



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Efecto de la aplicación de ultrasonido en la
extracción y caracterización de
aceite de Moringa**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Ingeniero en alimentos

P R E S E N T A:

ELISEO TINO OROZCO

ASESORES

Dr. José Luis Arjona Román

Dra. Marta Elvia Rosas Mendoza



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

A Dios, que me ha dado todo y gracias a Él puedo concluir esta parte en mi vida.

A mis padres Victoria Orozco y Arturo Hernández por todo el apoyo brindado, gracias a Heidi por acompañarme en todos los aspectos de mi vida, ayuda idónea.

A DGAPA-UNAM por el apoyo financiero al proyecto IT203314.

A M.C. Sofía González Gallardo, técnico académico titular B responsable de Microscopia Electrónica.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----------|
| Resumen | i |
| Introducción | ii |
| Capítulo I Marco teórico | |
| 1.1 Moringa | |
| 1.1.1 Origen y antecedentes. | 1 |
| 1.1.2 Composición fisicoquímica y aspectos nutricionales. | 2 |
| 1.1.3 Usos..... | 3 |
| 1.2 Extracción de aceite | |
| 1.2.1 Criomolienda..... | 5 |
| 1.3 Transferencia de masa y fenómenos de transporte..... | 6 |
| 1.3.1 Diagrama triangular y balance de masa por contacto sencillo..... | 9 |
| 1.4 Ultrasonido (US)..... | 11 |
| 1.5 Caracterización del aceite | |
| 1.5.1 Cromatografía de capa fina (TLC)..... | 12 |
| 1.5.2 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)..... | 14 |
| 1.5.2.1 Transición de fase en lípidos..... | 16 |
| 1.6 Harina residual | |
| 1.6.1 Isoterma de sorción de agua | 17 |
| 1.6.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) | 22 |
| | |
| Capítulo II Metodología experimental | |
| 2.1 Actividades preliminares | |
| 2.1.1 Humedad..... | 25 |
| 2.1.2 Criomolienda y determinación del diámetro medio Sauter..... | 25 |
| 2.2 Extracción de aceite | |
| 2.2.1 Extracción por el método Soxhlet..... | 27 |
| 2.2.2 Extracción mediante US | 27 |
| 2.3 Balance de masa por contacto sencillo..... | 28 |
| 2.4 Caracterización del aceite | |

| | |
|---|----|
| 2.4.1 Cromatografía en capa fina (TLC)..... | 29 |
| 2.4.2 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)..... | 30 |
| 2.5 Harina residual | |
| 2.5.1 Obtención de las isotermas..... | 31 |
| 2.5.2 Parámetros de adsorción..... | 32 |
| 2.6 Adquisición de imagen (microscopio estereoscópico y SEM)..... | 33 |

Capítulo III Resultados y análisis

| | |
|---|-----------|
| 3.1 Actividades preliminares | |
| 3.1.1 Humedad..... | 35 |
| 3.1.2 Criomolienda y determinación del diámetro medio Sauter..... | 35 |
| 3.1.3 Extracción por el método Soxhlet..... | 35 |
| 3.2 Rendimiento US..... | 36 |
| 3.2.1 Balance de masa (contacto sencillo)..... | 37 |
| 3.2.2 Extracción con disolvente | 39 |
| 3.2.3 Análisis estadístico | 41 |
| 3.3 Análisis estructural de la harina y calidad del aceite..... | 42 |
| 3.3.1 Análisis de imagen..... | 43 |
| 3.3.2 Microscopía electrónica de barrido (SEM)..... | 45 |
| 3.3.3 Cromatografía de capa fina | 47 |
| 3.4 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)..... | 50 |
| 3.5 Isoterma de sorción..... | 63 |
| 3.5.1 Modelo de GAB..... | 64 |
| Conclusiones..... | 67 |
| Referencias bibliográficas..... | 69 |
| Índice de tablas | iv |
| Índice de figuras | v |

Resumen

En el presente trabajo la semilla de Moringa fue el objeto de estudio, donde se hizo uso del ultrasonido (US) para la extracción del aceite que posteriormente se caracterizó, además se observó el efecto del US en la harina residual; los resultados indican que la aplicación del US tiene ventajas sobre el método Soxhlet, la técnica se aplicó a un tiempo de 5 15 y 30 min., siendo que para el primer valor se obtuvo casi el mismo rendimiento que al tiempo de 30 min.

El aceite obtenido se caracterizó mediante cromatografía en capa fina, con el análisis se identificó la presencia del ácido oleico así como del ácido linolénico; estos resultados se confirmaron con la aplicación de la calorimetría diferencial de barrido modulada.

Para observar parte de los efectos del US en la harina residual, se hizo uso de la microscopia electrónica de barrido (SEM), donde dichos efectos fueron más evidentes a tiempos mayores de aplicación, finalmente con la isoterma de sorción y aplicación del modelo de GAB, de acuerdo a la capacidad de la harina con la adsorción del agua en comparación con la harina sometida al método Soxhlet se determinó que los efectos propios del US no son tan significativos. Así el US constituye una tecnología de importancia en la extracción de aceite de semillas de Moringa.

Introducción.

La Moringa es un árbol originario del norte de la India, todas sus partes son útiles pero las semillas son de importancia ya que contienen de un 30.8 % hasta un 32.8 % de aceite comestible con un alto valor nutritivo, además el aceite tiene una composición del 73 % en ácido oleico (Magaña, 2012). Para el desarrollo del presente trabajo se tomaron dos bloques importantes: la obtención del material de interés y la caracterización del mismo. Para la obtención existen diferentes técnicas, siendo la lixiviación la indicada en el proceso de extracción esta consiste en la disolución preferente de uno o más componentes de una mezcla sólida por contacto con un disolvente líquido (Treybal, 1980). Los compuestos a lixiviar se encuentran generalmente dentro de las células. Si las paredes celulares permanecen intactas después de la exposición a un disolvente entonces interviene la osmosis del soluto a través de las paredes (Coulson y Richardson, 2003).

Además de las técnicas comunes de extracción, en los últimos años la implementación o el acoplamiento de nuevas tecnologías permite un mayor rendimiento, por ejemplo la aplicación del ultrasonido (US); su implementación aumenta el rendimiento y la velocidad de transferencia de masa (Shirsath, Sonawanw y Gogate, 2012). La eficacia del método se basa en el fenómeno de cavitación, un constante choque de ondas al material, esto deteriora considerablemente la materia prima, en el trabajo los efectos ocasionados por la onda son de importancia ya que nos pueden proporcionar información acerca de cómo actúa el US a nivel estructural, para observarlo se debe tener un acercamiento a las conformaciones del objeto de estudio. Varias son las técnicas que nos permiten esto, entre las más utilizadas en la visualización de superficies de biomateriales, está la Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), la cual ofrece imágenes de gran resolución y profundidad de campo con una calidad

tridimensional. Esta técnica es muy utilizada en los análisis de muestras generadas de los estudios de degradación acelerada (Lozano, et al. 2010), como en este caso particular para los efectos del US en el material.

Para la parte de la caracterización del aceite, los análisis clásicos se basan en el índice de yodo, de acidez, de saponificación, de peróxidos y densidad, Sin embargo, existen otras técnicas como la cromatografía de placa delgada, esta técnica resulta de gran utilidad para establecer los componentes de una mezcla (Lorenzo, 2006). Además la calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC), determina transiciones de fase en compuestos inorgánicos, polímeros y alimentos. Esta técnica se utiliza para detectar cambios endotérmicos o exotérmicos que ocurren durante una medida dinámica en función de la temperatura, por lo cual se puede establecer la presencia de los diferentes componentes en una muestra, para este caso el aceite (Navarrete, et al. 1999). Cada una de estas técnicas ofrece diferentes valores acerca de las características del material, esta técnica nos permitirá saber si las composiciones del aceite en ácidos grasos son afectados por el tiempo de aplicación del US, de esta forma se puede obtener un estudio más general y puntual de la materia prima. En el siguiente estudio, con la aplicación de las técnicas antes mencionadas, se llevó a cabo el análisis del aceite obtenido a partir de las semillas de Moringa, determinando algunas de sus propiedades y de esta forma establecer las características del mismo, pero aún más importante los efectos del ultrasonido como tratamiento en el proceso de extracción del aceite.

