que interesterificaron por 3 y 5 horas indica que el equilibrio alcanzado a las 3 horas de reacción no varía significativamente a las 5 horas para la mezcla con 50% ASH. Las mezclas de 70% de ASH no presentan diferencias significativas para los tres tiempos de reacción; esto sugiere que para un mayor contenido de ASH, es decir, para una menor heterogeneidad de la mezcla, la reacción se hace más rápida, alcanzando el equilibrio termodinámico en un menor tiempo.

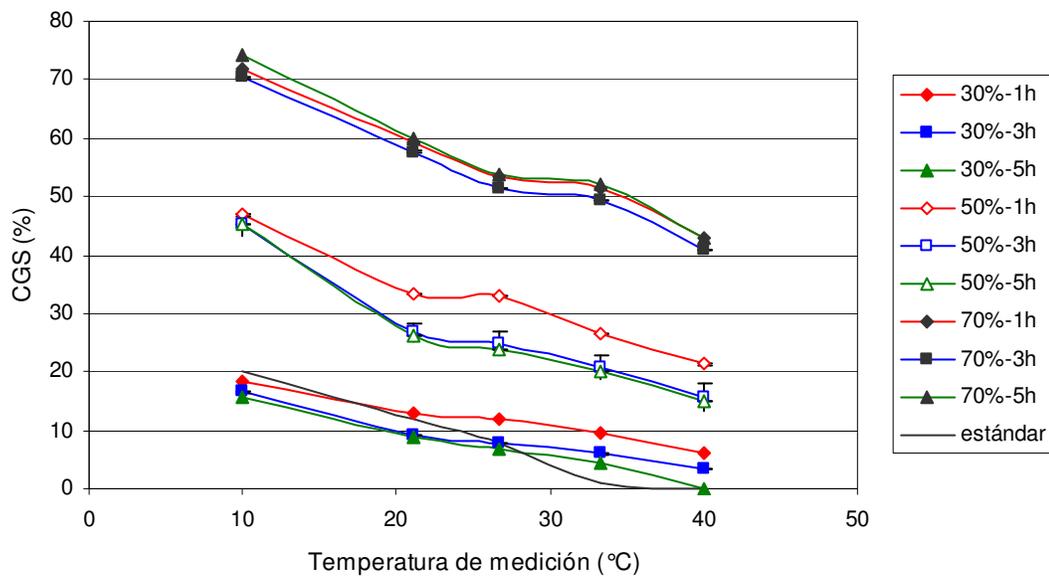


Figura 5: Curvas de CGS para muestras interesterificadas enzimáticamente de diferente composición/tiempo de reacción.

4.3 Interesterificación Química vs Interesterificación Enzimática

Las mezclas de 30 y 50% ASH interesterificadas químicamente a las tres temperaturas (70, 85 y 100°C), no presentan diferencias en sus curvas de CGS, como se observa en las Figuras 6 y 7. Esto indica que para éstas composiciones, no existe un efecto significativo de la temperatura de proceso en el contenido de grasa sólida de la mezcla. Para las mezclas de 70% ASH interesterificadas químicamente se observan diferencias entre las realizadas a 85 y 100°C, que son coincidentes y de mayor pendiente que la muestra interesterificada a 70°C como lo muestra la Figura 8, lo cual puede atribuirse a una incompleta reacción de la muestra realizada a 70°C debido a un mayor contenido de ASH y una menor temperatura.

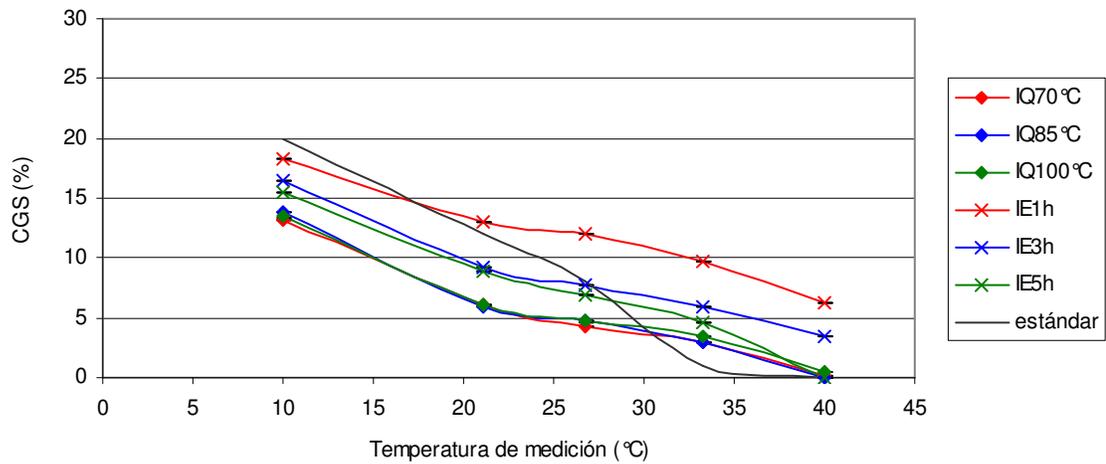


Figura 6: Curvas de CGS para muestras de 30% ASH interesterificadas enzimática y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción.

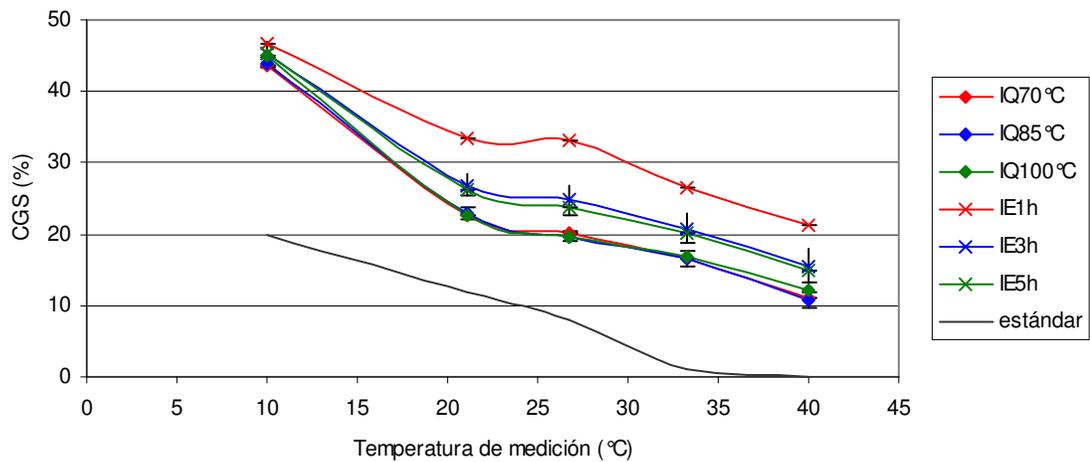


Figura 7: Curvas de CGS para muestras de 50% ASH interesterificadas enzimática y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción.

Las mezclas de 30 y 50% ASH interesterificadas enzimáticamente por 1 hora presentan curvas similares (Figura 6) pero desplazadas hacia un mayor CGS que todas las mezclas interesterificadas (IQ e IE), indicando que para estas composiciones la reacción no ha alcanzado el equilibrio en 1 hora.

Las curvas de mezclas de 30% ASH interesterificadas por 3 y 5 horas son coincidente en las pruebas realizadas a 10; 21,1 y 26,7; como se observa en la Figura 6. Luego se diferencian a 33,3 y 40°C, observándose una mayor pendiente en éstos puntos para la mezcla interesterificada por 5 horas. Las mezclas con 50% ASH interesterificadas por 3 y 5 horas, poseen curvas coincidentes en todos los análisis como se observa en la Figura 7. Estos resultados indican que la muestra de 30% ASH puede seguir reaccionando y que la mezcla con 50% de ASH a las 3 horas ya ha alcanzado el equilibrio confirmado por la curva de la muestra interesterificada durante 5 horas.

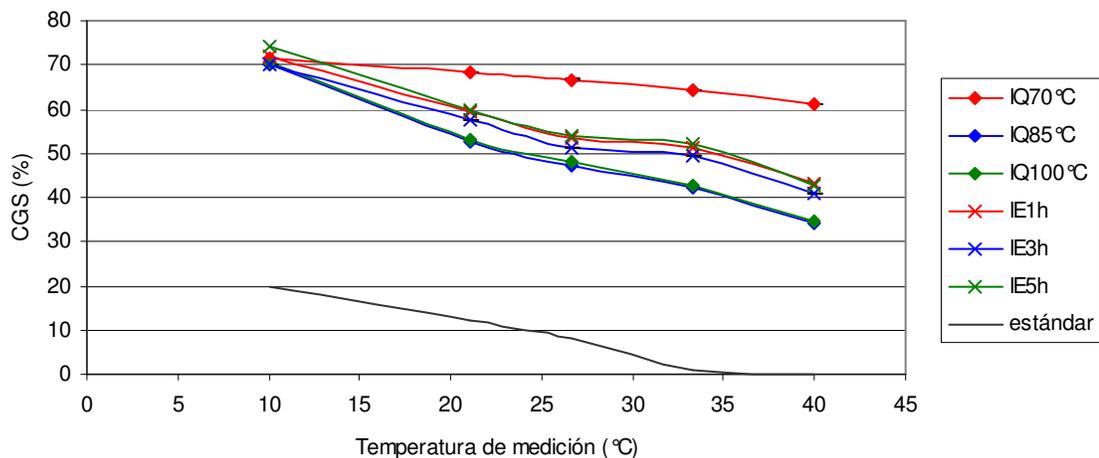


Figura 8: Curvas de CGS para muestras de 70% ASH interesterificadas enzimática y químicamente a distintas temperaturas y tiempos de reacción.

En la Figura 8 se observa que las mezclas de 70% ASH interesterificada enzimáticamente, no presentan diferencias significativas; indicando que para un mayor contenido de ASH la reacción llegaría a un equilibrio de manera más rápida, sin embargo, el equilibrio alcanzado presenta una curva levemente menos inclinada que la lograda por las mezclas interesterificadas a 85 y 100°C catalizadas con metóxido de sodio, indicando que se alcanzan distintos equilibrios en ambos métodos y que mediante la interesterificación química se obtiene una mayor plasticidad que usando la interesterificación enzimática.

4.4 Producto Óptimo

Las variables que poseen un efecto estadísticamente significativo sobre el CGS son la composición de la mezcla para la interesterificación química y el tiempo de reacción y composición de la mezcla para el proceso enzimático. Los gráficos de superficie de respuesta estimada se muestran en las Figuras 9 y 10 para el CGS de mezclas obtenidas mediante interesterificación química y enzimática, respectivamente.

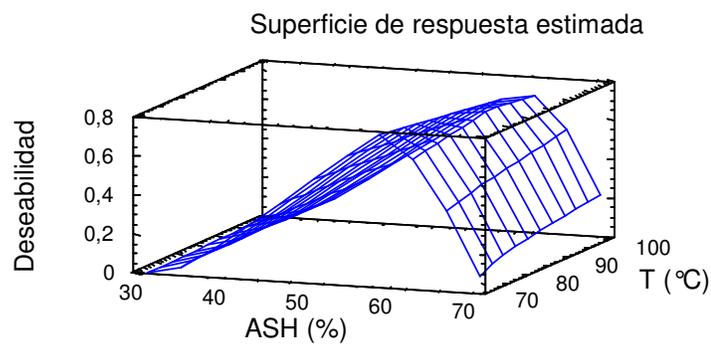


Figura 9: Gráfico de superficie de respuesta para interesterificación química.