ÍNDICE DE TABLAS.

| | Pagina |
|---|---------------|
| 1.1.- Comparación del contenido nutritivo de las hojas de moringa con otros alimentos por cada 100 g de parte comestible. | 2 |
| 1.2.- Composición de las semillas de M. oleífera. | 3 |
| 2.1. Sales utilizadas en la elaboración de la curva de sorción. | 32 |
| 3.1.- Rendimiento en aceite, refinado y extracto de acuerdo al balance de masa | 39 |
| 3.2.- Rendimiento de aceite de Moringa extraído con los dos diferentes métodos | 40 |
| 3.3.- Temperaturas de transición y ΔC_p en zona I | 51 |
| 3.4.- Temperaturas de fusión y entalpía en la zona II | 52 |
| 3.5.- Principales transiciones en la zona III y ΔC_p | 53 |
| 3.6.- Temperaturas y ΔC_p de las principales transiciones para la muestra del omega 3 | 60 |
| 3.7.- Temperaturas de transición en la zona de fusión del ácido linolénico | 62 |
| 3.8.- Valores de los parámetros obtenidos a partir del modelo de GAB para la harina residual del US y Soxhlet. | 65 |

ÍNDICE DE FIGURAS.

| | Pagina |
|--|---------------|
| 1.1.- Representación de rama, hojas, vaina y semillas de <i>M. oleífera</i> . | 1 |
| 1.2.- Diagrama esquemático del proceso de difusión molecular. | 8 |
| 1.3.- Diagrama representativo para una etapa de extracción, con los diferentes flujos y condiciones. | 9 |
| 1.4.- Diagrama triangular representativo de las diferentes corrientes en el proceso de lixiviación. | 9 |
| 1.5.- Mecanismo de la cavitación, difusión del disolvente en la estructura celular, disolución del aceite y extracción. | 12 |
| 1.6.- Imagen donde se muestra la aplicación del TLC | 13 |
| 1.7.- Termograma para un polímero semicristalino típico | 15 |
| 1.8.- Isoterma de adsorción y desorción para un alimento | 18 |
| 1.9.- Tipos de isothermas de adsorción de agua. | 19 |
| 2.1.- Diagrama representativo para una etapa de extracción, con los diferentes flujos y condiciones. | 28 |
| 2.2.- Representación de cámara hermetica para el equilibrio entre la humedad relativa de la sal y del alimento. | 31 |
| 3.1.- Localización de los puntos F0, D, M, E1 y R1 | 38 |
| 3.2.- Grafico de caja donde se muestra la dispersión de los datos de extracción a los diferentes tiempos. | 41 |
| 3.3.- Grafico de caja donde se muestran de acuerdo a cada repetición la variación de los datos de cada tiempo, de la extracción de aceite. | 42 |
| 3.4.- Semilla de <i>M. oleífera</i> criomolida. | 43 |
| 3.5.- Semilla de <i>M. oleífera</i> , desengrasada con aplicación de ultrasonido (5 min.). | 43 |
| 3.6.- Semilla de <i>M. oleífera</i> , desengrasada con aplicación de ultrasonido (30 min.). | 43 |
| 3.7.- Formación, crecimiento y colapso de las burbujas generadas por el fenómeno de cavitación. | 44 |
| 3.8.- Microfotografía de la semilla de <i>M. oleífera</i> , desengrasada mediante el método Soxhlet. | 45 |
| 3.9.- Semilla de <i>M. oleífera</i> , desengrasada con aplicación de ultrasonido (5 min.). | 46 |

| | |
|---|----|
| 3.10.- Semilla de M. oleífera, desengrasada con aplicación de ultrasonido (30 min.). | 46 |
| 3.11.- TLC para muestra de aceite en ácido oleico de grado comercial (R) y extraída (M) | 47 |
| 3.12.- TLC para muestras de Omega 3 de grado comercial (R) y extraída (M) | 48 |
| 3.13.- Perfil del flujo de calor para las muestras de aceite obtenidas mediante Soxhlet y US. | 50 |
| 3.14.- Zona I, transiciones en el intervalo de temperatura de -50 a -26 °C | 51 |
| 3.15.- Zona II, transiciones en el intervalo de temperatura de -26 a 12 °C | 52 |
| 3.16.- Zona III, transiciones para el ácido oleico en el intervalo de temperatura de 12 a 30 °C. | 53 |
| 3.17.- Capacidad calorífica para las diferentes muestras de aceite de las semillas de Moringa. | 54 |
| 3.18.- Primera derivada del flujo de calor para las muestras de aceite de las semillas de Moringa. | 55 |
| 3.19.- Perfil del flujo de calor para las muestras de aceite de las semillas de Moringa y la muestras del omega 3. | 58 |
| 3.20.- Primeras transiciones presentes en la muestra del omega 3. | 59 |
| 3.21.- principal transición de la muestras del omega 3. | 60 |
| 3.22.- Primera derivada del flujo de calor para las muestras en la zona de temperatura de fusión del ácido linolénico (-11 °C). | 61 |
| 3.23.- Isoterma de sorción de las dos muestras de harina residual (US y Soxhlet). | 63 |

Capítulo I

1.1 Moringa

1.1.1 Origen y antecedentes

La *Moringa oleífera* pertenece al género *Moringaceae*, tan solo este cuenta con 14 especies y la *M. oleífera* es la más ampliamente estudiada y utilizada, es comúnmente conocida como el árbol de rábano picante, nativo de la India, desde donde ha sido introducido en muchos países cálidos. El árbol es de crecimiento rápido, se extiende a una altura de 5-10 m incluso hasta los 15 m (Anwar y Bhangar, 2003); los frutos (vainas) son alrededor de 50 cm de largo, son muy perecederos, no se pueden almacenar durante tiempos largos a condiciones ordinarias ya que el deterioro microbiano empieza de los 8 a 10 días después de su recolección. Las semillas plenamente maduras y secas son redondas o de forma triangular como se observa en la Fig. 1.1., además el núcleo está rodeado por una envoltura arbolada con tres alas parecidas al papel.

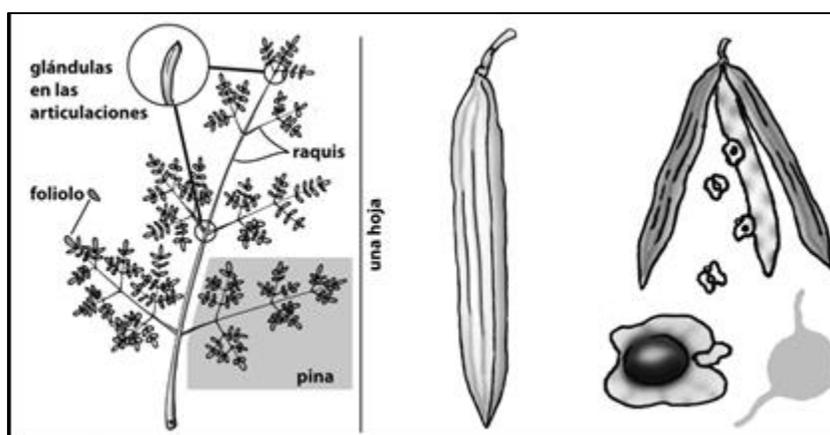


Figura 1.1.- Representación de rama, hojas, vaina y semillas de *M. oleífera* (Olson y Fahey, 2011)

Muchas de sus propiedades le son adquiridas gracias a las semillas, por su alto contenido en aceite, cuya composición tiene más del 70 % en ácido oleico; esta característica en especial hace del aceite un potencial sustituto del aceite de oliva, aunque en general todas las partes del árbol tienen un valor nutritivo para la alimentación, las hojas, frutos, flores y vainas inmaduras este árbol se utilizan como un vegetal nutritivo (Singh, Negi y Radha, 2013) ya que la planta de

Moringa contiene varios aminoácidos (Fenilalanina, Tirosina, Histidina, Isoleucina, Leucina, lisina, etc.), ácidos grasos y vitaminas (Chuang, et al. 2007).

El intervalo natural de extensión de este árbol es de Arabia a la India. Actualmente la Moringa es común en países de todos los trópicos del mundo, del sur de Asia y África occidental. Es más visible en partes del este y sur de África. También se puede encontrar en huertos caseros de muchas islas del Pacífico, desde Kiribati hasta las Marianas del norte (Padilla, Fraga y Suarez, 2012).

En México el árbol ha llegado en forma de semillas desde África y la India, generalmente para su cultivo en campos especializados; se encuentra abundantemente en los pueblos de toda la costa del Pacífico, desde el sur de Sonora hasta Chiapas, incluyendo el sur de la península de Baja California (Olson y Fahey, 2011).

1.1.2 Composición fisicoquímica y aspectos nutricionales

La *M. oleífera* posee cualidades nutricionales sobresalientes y está considerada como uno de los mejores vegetales perennes. Sus hojas contienen un alto valor nutritivo, y es comparada con otros alimentos como se muestra a continuación en la tabla 1.1.

Tabla 1.1.- Comparación del contenido nutritivo de las hojas de moringa con otros alimentos por cada 100 g de parte comestible.

| Nutriente | Moringa | Otros alimentos |
|-----------------|---------|----------------------|
| Vitamina A (mg) | 1.130 | Zanahorias: 315 |
| Vitamina C (mg) | 220 | Naranjas: 30 |
| Calcio (mg) | 440 | Leche de vaca: 120 |
| Potasio (mg) | 259 | Plátanos: 88 |
| Proteínas (mg) | 6,700 | Leche de vaca: 3,200 |

(Magaña, 2012)

Las hojas poseen un porcentaje mayor al 25% de proteínas, esto es tantas como el huevo, o el doble que la leche; cuatro veces la cantidad de calcio que la leche, siete veces la cantidad de la vitamina C de las naranjas, tres veces más potasio que los plátanos. También contiene cantidades significativas de hierro, fósforo y otros elementos. Difícilmente se puede encontrar un alimento más completo, además el sabor es agradable y las hojas se pueden consumir frescas o preparadas de diferentes maneras (Magaña, 2012).

Las semillas contienen una cantidad considerable de aceite, el cual de acuerdo a sus cualidades lo hacen apto para el consumo humano. La composición de las semillas se observa en la tabla 1.2.

Tabla 1.2.- Composición de las semillas de *M. oleífera*.

| Características (%) | Valores obtenidos | Valores reportados | |
|------------------------|-------------------|--------------------|------|
| | | 1 | 2 |
| Humedad (%) | 7.9 ± 1.00 | Nd | 4.1 |
| Proteína cruda (%) | 38.3±1.03 | 36.7 | 38.4 |
| Grasas/aceites (%) | 30.8±2.19 | 41.7 | 34.7 |
| Fibra cruda (%) | 4.5±0.38 | 4.8 | 3.5 |
| Cenizas (%) | 6.5±0.15 | 3.8 | 3.2 |
| Carbohidratos Tot. (%) | 16.5 | 17.8 | 17.1 |

(Abdulkarim y Long, 2005).

Las semillas de Moringa son bajas en humedad lo que permite su conservación por tiempos prolongados a temperaturas bajas; un alto contenido en proteínas 38.3%. La concentración de un 35 a un 45 % de aceite y el bajo contenido de ácidos grasos poliinsaturados (< 1%) da una notable estabilidad oxidativa al aceite. Esta estabilidad es mayor que la de otros aceites ricos en ácido oleico como el de oliva, girasol, cárcamo, almendras y aceite de albaricoque (Ayerza, 2012).

1.1.3 Usos

La *Moringa oleífera* es una planta de usos múltiples, económicamente útil como fuente de alimento, medicina natural, forraje animal, productos forestales, fertilizantes, etc. También le

son atribuibles propiedades medicinales ya que todas las partes se han comparado individualmente con otras plantas para el tratamiento de diversas enfermedades, exhibiendo propiedades terapéuticas (Popoola y Obembe, 2013). Es una planta de múltiples usos, dentro de los cuales también se encuentra la producción de sustancias gomosas ya que estas se emplean en importantes tipos de industrias, como la de alimentos, la farmacéutica, la cosmética y otras; en la elaboración de los más disímiles productos como: confites, derivados lácteos, alimentos enlatados, bebidas gaseosas, productos dietéticos, emulsiones, tabletas, grageas, jarabes y suspensiones, emulsiones y cremas, cintas pegantes, papel, tintas, pinturas, y telas (Peréz, et al. 2010).

Las hojas al caer sirven como abono verde, debido a que pueden proveer cantidades importantes de nitrógeno, estas constituyen uno de los forrajes más completos que se tienen, muy ricas en proteínas, vitaminas, minerales y con una palatabilidad excelente, las hojas son ávidamente consumidas por todo tipo de animales: Rumiantes, camellos, cerdos, aves, incluso carpas, tilapias y otros peces herbívoros.

Las semillas exhiben la propiedad de coagulantes-floculantes naturales, que tienen uso potencial en agua y tratamiento de aguas residuales para eliminar la turbidez y los lodos de las mismas (Ganesan, et al. 2014).

Además presentan un contenido alto en aceite (31 - 47%), el cual está compuesto en su mayoría de ácido oleico, lo cual lo hace apto para el sector culinario. La torta de semilla contiene 60% de proteína por lo que puede utilizarse como un suplemento proteico, elemento esencial para la alimentación en la época seca del ganado vacuno y ovino (Peréz, et al. 2010).

1.2 Extracción de aceite

La separación de los aceites y grasas a partir de productos oleaginosos animales (tejidos grasos) y vegetales (semillas oleaginosas), constituye una rama propia y especializada de la tecnología de las grasas. La diversidad de características de los distintos productos grasos da lugar también a los distintos procedimientos de extracción, tales como la fusión, el prensado y la extracción con disolvente. La extracción de los aceites vegetales presenta mayores dificultades a comparación de las grasas, ya que las plantas y sobretodo las semillas oleaginosas, contienen

considerables cantidades de productos sólidos asociados con el aceite. Para separar eficazmente el aceite de los sólidos es necesario pulverizar cuidadosamente el material (Bailey, 1984).

La lixiviación es una operación donde los componentes de la fase sólida se separan por disolución selectiva de la parte soluble del sólido con un disolvente adecuado. El sólido debe estar finamente dividido para que el disolvente líquido pueda hacer un contacto más complejo. Por lo general, el componente deseable es soluble, mientras que el resto es insoluble (Orozco, 1996).

Si el soluto se encuentra uniformemente disperso en el sólido, se disolverá en primer lugar el material próximo a la superficie, dejando una estructura porosa en el sólido residual. El disolvente debe penetrar entonces en esta capa antes de alcanzar más material soluble, resultando el proceso cada vez más difícil y disminuyendo la velocidad de extracción (Coulson y Richardson, 2003).

El método utilizado para la extracción estará determinado por la proporción del componente soluble presente, su distribución en el sólido, la naturaleza de dicho sólido y el tamaño de partícula. Esta operación es utilizada en la obtención de muchos productos orgánicos, por ejemplo, el azúcar, los aceites vegetales a partir de las semillas, como la soya y el algodón separado por solventes orgánicos.

1.2.1 Criomolienda

El objetivo de la molienda es obtener material en polvo con tamaños de partícula más pequeños, con atributos de buena calidad como la uniformidad, conservación de los micronutrientes y reducción de aceites volátiles (Murthy y Bhattacharya, 2008). Es una operación poco eficiente, ya que sólo el 1 % de la energía impartida se utiliza en el material para crear nuevas áreas de superficie o en el debilitamiento de los enlaces entre las partículas y el 99 % restante de la energía es disipada en forma de calor y otras formas de energía como en el aumento de la temperatura del producto molido.

La mayor parte de las dificultades presentes en la molienda convencional se pueden evitar mediante el uso de nitrógeno líquido, las ventajas principales de la criomolienda son: mayor reducción de tamaño debido a la fragilidad y molienda fina de materiales difíciles, una mayor

dispersión, reducción de la pérdida de aceites volátiles, un mayor rendimiento y menor consumo de energía de molienda (Manohar y Sridhar, 2001).

Esta técnica a baja temperatura mantiene frágil el material durante el proceso, esto ayuda a conseguir que el tamaño de partícula del producto final sea más fino, aumentando el área superficial. Este aumento genera más biodisponibilidad de muchos otros compuestos tales como proteínas y componentes aromatizantes. El material se fractura por la acción del movimiento mecánico de las piezas en la máquina y en un principio el estrés generado por la molienda es absorbido internamente por el material, como energía de deformación.

Cuando la energía de deformación local supera un nivel crítico que es una función del material, se produce la fractura a lo largo de las líneas de debilidad y la energía almacenada se libera. Una parte de la energía se emplea en la creación de la nueva superficie, pero la mayor parte de ella se disipa en forma de calor. El tiempo también juega un papel importante en el proceso de molienda ya que el material llega a un diámetro de partícula más uniforme durante períodos más largos de aplicación (Murlidhar y Goswami, 2013).

La implementación de la criomolienda es esencial para asegurar una mezcla adecuada de los nutrientes y aumentar la disponibilidad de los mismos presentes en los alimentos, entre más energía se aplique, más fino será el tamaño de partícula de los productos acabados. Después de la reducción de tamaño el material se clasifica o agrupa de acuerdo a su diámetro de partícula.

1.3 Transferencia de masa y fenómenos de transporte

La transferencia de masa es el movimiento de las moléculas de una especie dada dentro de una sola fase, siempre se difunden de las regiones de concentración alta a las regiones de concentración baja (Scott, 2001); el gradiente de concentración proporciona el potencial de impulso para el transporte de esas especies o componentes (Incropera y Witt, 1999). Cuando un sistema contiene dos o más componentes cuyas concentraciones varían de un punto a otro, presenta una tendencia natural a transferir la masa, haciendo mínimas las diferencias de concentración dentro del sistema.