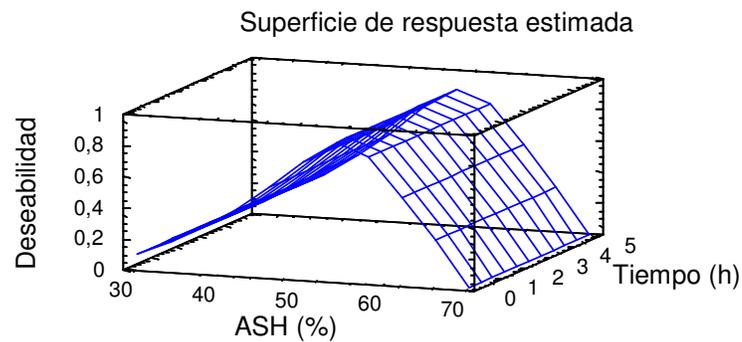


Figura 10: Gráfico de superficie de respuesta para interesterificación enzimática

Los resultados para la optimización de ambos métodos de interesterificación se muestran en la Tabla 4. Las composiciones óptimas fueron de 58,8 y 55,6% de ASH para la interesterificación química y enzimática, respectivamente; en que los productos óptimos alcanzan diferentes niveles de deseabilidad, parámetro que indica el grado de

aproximación a la muestra estándar (Anexo I) y se evalúa entre 0 y 1. La deseabilidad obtenida por el método enzimático es notoriamente superior en comparación con el método químico; esto indica que el producto interesterificado enzimáticamente, tiene un perfil de fusión más parecido al de la base estándar, con una deseabilidad de 0,92 versus el 0,78 logrado por la interesterificación química.

La condición óptima de proceso para producir mezclas interesterificadas químicamente, fue una temperatura de reacción de 72,3°C. Esta temperatura tan cercana al nivel inferior del diseño corrobora lo observado en las Figuras 6 y 7, en las que se aprecia que la temperatura, dentro del rango estudiado, no tiene un efecto significativo en el CGS de mezclas obtenidas mediante interesterificación química. La optimización minimiza las variables cuyo efecto no sea significativo dado que como en éste caso, una mayor temperatura, implica un mayor gasto de energía, obteniendo el mismo resultado.

Tabla 4. Composición y condiciones de reacción para las mezclas óptimas obtenidas por interesterificación química y enzimática.

Método	Factor	Nivel inferior	Nivel superior	Nivel óptimo	Deseabilidad alcanzada
interesterificación química	Composición (%ASH)	30	70	58,8	0,78
	Temperatura (°C)	70	100	72,3	
interesterificación enzimática	Composición (%ASH)	30	70	55,6	0,92
	tiempo (horas)	1	5	3,12	

El tiempo de reacción para la interesterificación enzimática considerado como óptimo es de 3,12 horas (3 horas 7 minutos). Este valor fue similar al nivel central del diseño indicando que para lograr la composición con un mayor nivel de deseabilidad o similitud con el estándar, éste tiempo es suficiente para completar la reacción y que una interesterificación por tiempos más prolongados no produce diferencias en la curva de CGS, como se observa en la Figura 8.

Las curvas de CGS de las mezclas interesterificadas química y enzimáticamente se muestran en Figura 11; en ella se observa que a pesar de obtener distintos grados de deseabilidad, las curvas obtenidas por ambos métodos son similares, aunque la curva de las muestras interesterificadas químicamente tiene CGS levemente mayores, lo cual se explica por el mayor contenido de ASH de la mezcla.

Además se observa la diferencia que existe entre las muestras óptimas y la muestra estándar; existiendo una diferencia entre 30 y 40 % para la medición realizada a 10°C y superior al 20% a los 40°C.

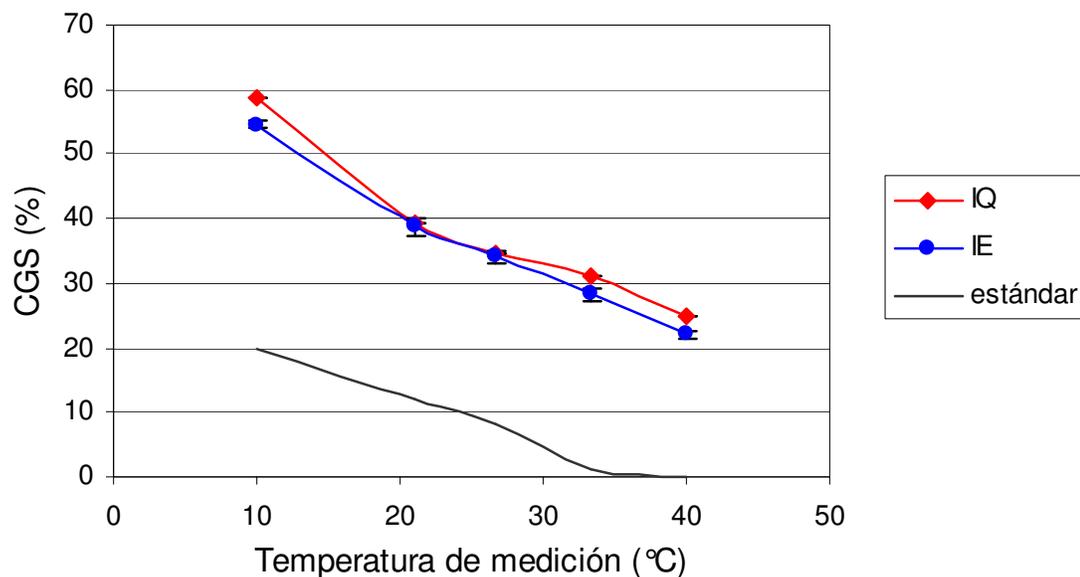


Figura 11: Curvas de CGS para muestras óptimas interesterificadas química y enzimáticamente.