El mecanismo de transferencia depende de la dinámica del sistema, ya sea por medio del movimiento de las moléculas en los fluidos en reposo o que puede transferirse de una superficie a un fluido en movimiento, ayudado por las características dinámicas del flujo (Ullauri, 2010).

La transferencia de masa involucra un grupo de operaciones en ocasiones para la separación de componentes de mezclas, desde una fase homogénea a otra. Contrariamente a las separaciones puramente mecánicas, estos métodos ocupan diferencias en la presión de vapor o la solubilidad, en vez del tamaño o la densidad de las partículas. Estos métodos incluyen técnicas tales como destilación, absorción de gases, deshumidificación, extracción líquido-líquido, lixiviación, cristalización, así como muchas otras (McCabe, Smith y Harriott, 1991).

Dentro de los diferentes métodos se presentan los fenómenos de transporte, conocidos como procesos de transferencia, en los que se establece el movimiento de una propiedad (masa, momento o energía) en una o varias direcciones bajo la acción de una fuerza impulsora. El mecanismo de la transferencia de masa, depende de la dinámica del sistema en que se lleva a cabo. Hay dos modos de transferencia de masa:

1. Convectiva: La masa puede transferirse debido al movimiento global del fluido. Puede ocurrir que el movimiento se efectúe en régimen laminar o turbulento.
2. Molecular o difusión ordinaria: Puede definirse como la transferencia (o desplazamiento) de moléculas a través de un fluido por medio de desplazamientos individuales y desordenados de las mismas, debido a una diferencia de concentraciones. La difusión puede ocurrir en sistemas de fluidos sin movimiento aparente o en fluidos que se están moviendo.

En la Fig. 1.2., se ilustra la trayectoria desordenada que la molécula "A" puede seguir al difundirse del punto (1) al (2) a través de las moléculas de "B". Si hay un número mayor de moléculas de "A" cerca del punto (1) con respecto al punto (2), entonces, y puesto que las moléculas se difunden de manera desordenada, en ambas direcciones, habrá más moléculas de "A" difundiéndose de (1) a (2) que de (2) a (1).

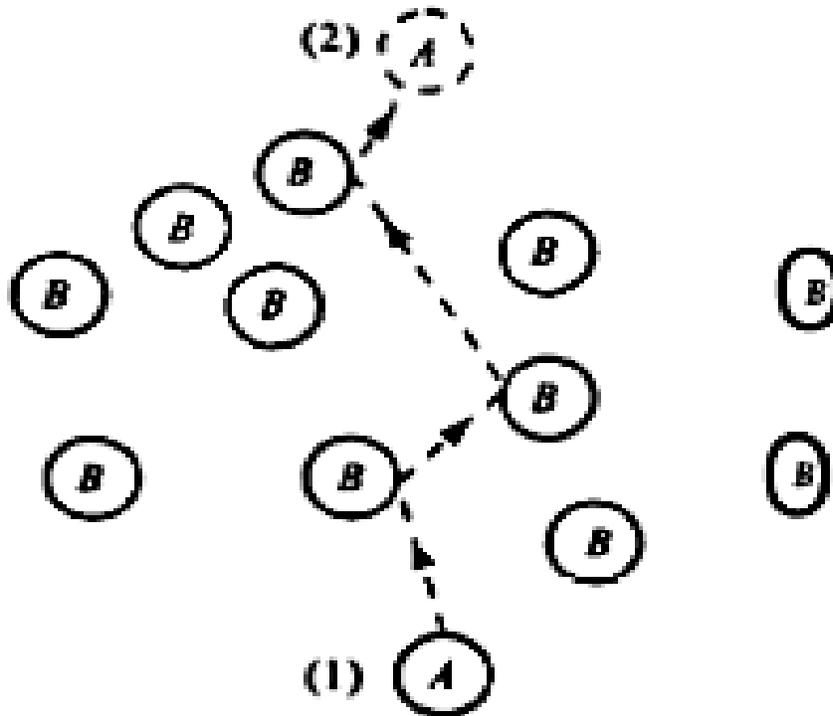


Figura 1.2.- Diagrama esquemático del proceso de difusión molecular (Masciarelli, 2012)

Puesto que las moléculas se desplazan en trayectorias al azar, la difusión molecular a veces se llama también proceso con trayectoria aleatoria. Aunque la causa habitual de difusión es un gradiente de concentración, la difusión también puede ser originada por un gradiente de presión, por un gradiente de temperatura o por la aplicación de una fuerza externa como en el caso de una centrifuga (Masciarelli, 2012).

El transporte de masa en líquidos y sólidos se origina generalmente debido a una combinación de convección (movilización de fluido) y difusión. En los sólidos, estos movimientos atómicos quedan restringidos (no existe convección), debido a los enlaces que mantienen los átomos en las posiciones de equilibrio, por lo cual el único mecanismo de transporte de masa es la difusión. Sin embargo las vibraciones térmicas que tienen lugar en sólidos permiten que algunos átomos se muevan. La difusión de éstos en metales y aleaciones es particularmente importante si consideramos el hecho de que la mayor parte de las reacciones en estado sólido llevan consigo movimientos atómicos; como ejemplo se pueden citar la formación de núcleos y crecimiento de nuevos granos en la recristianización de un metal trabajado en frío y la precipitación de una segunda fase a partir de una solución sólida (Berrocal, 2011).

1.3.1 Diagrama triangular y balance de masa por contacto sencillo

La extracción sólido-líquido por contacto sencillo se trata de una operación en una sola etapa que consiste en poner en contacto íntimo toda la alimentación con todo el disolvente a emplear, separando después la disolución formada del sólido inerte con la disolución retenida. La representación de dicha operación se observa en la Fig. 1.3.

Contacto sencillo:



Figura 1.3. Diagrama representativo para una etapa de extracción, con los diferentes flujos y condiciones (Ibarz y Cánovas, 2005)

Las composiciones de los flujos inferior y superior se representan en las coordenadas x e y , respectivamente. La representación de las diferentes corrientes sobre el diagrama triangular se indica en la Fig. 1.4.

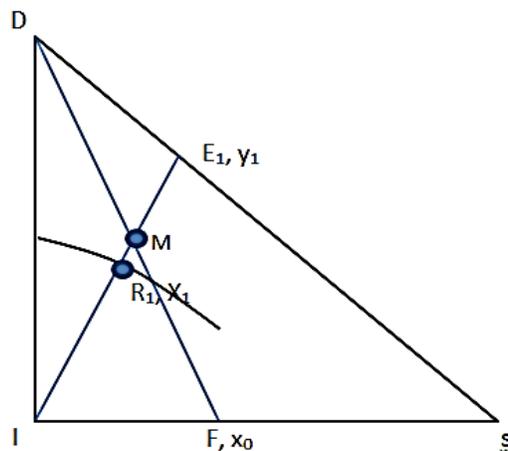


Figura 1.4.- Diagrama triangular representativo de las diferentes corrientes en el proceso de lixiviación.

Por aplicación de balance de materia resulta:

$$F_0 + D_0 = M = E_1 + R_1 \quad (1.1)$$

$$F_0 X_0 + D_0 Y_0 = M X_M = E_1 Y_1 + R_1 X_1 \quad (1.2)$$

$$(XM)_D = \frac{F_0 X_0}{F_0 + D_0} \quad (1.3)$$

De donde:

1. F_0 = Alimento
2. D_0 = Disolvente
3. M = Mezcla
4. E_1 = Extracto (compuesto principalmente por solvente y soluto)
5. R_1 = Refinado (compuesto principalmente de inerte con fracciones de soluto y solvente)
6. X_0, X_M y Y_0 = Fracciones del soluto en las corrientes

Aplicando el balance de materia se obtiene el valor de la abscisa para el punto de mezcla M. Por otra parte, como este punto se encuentra en la recta FD, queda perfectamente localizado (Treybal, 1980), una vez situado el punto M, las composiciones de extracto y refinado se obtendrán al trazar la recta de reparto (recta vertical) que pasa por M, sobre el eje de las abscisas se obtiene la composición del extracto; mientras que sobre la curva de retención se obtiene la composición de la fase de refinado. Una consideración es que al estar en equilibrio la solución de extracto con la retenida por el sólido inerte se cumple que $X_{R1} = Y_{E1}$ (no siempre).

Una vez obtenidas las composiciones de las fases extracto y refinado, las cantidades correspondientes a estas fases se obtienen a partir de los balances de materia. En el caso que el disolvente sea puro se cumplirá que $N = Y_D = 0$. Es decir, el punto representativo de la corriente del disolvente es el origen de coordenadas. Si el disolvente no es puro, dicho punto se encontrará en el interior del diagrama. Este método gráfico sirve para resolver algunos tipos de problema que se plantee, en un contacto sencillo único (Ibarz y Cánovas, 2005).

1.4 Ultrasonido (US)

El ultrasonido es una forma de energía que viaja en ondas de sonido iguales o mayores a 20000 vibraciones por segundo; es una tecnología que asiste o ayuda en la modificación de procesos o mejora de los existentes (Ozuna y Martínez, 2012), que se ha desarrollado para minimizar el procesamiento, maximizar la calidad y garantizar la calidad de los productos alimenticios. Se aplica para impartir efectos positivos en el procesamiento de alimentos tales como la mejora de la transferencia de masa, conservación del alimento, tratamientos térmicos asistidos y la manipulación de la textura así como en el análisis de los alimentos (Awad, et al. 2012).

La utilización del US en la tecnología de alimentos para su procesamiento, conservación y extracción es un sistema que ha evolucionado para mantener el continuo desarrollo. El ultrasonido genera fenómenos físicos y químicos que son fundamentalmente diferentes en comparación con los aplicados en la extracción convencional de procesamiento o de técnicas de preservación.

El ultrasonido ofrece una red de ventajas en términos de productividad, rendimiento y selectividad, con una mejora en el tiempo de procesamiento, mejora en la calidad, reducción de peligros físicos y químicos, y es amigable con productos alimenticios (Chemat, Huma y Khan, 2011). La aplicación del ultrasonido, resultado de la sonicación, es la cavitación o la formación y colapso de burbujas microscópicas que pueden liberar enormes cantidades de energía en forma de calor, presión y cizallamiento mecánico (Corrales, et al, 2008).

La extracción por US es una técnica sencilla para la recuperación de diferentes compuestos, en la extracción de aceites, la intensidad y potencia crea una vibración extra en las moléculas de las muestras y de esta forma facilita la recuperación de los compuestos de interés; por lo tanto, su alto rendimiento y corto tiempo de aplicación junto con la poca cantidad de disolvente, son grandes ventajas frente a otras técnicas de extracción (Samaram, et al. 2015).

La manera en la que el US actúa en este proceso se observa en la Fig. 1.5 de esta forma las estructuras internas propias del material se ven obligadas a la entrada libre del solvente, este se difunde a través del material y disuelve el aceite, después la mezcla se difunde hacia la superficie y finalmente se drena a través de la capa de sólidos (Grasso, 2013).

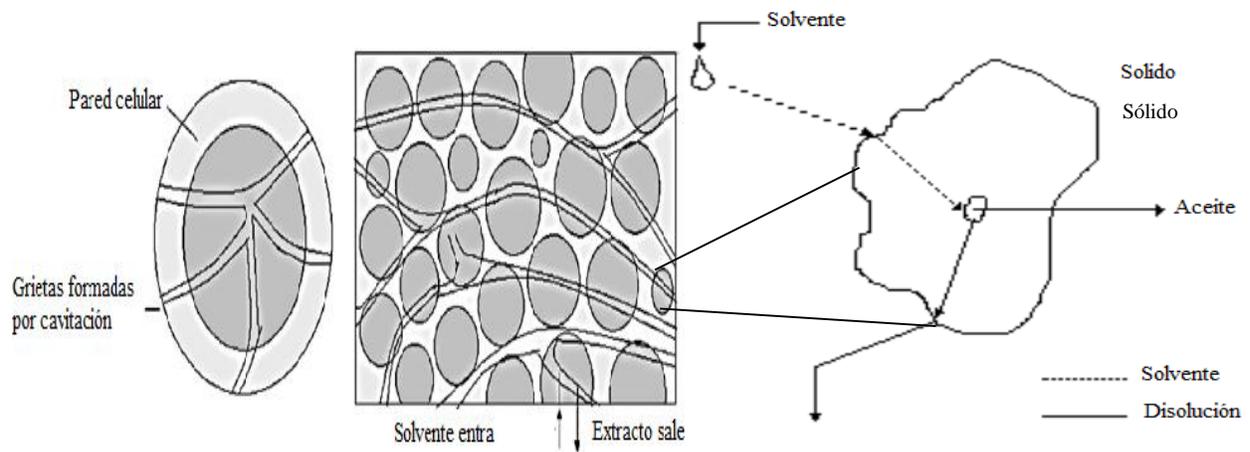


Fig. 1.5.- Mecanismo de la cavitación, difusión del disolvente en la estructura celular, disolución del aceite y extracción (Shirsath, Sonawane y Gogate, 2012; Grasso, 2013).

La mayor tasa de extracción se atribuye a la disrupción de las estructuras celulares y al aumento en la accesibilidad del disolvente a la estructura interna de la partícula, lo que mejora la difusividad intraparticulas (Qiang, et al. 2010).

1.5 Caracterización del aceite

1.5.1 Cromatografía de capa fina (TLC)

La cromatografía en capa fina es una técnica de separación, en la que la fase estacionaria está sobre un plano formando una capa de partículas sólidas extendida sobre un soporte, tal como una placa de vidrio o aluminio (Thin Layer Chromatography, TLC).

La muestra es aplicada en puntos o en banda, para posteriormente ser eluída dentro de un tanque cromatográfico, de esta forma se realiza la separación de muestra con una instrumentación muy simple, además de ser útil cuando se analizan muestras “sucias” sin ninguna limpieza anterior (Kreisberger, et al. 2015); en la Fig. 1.6 se tiene la forma de aplicación.

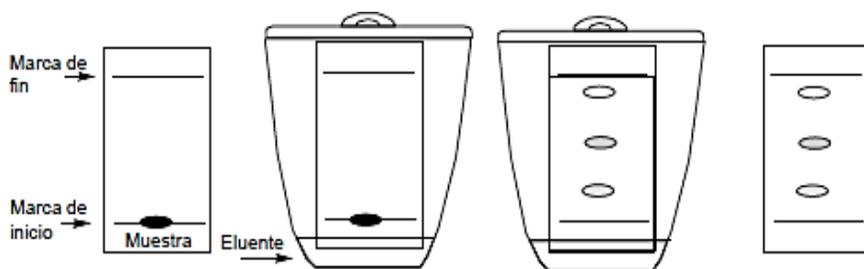


Figura 1.6.- Procedimiento de aplicación de la cromatografía en capa fina. (Martínez, et al. 2008)

Dentro del sistema cromatográfico existen dos partes fundamentales, uno es la fase estacionaria (adsorbente) que puede ser un sólido, un gel o un líquido. Si es un líquido, puede estar distribuido en un sólido, el cual puede o no contribuir al proceso de separación. El líquido puede también estar químicamente unido al sólido (fase ligada) o inmovilizado sobre él (fase inmovilizada), y la fase móvil (eluyente) es el fluido (solvente o mezcla de solventes) que se filtra a través o a lo largo del lecho estacionario (fase estacionaria), en una dirección definida.

Cuando se utiliza un líquido como fase móvil, se escoge la mejor combinación de solventes miscibles para una buena separación cromatográfica de una muestra en sus componentes (Martínez, et al. 2008). Si los componentes de la muestra (manchas) no son coloreados, se requiere de métodos que nos permitan visualizar los componente presentes. Este procedimiento también se conoce como “revelado de la placa”.

Una forma de detectar e identificar estas manchas es mediante el uso de reveladores, o sustancias que pulverizadas sobre el cromatograma desarrollado, originan una coloración específica sobre algunas de las manchas, debido a que el revelador es una sustancia química que reacciona específicamente sobre algunos componentes, originando un color visible característico. El reactivo de Gibbs, ácido sulfúrico, vainillina, etc., son algunas de las sustancias que se pueden emplear como reveladores en los cromatogramas de aceites esenciales (Ortuño, 2006). Otro ejemplo son los vapores de yodo, los cuales en contacto con la placa tiñen de marrón o amarillo las manchas correspondientes de las sustancias presentes en la placa (Lamarque, et al. 2008).

En los lípidos el TLC es de las técnicas más empleadas en la separación de sus componentes, es una forma de cromatografía de adsorción sólido-líquido, utilizado para el análisis rápido de pequeñas cantidades de muestras, para el control y seguimiento de las separaciones que se producen (Ocampo, et al. 2008), ya que los lípidos se componen de sustancias polares y no polares haciendo que los más polares queden a una altura superior que los menos polares dentro de la placa, siendo de esta forma la separación por la migración diferencial (Macarulla y Goñi, 1994) y (Sharapin, 2000). Este método es ampliamente aplicado a varios tipos de muestras por su facilidad y costo, se ha aplicado con éxito en el análisis de lípidos (Tao y Feng, 2014).