4.4.1 Análisis Físicoquímicos

En la Tabla 5 se detallan los resultados de los análisis físicoquímicos realizados a las muestras óptimas. La acidez libre fue de 3,58 y 2,01% de ácido oleico, para interesterificación enzimática y química, respectivamente, valores bastante elevados dado que el aceite de nuez utilizado como materia prima se obtuvo por prensado en frío y no fue refinado (Anexo I). No se observa un aumento significativo de la acidez durante la interesterificación enzimática, sin embargo la mezcla pudo sufrir deterioro por efecto de una excesiva humedad del producto, por acción de ácido/base o por

hidrólisis enzimática (O'Brien, 2004). Sin embargo, la diferencia entre las muestras interesterificadas química y enzimáticamente se atribuyen a que durante la interesterificación química existen pérdidas de mezcla por la formación de jabones como describió Kellens (2000), lo que provoca la disminución de la acidez.

Tabla 5: Características fisicoquímicas de las muestras óptimas.

Parámetro	Interesterificación química	Interesterificación enzimática
Acidez libre (% ácido oleico)	2,03±0,15	3,58±0,42
Índice de peróxidos (meq O ₂ /kg)	3,48±0,07	4,39±0,13
Máxima fuerza de compresión (N)	43,86	36,19
Fuerza de ruptura (N/cm ²)	13,97	11,53
Cohesividad (mm)	3,79	2,37
Humedad (%)	1,78±0,17	0,59±0,01
Punto de fusión (°C)	64,33±0,58	62,67±0,58
Contenido de grasa sólida (%)		
10 °C	58,82±0,02	54,54±0,59
21,1 °C	39,31±0,13	38,71±1,36
26,7 °C	34,67±0,04	34,05±1,06
33,3 °C	31,02±0,03	28,26±0,94
40 °C	24,83±0,07	22,04±0,69

El segundo parámetro medido fue el índice de peróxidos; el que muestra un claro aumento durante ambos procesos de interesterificación en comparación con el valor obtenido para el aceite de nuez (3,05 meq O₂/kg). Las muestras catalizadas con enzima presentan un índice de peróxidos mayor que las muestras obtenidas mediante interesterificación química (4,39 y 3,48 meq O₂/kg respectivamente); esto se atribuye al deterioro que sufre la mezcla sometida a altas temperaturas, condición que se extendió por 3 horas 7 minutos para la interesterificación enzimática y sólo por 1 hora para la interesterificación química.

La textura es un factor crítico que determina la funcionalidad y la aceptación de un producto. Las curvas de compresión de las muestras obtenidas por interesterificación

química y enzimática definen fuerzas de ruptura de 13,97 y 11,53 N/cm², respectivamente; valores que superan ampliamente los 1,61 N/cm² para sebo y 1,24 N/cm² para *shortenings* a base de sebo-aceite vegetal indicados por DeMan *et al.*, (1990). Esta discrepancia confirma el fenómeno observado durante las pruebas y que coinciden con las clasificaciones de “quebradizo” y “calcáreo” descritas por O’Brien (2004) en su método no estandarizado para medir consistencia y plasticidad en *shortenings*.

El CGS utilizado como respuesta del diseño experimental es principalmente un indicador del comportamiento de una grasa bajo distintas condiciones de temperatura. Así, la medición realizada a 10°C indica la “esparcibilidad” de la grasa a temperatura de refrigeración; de acuerdo a Karabulut *et al.* (2004) éste valor no debe ser mayor a 32% para una margarina untable, lo cual es ampliamente superado por las mezclas obtenidas por los dos métodos de interesterificación, por lo tanto, los óptimos no poseen una buena esparcibilidad a temperatura de refrigeración. La siguiente temperatura de interés es 21,1°C; que es un indicador de la estabilidad y resistencia del producto a la exudación de aceite a temperatura ambiente (O’Brien, 2004). De acuerdo con Karabulut *et al.* (2004) un valor óptimo no debe ser menor al 10%, así se previene la salida del aceite. En las mezclas interesterificadas química y enzimáticamente se obtuvo 51,77 y 38,71% de grasa sólida, respectivamente y por lo tanto, no se presentan pérdidas de aceite a esta temperatura, pero aún a esta temperatura, las mezclas no presentan buenas propiedades de esparcibilidad.

Las mediciones realizadas entre 35 y 37°C indican las características de fusión en la boca. Las mediciones realizadas a 33,3°C no deben ser mayores al 3,5% para no percibir una sensación cerosa en la boca. Para las mezclas óptimas obtenidas por interesterificación química y enzimática se obtuvo valores de 46,37 y 26,26%, respectivamente, por lo que estas mezclas no poseen las características de fusión requeridas para una base grasa de margarina untable comercial.

Experimentos similares realizados en mezclas ASH:AN=40:60 (Anexo VI) indican que es posible obtener mezclas interesterificadas química y enzimáticamente cuyas curvas de fusión describen buenas propiedades de esparcibilidad y no presenten exudación de aceites, aunque si se perciben en la boca, debido a que no funden completamente a temperatura corporal.

Tabla 6: Perfil de ácidos grasos porcentual de mezclas óptimas.