1.5.2 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)

La calorimetría mide el diferencial de calentamiento entre una muestra y un material de referencia; como su temperatura es variada en un intervalo de interés, determina directamente las propiedades termodinámicas de la muestra. Es uno de los métodos más ampliamente aplicables, el MDSC se ha utilizado para caracterizar una amplia variedad de interacciones biomoleculares y transiciones conformacionales (Wang y Lin, 2013). El MDSC tiene la capacidad de separar los fenómenos físicos a través del flujo de calor reversible y no reversible, para la investigación de sistemas vítreos, el flujo de calor no reversible es una medida de la relajación estructural. El componente de inversión de la señal de flujo de calor se puede utilizar para determinar una temperatura de transición de modulación dependiente, mientras que el flujo de calor no reversible ha sido ampliamente utilizado en el estudio de fases intermedias y otros sistemas (Guo, et al. 2012).

La calorimetría diferencial de barrido modulada es una técnica relativamente reciente. Se ha demostrado que con esta técnica se tiene la medición más precisa de la capacidad calorífica, separación de transiciones térmicas y la identificación de eventos térmicos (Vivienne, Duncan, y Liam, 1998). En la Figura 1.7, se muestra la forma general de un termograma para un polímero semicristalino típico, que ha sido enfriado rápidamente hasta una temperatura inferior a su temperatura de transición (T_g), obteniéndose después el termograma a una cierta velocidad de calentamiento.

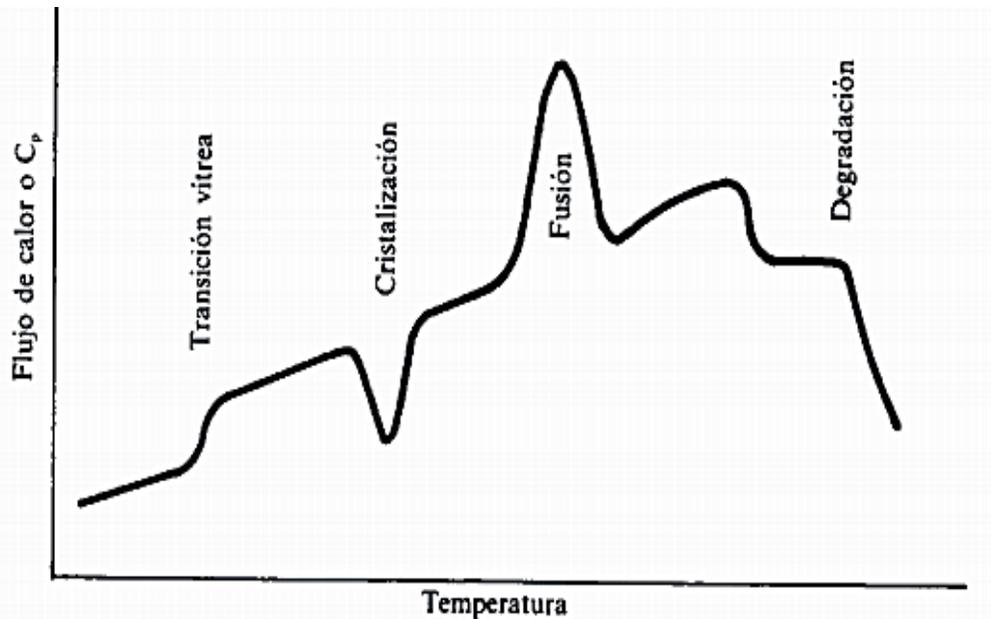


Figura 1.7.- Termograma para un polímero semicristalino típico (Llorente y Horta, 1991)

Al llegar a la transición vítrea comienzan ya a tener lugar movimientos de segmentos de las cadenas del polímero. La capacidad calorífica de este estado es diferente del correspondiente al estado vítreo, teniendo lugar un salto en C_p a la temperatura de transición vítrea, T_g . Desde un punto de vista termodinámico, la transición vítrea, puede considerarse como una transición de segundo orden. Al calentar lentamente el polímero por encima de su T_g , las cadenas tienen ya suficiente movilidad para cristalizar a temperaturas por debajo de su punto de fusión. El proceso de cristalización es un proceso exotérmico, manifestándose en el termograma mediante un pico.

El proceso de fusión que ocurre al seguir aumentando la temperatura da lugar a un pico endotérmico a la temperatura máxima (T_m). Al igual que la cristalización, la fusión es una transición termodinámica de primer orden. A temperaturas muy altas tiene lugar la degradación del polímero. El termograma indicado en la Figura 1.7 es un caso ideal ya que existen numerosos factores que alteran la forma de las diferentes transiciones. Una característica general de las mismas es que no ocurren a una temperatura fija, sino que cubren un amplio intervalo de temperaturas. Esto es debido a la naturaleza irregular de los sistemas poliméricos: polidispersidad, distinto tamaño de cristales, en el caso de los aceites polimorfismo (Llorente y Horta, 1991)

En el sector de los aceites esta técnica viene utilizándose desde hace varias décadas ya que el perfil térmico obtenido mediante calorimetría diferencial de barrido, está relacionado con muchas propiedades físicas y químicas de estos productos, dentro de sus aplicaciones se puede destacar la caracterización de los perfiles térmicos de diferentes aceites de semillas, la determinación de componentes polares en aceites sometidos a altas temperaturas y la determinación de la procedencia de las diferentes muestras (Márquez y Maza, 2003).

1.5.2.1 Transición de fase en lípidos

Dentro de las grasas y aceites vegetales comestibles se tienen como componentes principales los triglicéridos (TG), que se forman por la reacción de la condensación de glicerol y ácidos grasos, acilgliceroles parciales (mono y diacilgliceroles) y ácidos grasos libres (AGL), además están normalmente presentes como compuestos de menor importancia rastros de fosfolípidos, esteroides, tocoferoles, vitaminas y otros colorantes como carotenos y clorofilas. La mayoría de los aceites vegetales naturales son mezclas complejas de muchos triglicéridos diferentes, y su composición exacta varía aún más de acuerdo a la fuente específica (Belting, et al. 2014). Las funciones de las moléculas lipídicas se resume básicamente en lo que se refiere, a su capacidad de formar agregados cristalinos y de interactuar con otros componentes tales como proteínas (lipoproteínas, con gran capacidad de dispersión y de emulsión) e hidratos de carbono (incluso en la molécula de almidón).

En estado líquido, las interacciones entre moléculas son muy débiles y adoptan un estado desordenado; en función de la cantidad de sólidos de la grasa, esta adquiere la característica de frágil, plástica o aceitosa (Riera, Salcedo y Alegret. 2004). A bajas temperaturas, los lípidos se encuentran en un estado de gel cristalino, estructura más bien rígida, donde su movilidad está restringida. Al aumentar la temperatura se produce una pretransición de fase que tiene que ver con el aumento en la movilidad rotacional de las cabezas lipídicas. A mayores temperaturas tiene lugar una transición en la movilidad de las colas de los fosfolípidos (Fernández, 2007).

Estas características propias de los lípidos se deben básicamente a que en sus moléculas se encuentra una zona no polar, representada por las cadenas alifáticas de los ácidos grasos y de otras con mayor o menor grado de polaridad. Cabe destacar que las cadenas interactúan entre sí mediante fuerzas de Van der Waals gracias a las cuales, las moléculas lipídicas (ácidos

grasos, acilgliceroles, fosfolípidos) pueden formar diferentes tipos de estructuras cristalinas capaces de manifestar el fenómeno de polimorfismo en función de la composición en ácidos grasos, de su composición en acilglicerol y de las condiciones de cristalización (temperaturas aplicadas y condiciones mecánicas) (Riera, Salcedo y Alegret. 2004).

Las transiciones de fase en los lípidos se ven afectados por la composición del mismo por lo que a aumentar o disminuir la temperatura, los arreglos entre moléculas varían dando diferentes estructuras conformacionales, teniendo como resultado cambios en intervalos de temperatura conocidos. Estos cambios tan particulares entre las diferentes composiciones son de gran ayuda en la caracterización de los aceites, para poder establecer de forma más concreta la composición del mismo.

1.6 Harina residual

Para tener un estudio más amplio de los efectos propios del US se tiene la obtención de la isoterma de sorción y el ajuste de la isoterma según el modelo de GAB.

1.6.1 Isoterma de sorción de agua

Una isoterma de sorción es una curva que describe, para una temperatura dada, la relación de equilibrio entre la cantidad de agua absorbida por los componentes del alimento y la presión de vapor o humedad relativa; en la Fig. 1.8 se observa la representación típica de la isoterma de sorción del agua. Esta representación se basa en que para una temperatura dada, el agua tiene siempre la misma presión de vapor (Gutiérrez, 2000). Su determinación se puede realizar mediante un método isopiéstico el cual consiste en equilibrar las muestras con soluciones sobresaturadas de sales con a_w conocido a las temperaturas estudiadas (Barreiro y Sandoval, 2006).

Las isotermas tienen una utilidad con fines básicos que involucran información relacionada con la cantidad de agua ligada, a través de la determinación del contenido de humedad de la capa monomolecular (monocapa) y la fuerza con la que está ligada esa agua (Ramirez, et al, 2014). Es una forma adecuada de analizar el grado de interacción del agua con el sustrato, siendo una manera muy útil de enfocar el estudio de la hidratación de alimentos sólidos. En la Fig. 1.8 está

representada la actividad de agua del alimento, eje de las X, en el eje de las Y está representado el contenido de humedad en equilibrio, en base seca del alimento, a cierta temperatura.

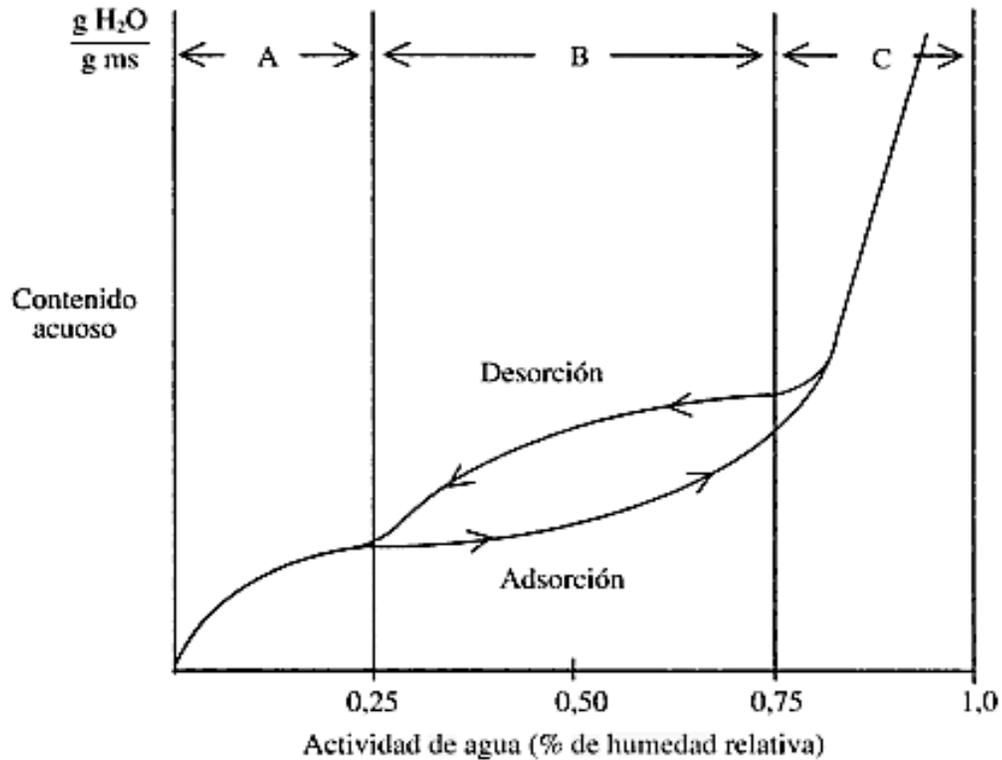


Figura 1.8.- Isoterma de adsorción y desorción para un alimento (Gutiérrez, 2000).

- La zona A corresponde a las actividades comprendidas entre 0-0.2 (agua monocapa)
- La zona B corresponde a las actividades comprendidas entre 0.2-0.8 (Agua multicapa)
- La zona C corresponde a las actividades comprendidas entre 0.8-1 (Agua no ligada)

La isoterma de sorción permite conocer el contenido de humedad de equilibrio en un alimento que se halla expuesto a un ambiente de humedad relativa y temperatura conocidas. En la Fig. 1.9 se presentan las isotermas según Brunnauer, Deming y Teller.

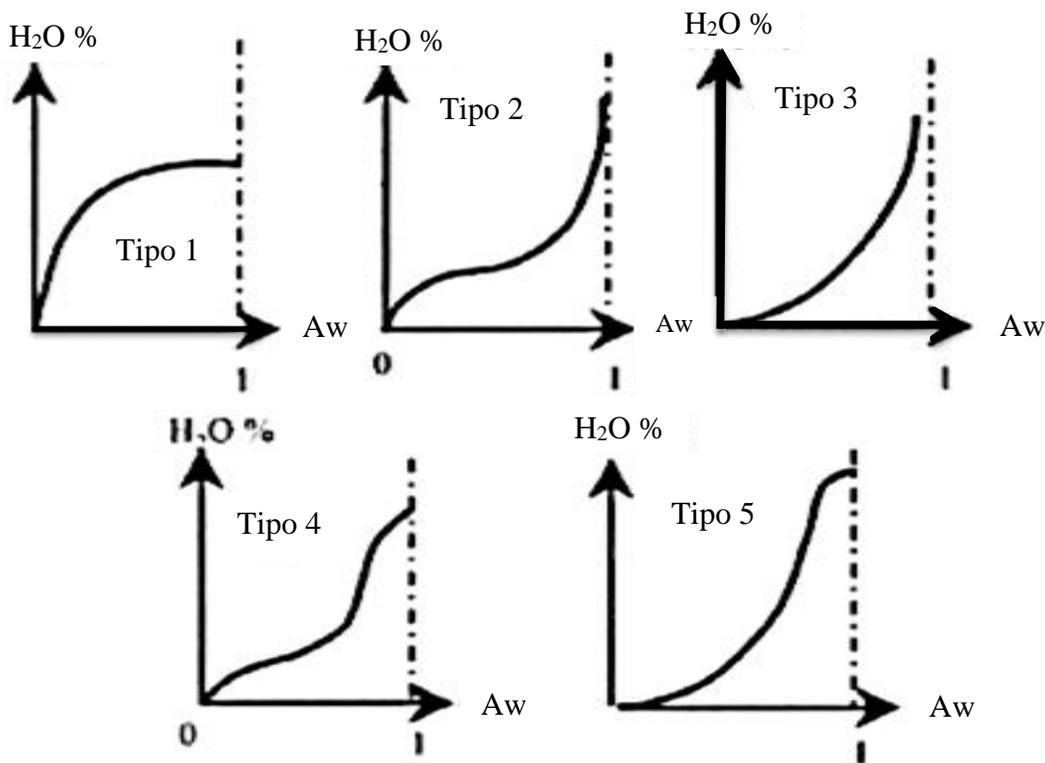


Figura 1.9. Tipos de isothermas de adsorción de agua (Trejo, 2015).

El tipo 1 corresponde a la isoterma de Lagmuir que describe la adsorción monomolecular de gas sobre sólido poroso. El tipo 2 es la isoterma conocida como sigmoide característica de productos solubles, muestra una tendencia asintótica conforme la actividad de agua se acerca a la unidad. La isoterma tipo 3 o de Flory-Huggings se encuentra en la adsorción de un disolvente o plastificante como el glicerol.

El tipo 4 muestra la adsorción por un sólido hidrófilo “hinchable”, hasta que se alcanza el máximo de sitios de hidratación. Finalmente el tipo 5 llamado isoterma BET (por Brunauer, Emmett y Teller) que representa la adsorción multimolecular observada en la adsorción de vapor de agua sobre carbono. Las isothermas más frecuentes en alimentos son el II y IV (Trejo, 2015).

Si bien son muchas las ecuaciones presentadas para relacionar el contenido de humedad y la humedad relativa en el equilibrio, son pocas las que tienen un significado físico y relacionan el contenido de humedad de equilibrio con la temperatura; ejemplo de esto es la ecuación de GAB que surge como una modificación de la ecuación de BET (Valderrama, 1998).

De la gran variedad de modelos utilizados en la literatura para describir la relación entre la presión de equilibrio del gas y la cantidad adsorbida a temperatura constante durante los fenómenos de adsorción de múltiples capas, Brunauer-Emmett-Teller (BET) y la extensión conocido como Guggenheim-Anderson-de Boer (GAB) son ampliamente utilizados.

Como se trata de adsorción de humedad, el contenido de la misma se expresa habitualmente en términos de cantidad de agua por cantidad de adsorbente:

$$a_w = \frac{P}{P^0} \quad (4)$$

Dónde:

P = es la presión de vapor de agua ejercida por el material alimenticio

P⁰ = es la presión de vapor del agua pura a la temperatura del experimento.

La isoterma de adsorción BET es uno de los modelos clásicos de adsorción de múltiples capas, expresa la cantidad de humedad de equilibrio (w_e), en términos de actividad de agua (a_w) (Rodríguez y Fidalgo, 2007).