Ácido graso	Interesterificación química (% ésteres metílicos)		Interesterificación enzimática (% ésteres metílicos)	
	Calculado	Obtenido	Calculado	Obtenido
C12:0	0,57	0,56±0,03	0,54	0,55±0,07
C14:0	0,27	0,28±0,01	0,26	0,24±0,00
C15:0	0,03	0,04±0,00	0,03	0,02±0,02
C16:0	9,07	9,65±0,14	8,99	9,58±0,36
C16:1/17:0	0,18	0,17±0,06	0,18	0,22±0,00
C18:0	52,25	43,13±0,18	49,54	40,57±4,18
C18:1isom	0,13	-	0,14	-
C18:1 ω 9	0,02	0,22±0,23	0,02	0,31±0,13
C18:1 ω 7	6,84	8,20±0,09	7,35	8,67±0,54
C18:2isom	0,79	0,67±0,02	0,85	1,02±0,18
C18:2 ω 6	23,32	29,04±0,15	25,13	30,36±2,33
C18:3isom	0,13	0,05±0,01	0,14	0,11±0,05
C18:3 ω 3	5,68	7,54±0,08	6,12	7,92±0,87
C22:0	0,23	0,18±0,01	0,22	0,16±0,01
C24:0	0,03	0,06±0,01	0,02	0,05±0,00
nid	0,46	0,22	0,47	0,23

El perfil de ácidos grasos exhibido en la Tabla 6 muestra los contenidos de ácidos grasos saturados e insaturados de las mezclas óptimas interesterificadas. Se observa un mayor contenido de ácidos grasos saturados en las mezclas obtenidas por el método químico, lo cual justifica el mayor CGS de las mezclas óptimas obtenidas mediante éste método como lo indican Karabulut *et al.* (2004).

El contenido de ácidos grasos *trans* es considerado bajo para los productos obtenidos mediante ambos métodos. Sin embargo, es mayor para el proceso enzimático debido al mayor tiempo que la mezcla fue expuesta a alta temperatura. De acuerdo con

O'Brien (2004), la isomerización geométrica ocurre a muy altas temperaturas, pero es función de la relación tiempo-temperatura.

Tabla 7: Perfil de TAG porcentual de mezclas óptimas.

Triacilglicerol	Interesterificación química (%)	Interesterificación enzimática (%)
LnLnLn	-	2,22
LLnLn	0,36	0,46
LnLLn	-	1,47
LLnL	0,36	1,34
LLLn	0,36	1,10
PLnLn	-	2,50
LnPLn	1,43	0,99
LLL	0,72	2,02
LLnO	-	0,84
PLLn	-	1,97
LnLnS	-	2,06
LnSLn	-	2,97
OLL	-	1,20
LLnS	1,07	0,92
LnLS	3,94	10,29
LSLn	1,43	-
LnPP	-	1,14
LLS	10,02	6,54
LSL	7,16	1,12
OLS	1,79	0,43
LOS	1,79	-
LSO	0,14	2,20
SLnS	1,43	-
LnSS	9,31	-
SLS	6,8	6,95
LSS	11,81	9,97
OSP	-	2,82
SOS	2,51	2,75
OSS	2,15	6,29
SPS	5,73	-
PSS	4,29	-
SSS	10,02	18,73
n/i	15,38	8,71

En la Tabla 7 se observa el perfil de TAG del aceite de nuez y de las mezclas interesterificadas química y enzimáticamente. Una de las ventajas de la interesterificación enzimática es que no cambia el ácido graso ubicado en la posición

sn-2; lo cual es posible comprobar mediante el análisis de TAG. Ésta característica es especialmente ventajosa si se utiliza, como en este caso, un aceite que contenga ácidos grasos esenciales, los cuales se ubican naturalmente en la posición sn-2. El producto obtenido enzimáticamente posee una mayor cantidad de ácido linolénico (C18:3 ω -3) en esta ubicación en comparación con el producto obtenido químicamente con 10,34 y 1,79% respectivamente (Anexo V).

Los altos contenidos de TAG con el patrón sss (trisaturado) que alcanzan valores de 20,04 y 18,73% para las reacciones química y enzimática, respectivamente (Anexo V). Estos TAGs proporcionan la estructura y los altos puntos de fusión observados en las muestras interesterificadas por ambos métodos; además ofrece una barrera contra la humedad como lo describe O'Brien (Anexo IV).

5. CONCLUSIONES

- La composición de las mezclas es la variable más relevante sobre el perfil de fusión de las mezclas interesterificadas química y enzimáticamente.
- En el proceso de interesterificación química, la temperatura no presentó un efecto significativo sobre el CGS del producto interesterificado.
- Es posible observar la evolución de la interesterificación enzimática y determinar un equilibrio termodinámico para la mezcla aceite de nuez-aceite de soya *full* hidrogenado bajo las condiciones estudiadas; en que la reacción se acelera al aumentar la homogeneidad de la mezcla.
- La optimización de los métodos de interesterificación química y enzimática permiten obtener bases grasas que, aunque no son aptas para margarina untable, puede tener potenciales usos en coberturas, rellenos y grasas para freír de alto contenido de ácidos grasos ω -3 y mayor estabilidad.
- La interesterificación de las mezclas ASH-AN con un porcentaje de ASH cercano al 40%, permite elaborar bases grasas con un perfil de fusión compatible con una base para margarina untable con un alto contenido de ácidos grasos ω -3 y bajo en *trans*.
- Mediante la interesterificación química y enzimática es posible modificar las propiedades físicas de una mezcla y obtener una base para margarina de bajo contenido de ácidos grasos *trans*.

6. BIBLIOGRAFÍA

- ABIGOR, R., Marmer, W., Foglia, T., Jones, K., DiCiccio, R., Ashby, R. y Uadia, P. (2003). Production of Cocoa Butter-like fats by Lipase-Catalyzed Interesterification of Palm Oil and Hydrogenated Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 80:1193-1196.
- ALONSO, L., Fraga, M.J. y Juárez, M. (2000). Determination of *trans* Fatty Acids and Fatty Acid Profile in Margarinas Marketed in Spain. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77: 131-136.
- AMADORI, E. (1995). Hidrogenación y Transesterificaciones Química y Enzimática. Edición Digital reproducida con autorización de los autores.
- AMARAL, J., Cunha, C., Alves, M.R., Pereira, J., Seabra, R. y Oliveira, B. (2004) Triacylglycerol Composition of Walnut (*Juglans regia* L.) Cultivars: Characterization by HPLC-ELSD and Chemometrics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 52: 7964-7969.
- A.O.A.C. (1993). Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists International. 16th Edition. Gaithersburg. USA. Method 993.24.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Ca 2b-38.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Ca 5a-40.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Cc 3-25.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Cd 8-53.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Cd 16-81.
- A.O.C.S. (1993). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. 4^a Ed. AOCS Press, Champaign. Method Ce 1-62.
- BAILEY'S Industrial Oil and Fat Products por Karl F. Mattil "*et al*". 3th ed. New York, John Wiley & Sons, Inc., 1964. 1103 p.
- BELITZ, H.-D. y Grosch, W. Química de los Alimentos. 2^a Edición. Zaragoza-España, Editorial Acirbia, 1997. 1134p.

- BOWMAN, B. y Russell, R. (2003). Conocimientos Actuales Sobre Nutrición. Organización Panamericana de la Salud, 8° Edición, Washington, D. C. OPS e Instituto Internacional de Ciencias de la Vida.
- CAPONIO, F., Gomes, T. y Bilancia M.T. (2003). Measurement of Degradation of the Lipid Fraction in Margarinas. *European Journal Research and Technology* 216: 83-87.
- CHISHOLM, A., Mc Auley, K., Mann, J., Williams, S. y Skeaff, M. (2005). Cholesterol lowering effects of nuts compared with a Canola oil enriched cereal of similar fat composition. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 15: 284-292.
- CODEX Alimentarius (1989). Norma del Codex para la Margarina. Codex Stan 32-1981. Obtenido de http://www.codexalimentarius.net/web/standard_list.do?lang=es
- CRIADO, M., Hernández-Marín, E., López-Hernández, A. y Otero, C. (2007). Enzymatic Interesterification of Extra virgen Olive Oil with a Fully Hydrogenated Fat: Characterization of the Reaction and Its Products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, en prensa.
- DEMAN, L., Postmus, E. y DeMan, J. (1990). Textural and Physical Properties of North American Stock Margarines, *Ibid*, 67:323–328.
- FARMANI, J., Hamedi M., Safari M. y Madadlou, A. (2007). Trans-free Iranian Vanaspati through Enzymatic and Chemical Transesterification of Triple Blends of Fully Hydrogenated Soybean, Rapeseed and Sunflower Oils. *Food Chemistry*, 102: 827-833.
- FATTAHI-FAR, E., Intern, M.A. y Barzegar. M. (2006). Interesterification of Tea Seed Oil and Its Application in Margarine Production. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83: 841-845.
- FUNDACIÓN NUCIS. Salud y Frutos Secos. [en línea] Superalimentos: Las Nueces En: http://www.nucis.org/nous_esp.htm [consulta: 11 Agosto 2005].
- HAUMANM, B. F. (1994). Tools: hydrogenation, interesterification. *Inform*, 5:, 668–678.
- HOUMØLLER, L., Kristensen, D. y Rosager, H. (2006). Determination of SFC, FFA, and Equivalent Reaction Time for Enzymatically Interestified Oils Using NIRS. *Talanta*, en prensa.

- KARABULUT, I., Turan, S y Ergin, G. (2004). Effects of Chemical Interesterification on Solid Fat Content and Slip Melting Point of Fat/Oil blends. *European Food Research Technology*, 218: 224-229.
- KELLENS, M. Desarrollos en la Tecnología de Modificación de las Grasas. Interesterificación de Grasas y Aceites. En: Asociación Argentina de Grasas y Aceites. Aceites y Grasas, Libro 10° Aniversario. Recopilación de Artículos Técnicos. Argentina, Editorial Amalevi, 2000. Tomo II, p 246-261.
- KLINKERSON, U., Chinachoti, P. y Sophanodora, P. (2004). Chemical Transesterification of Tuna Oil to Enriched Omega-3 Polyunsaturated fatty acids. *Food Chemistry*, 87: 415-421.
- LITZ, B., Obert, G. y Szily, B. (2006). Examination of the Correlation of Butter Spreadability and its Fat Conformatio by DSC. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 84: 425-428.
- LIU, L. y Lampert, D. (1999). Monitoring Chemical Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76: 783-787.
- LIU, L. (2004). How is Chemical Interesterification Initiated: Nucleophilic Substitution or α -Proton Abstraction?. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81: 331-337.
- LORGERIL, M y Salen, P. (2004). Alpha-Linolenic Acid and Coronary Heart Disease. *Nutritional Metabolic Cardiovascular Disease*, 14:162-169.
- MARANGONI, A. G. y Rousseau, D. (1995). Engineering triacylglycerols: the role of interesterification. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 329–335.
- MASSON, L. y Mella, M. A. (1985). Materias Grasas de Consumo Habitual y Potencial en Chile: Composición en ácidos Grasos. Edición Digital.
- MU, H. y Høy, C-E. (2004). The Digestion of Dietary Triacylglycerols. *Progress in Lipid Research*, 43: 105–133.
- NOOR LIDA, H.M.D., L.H., Kalyana, S. y Nor Aini, I. (2006). DSC Study on the Melting Properties of Palm Oil, Sunflower Oil, and Palm Kernel Olein Blends Before and After Chemical Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83: 739-745.
- NOR AINI, I. y Noor Lida, H.M.D. (2005). Interesterified palm products as alternatives to hydrogenation. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 14: 396-401.

- NORIZZAH, A.R., Chong, C.L., Cheow, C.S. y Zaliha, O. (2004). Effects of Chemical Interesterification on Physicochemical Properties of Palm Stearin and Palm Kernel Olein Blends. *Food Chemistry*, 86: 229–235.
- O'BRIEN, R. *Fats and Oils. Formulating and Processing for Applications*. 2nd ed. Boca Raton, CRC Press LLC, 2004.
- OLIVEIRA, R., RODRIGUES, M.F. Y BERNARDO-GIL, M.G. (2002). Characterization and Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Walnut Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79: 225-230.
- ROBINSON, D. (2005). Margarine Process History. *International News on Fats, Oils and Related Materials*, 16: 136-138.
- RODRIGUES, J.N. y Gioielli, L.A. (2003). Chemical interesterification of milkfat and milkfat-corn oil blends. *Internacional Food Research*, 36, 149-159.
- RODRÍGUEZ, A., Castro, E., Salinas, M.C., López, R. y Miranda, M. (2001). Interesterification of Tallow and Sunflower oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78: 431-436.
- STENDER, S. Y Dyerberg, J. (2004). Influence of *trans* Fatty Acids on Helth. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 48: 61-66.
- TSANEV, R., Russeva, A., Rizov, T. y Dontcheva, Iv. (1998). Content of *trans*-Fatty Acids in Edible Margarines. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75: 143-145.
- UAUY, R. y Valenzuela, A. (2000). Marine Oils: The Health Benefits of n-3 Fatty Acids. *Nutrition*, 16: 680-684.
- VASCONCELOS, A., Bressan, J. y Sabarense, C. (2006). Ácidos Graxos *trans*: Alimentos e efeitos na saúde. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 56.
- WAGNER, K-H., Auer, E y Elmadfa, I. (2000). Content of *trans* Fatty Acids in Margarines, Plant Oils, Fried Products and Chocolate Spreads in Austria. *European Food Research Technology*, 210: 237-241.
- WIJENDRAN, V. y Hayes, K.C. (2004). Dietary n-6 and n-3 Fatty Acids Balace and Cardiovascular Disease. *Annual Review of Nutrition*, 24: 597-615.
- WILLIS, W., Lencki, R. y Maragoni, A. (1998). Lipid Modification Strategies in the Production of Nutritionally Functionals Fats and Oils. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38: 639-674.

ZHANG, H., Smith, P. y Adler-Nissen, J. (2004). Effects of Degree of Enzymatic Interesterification on the Physical Properties of Margarine Fats: Solid Fat Content, Crystallization Behavior, Crystal Morphology, and Crystal Network. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4423-4431.

Anexo I

Perfil de ácidos grasos y TAG de aceite de nuez y ASH utilizado.

Ácido graso	Contenido (%) en aceite de nuez	Contenido (%) en ASH
nid	0,59	0,38
C12:0	-	0,98
C14:0	0,03	0,44
C15:0	-	0,05
C16:0	7,65	10,06
C16:1/17:0	0,16	0,20
C18:0	2,40	87,18
C18:1isom	0,31	-
C18:1tw9	-	0,03
C18:1cw9	16,36	0,17
C18:2isom	1,86	0,05
C18:2w6	56,52	0,06
C18:3isom	0,32	-
C18:3w3	13,78	-
C22:0	0,02	0,37
C24:0	-	0,04
Total	100	100

TAG	Contenido (%) en aceite de nuez
LLnLn	4,81
LLLn	17,91
PLnLn	0,83
LLL	22,23
OLLn	7,13
PLLn	5,14
OLL	15,59
PLL	12,6
LOO	6,46
LOP	7,12
OOO	0,17

Acidez aceite de nuez (% ácidos oleico): 3,56±0,2

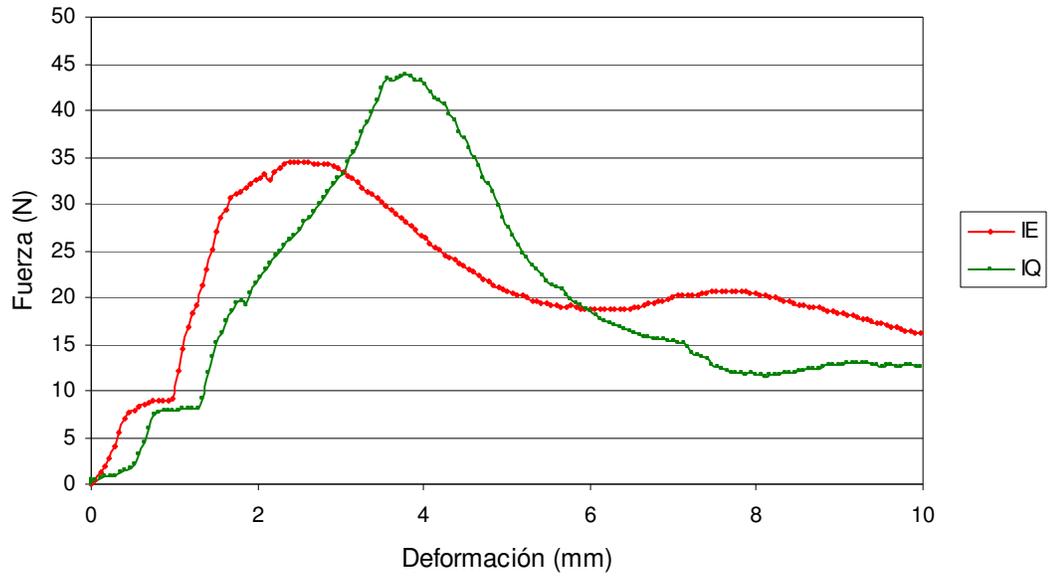
Índice de peróxidos aceite de nuez (meq O₂/kg): 3,05±0,11

CGS estándar, base para margarina Belmont pote:

T (°C)	10	21,1	26,7	33,3	40
CGS (%)	20	12	8	1	0

Anexo II

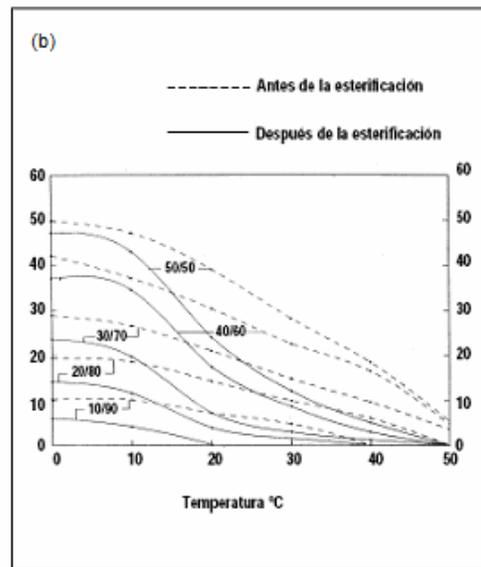
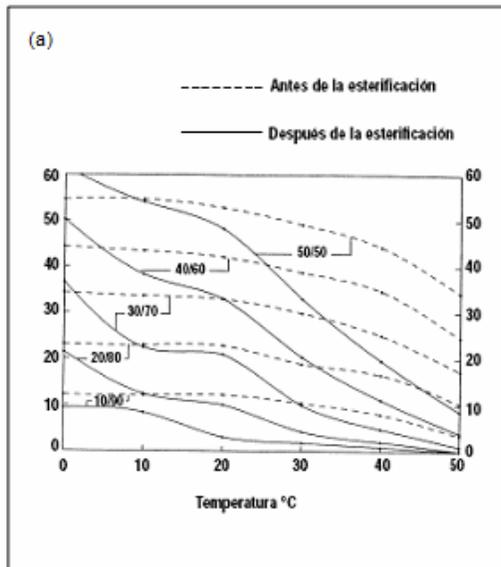
Curva de compresión para mezclas óptimas interesterificadas química y enzimáticamente.



Anexo III

Datos físicos (CGS) de mezclas aceite de soya/aceite de soya totalmente hidrogenado (AS/ASH) y aceite de soya/estearina de palma (AS/ESP) antes (a) y después (d) de la interesterificación química (Kellens, 2000).

mezcla		90/10		80/20		70/30		60/40		50/50	
		a	d	a	d	a	d	a	d	a	d
AS/ASH	0°C	12,1	9,3	23,1	21,4	34,2	36,5	44,3	50,2	54,6	61,5
	10°C	12,0	8,3	22,9	12,3	33,6	22,4	43,4	38,3	54,6	54,0
	20°C	12,1	3,0	22,8	10,0	32,9	20,9	42,1	33,0	52,8	48,2
	30°C	10,4	1,8	18,8	4,2	29,9	9,9	38,7	20,3	49,1	33,0
	40°C	8,0	0,9	16,5	2,0	25,1	4,8	34,7	11,1	44,3	19,6
	50°C	3,4	0,0	10,3	0,0	17,3	1,0	24,6	3,9	34,2	8,6
	MP (°C)	52	24	62	31	64	47	66	57	66,1	57,2
	ES/ESP	0°C	10,3	6,0	19,5	14,2	28,9	23,7	42,1	37,1	49,7
10°C		10,2	4,2	18,7	11,7	26,6	19,8	36,2	34,6	47,1	43,0
20°C		7,2	0,0	14,3	3,9	21,1	7,2	30,4	17,5	39,1	24,1
30°C		4,8		10,0	1,5	14,9	3,0	22,7	8,7	28,2	12,2
40°C		0,0		6,1	0,0	9,7	1,2	16,6	3,0	18,6	5,1
50°C				0,0		3,6	0,0	4,8	0,0	5,5	0,0
MP (°C)		36,5	11,0	45,1	21,2	49,8	29,5	51,3	41,0	51,5	44,5



Perfiles de CGS de mezclas (a) AS/ASH y (b) AS/ESP antes y después de la interesterificación química (Kellens, 2000).

Anexo IV

Fusión de TAG y funcionalidad (O'Brien 2004).

Patrón TAG-AG	T fusión (°C)	Dobles enlaces	Funcionalidad
Fusión zona 1: frío			
LLL	-13,3	6	Nutrición Claridad Lubricación
OLL	-6,7	5	
PLL	-5,6	4	
PLO	-2,8	3	
OOL	-1,1	4	
SLL	1,1	4	
Fusión zona 2: temperatura ambiente			
OOO	,6	3	Lubricación Claridad
SLO	6,1	3	
POO	15,6	2	
SOO	22,8	2	
PLP	27,2	2	
Fusión zona 3: temperatura corporal			
SLP	30,0	2	Estructura Aireación Lubricación Barrera contra humedad
SLS	32,8	2	
POP	35,0	1	
SOP	37,8	1	
SOS	41,7	1	
Fusión zona 4: calentamiento			
PPP	56,1	0	Estructura Lubricación Barrera contra humedad
SPP	60,0	0	
SSP	61,1	0	
SSS	65,0	0	

L: ácido linoleico
 O: ácido oleico
 P: ácido palmítico
 S: ácido esteárico

Anexo V

Ubicación de los ácidos grasos según su nivel de saturación en MAG y TAG patrones formados en interesterificación química y enzimática (%).

MAG	IEexp	IQexp
-Ln-	10,34	1,79
-S-	46,23	53,47
-U-	45,06	29,72
TAG		
SSS	18,73	20,04
SUS	9,70	9,31
SSU	20,23	23,27
UUU	10,64	1,80
USU	7,28	10,16
UUS	24,72	18,61

S: ácido graso saturado
U: ácido graso insaturado
IE: interesterificación enzimática
IQ: interesterificación química
exp: experimental

Anexo VI

Mezclas 40% ASH interesterificadas química y enzimáticamente.

Condiciones interesterificación química: 0,5% CH_3ONa ; 60 min; 90 °C; PF= 45 °C.

Condiciones interesterificación enzimática: 5% enzima; 240 min; 70 °C; PF= 43,7 °C.