Brunauer, Emmett y Teller (BET), basados en el modelo cinético de Lagmuir desarrollaron en 1938 la siguiente ecuación, útil para un gran número de alimentos con baja a_w (0.05-0.45):

$$W_e = \frac{W_0 * C * a_w}{(1 - a_w)[1 + (C - 1)a_w]} \quad (5)$$

Dónde:

W_e = humedad de equilibrio.

W_0 = humedad del producto correspondiente a la capa monomolecular de agua adsorbida (en las mismas unidades de W_e).

C = constante característica del material, relacionada con el calor desprendido en el proceso de sorción.

El modelo de BET es una herramienta muy útil para el análisis de isotermas de sorción y en particular de adsorción de agua en alimentos. No obstante la ecuación 4 se desvía de la linealidad cuando a_w es superior a 0.3-0.5. Esto es debido, fundamentalmente, a que a partir de esos niveles de a_w , los fenómenos que describen mayoritariamente las interacciones del agua en el alimento no son de sorción, sino más bien del tipo soluto-disolvente y el agua empieza a

estar presente en el sistema movilizando los solutos en forma de base líquida (Miranda, 2012). Debido a estas limitaciones se tiene el modelo de GAB.

Guggenheim, Anderson y Boer (GAB) desarrollaron en la década de los 60, un modelo semiempírico con tres parámetros para la adsorción de materiales considerando la presencia de multicapas; este modelo se ajusta adecuadamente en el intervalo completo de a_w para muchos alimentos y viene a constituir una extensión de la ecuación de BET:

Generalmente el modelo de GAB se utiliza de forma independiente para cada temperatura; genera un conjunto de valores para C , X_m y K estimadas a partir de los datos experimentales para cada condición de temperatura, donde X_m es el contenido de humedad de la monocapa, expresada en base seca, C es una constante energética también llamada constante de Guggenheim y K es un parámetro que tiene en cuenta la diferencia de potencial químico entre el agua de múltiples capas y en el alimento (Staudt, et al. 2013).

$$W_e = \frac{W_0 * C * K * a_w}{(1 - K * a_w) [1 + (C - 1) * K * a_w]} \quad (5)$$

Dónde:

W_e = humedad de equilibrio.

W_0 = humedad del producto correspondiente a una capa monomolecular de agua adsorbida (en las mismas unidades de W_e).

C = constante característica del material, relacionada con el calor desprendido en el proceso de sorción.

K = factor de corrección relacionado con el calor de sorción de la multicapa.

La ecuación de GAB se ha encontrado adecuada para representar datos experimentales en un amplio intervalo de actividad de agua (0.10 - 0.9 A_w) esto es de interés práctico para la mayoría de los alimentos, es fundamental para la caracterización de agua de sorción de los materiales alimenticios (Realpe, 2003), permite obtener información relacionada con la afinidad del material de estudio con el agua, la espontaneidad de los procesos de adsorción y desorción (Ceballos, Giraldo y Orrego 2009), además del agua ligada (como resultado de la interacción con grupos iónicos, hidrófilos mediante puentes hidrógeno o apolares e hidrataciones hidrofóbicas) con el material alimenticio (Riera, Salcedo y Alegret 2004).

1.6.2 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Esta técnica se utiliza para examinar y registrar la topografía de la superficie de una muestra a una resolución significativamente más alta que la que se puede conseguir mediante microscopia óptica. Es un instrumento versátil y puede proporcionar información estructural significativa sobre la superficie de muchos especímenes (Paredes, 2014). Esta tecnología se basa en que los electrones emitidos por un cátodo de tungsteno pasa a través de una columna en la cual previamente se realizó un vacío de alrededor de 10^{-7} Torr. En ella, el haz inicial es concentrado por una serie de lentes electromagnéticas (condensadora, objetivo) desde unos 25.000-50.000 nm hasta unos 10 nm; es decir, su diámetro va disminuyendo hasta hacerse casi puntual.

El haz electrónico es desplazado sobre toda la superficie de la muestra a modo de pincel que iría barriendo la muestra con continuas idas y venidas, en la interacción del haz electrónico con la superficie se producen electrones (e^-) secundarios que, tras ser captados por un detector, son hechos incidir sobre un “centellador”, donde cada (e^-) dará origen a varios fotones, estos son dirigidos hasta un fotomultiplicador a través del cañón de luz, una vez ahí cada uno originará fotoelectrones y a través de una serie de dinodos con diferencias de potencia produce, mediante un efecto de cascada, gran cantidad de (e^-) secundarios. Los (e^-) secundarios finalmente son dirigidos hacia un tubo semejante a un osciloscopio de rayos catódicos sobre cuya pantalla se producirá la imagen (Piqueras y Faura, 2015).

Los principales requerimientos que deben presentar las muestras para ser observadas mediante MEB son: ser compatible con operaciones bajo vacío y ser un conductor eléctrico. En el caso de las muestras no conductoras se tiene que realizar un recubrimiento con oro o carbón mediante la técnica de espolvoreado catódico hasta lograr una capa conductora fina entre 10 y 40 μm . Esta técnica es muy utilizada en los análisis de muestras generadas de los estudios de degradación acelerada (Lozano, et al, 2010). El microscopio electrónico de barrido se ha utilizado en la evaluación del daño provocado a material degradado (harina) por diversas variables como lo es la temperatura, utilización de diferentes enzimas, material fermentado y diversas reacciones. En este caso en particular se empleó para estudiar los efectos que imparte la implementación del US, ya que su efecto básico de cavitación, genera gran impacto en las estructuras de la semilla dependiendo del tiempo de aplicación.

Capítulo II

Metodología experimental

Objetivo general:

Evaluación del efecto de la aplicación de US en la extracción de aceite de Moringa a partir del rendimiento y caracterización, así como en harina mediante el modelo de GAB para analizar el potencial de uso como tratamiento.

Objetivo particular 1:

Evaluación del efecto del US sobre el rendimiento de extracción de aceite y su efecto sobre la harina residual

- Variable independiente: Tiempo de aplicación de US y frecuencia.
- Variable dependiente: Cantidad de aceite extraído.
- Variable de respuesta: Rendimiento %, afectación a la pared celular.

Niveles de variación:

- Tiempo (5, 15, 30min.)

Hipótesis:

Al llevar a cabo la extracción de aceite por ultrasonido a lo largo del proceso, se tiene el fenómeno de cavitación aumentando la transferencia de masa y por lo tanto a un tiempo mayor de aplicación del US se tendrá el mayor rendimiento de extracción y cambio en estructura de la harina residual.

Objetivo particular 2:

Caracterización del aceite de Moringa mediante la determinación de algunos de sus componentes con la aplicación de TLC y MDSC para evaluar la efectividad del US en la extracción de los componentes de interés.

Objetivo particular 3:

Aplicación del modelo de GAB mediante la elaboración de la curva de sorción para la determinación en harina residual (semilla de Moringa), del efecto ocasionado por el US en los enlaces proteína-agua a nivel de monocapa.

Hipótesis:

Dentro de los diferentes parámetros obtenidos a partir de la ecuación de GAB, el calor de adsorción de Guggenheim (C) nos da información acerca de la energía necesaria para que el agua se ligue a la superficie del alimento por lo tanto el valor de C será mayor en el US por los efectos propios del método (cavitación) sobre los diferentes grupos polares de los componentes en la harina residual, que para el método Soxhlet.

El aceite de Moringa se obtuvo por extracción con disolvente mediante el ultrasonido (US) a diferentes tiempos, la materia extraída se caracterizó y se observó el efecto del US en la harina residual. Por tales motivos en el desarrollo metodológico para la resolución del problema, la aplicación del US es la base para el cumplimiento de los diferentes objetivos. El desarrollo se muestra a continuación.

Descripción de actividades experimentales

2.1 Actividades preliminares

Se trabajó con Semillas de Moringa procedentes del estado de Sinaloa y Morelos, se les retiró la envoltura arbolada, para la determinación de la humedad y en la extracción mediante US se criomolieron y para el perfil térmico se utilizaron intactas.

2.1.1 Determinación de Humedad

La determinación de la humedad (%) se realizó por el método de estufa de acuerdo a la norma mexicana NMX-F083-1986.

Para la determinación del % de humedad se empleó la siguiente ecuación:

$$\% H = \frac{(A3) - (A2)}{(A1)} \times 100 \quad (2.1)$$

Dónde:

% H: Porcentaje de humedad de la muestra.

(A1): Peso de la muestra (g).

(A2): Peso del recipiente con la muestra seca (g).

(A3): Peso del recipiente con la muestra húmeda (g).

Para el análisis estadístico se utilizó la media (\bar{x}), desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV)

2.1.2 Criomolienda y determinación del diámetro medio Sauter

Se llevó a cabo la molienda de las semillas de Moringa (previamente criocongeladas en N₂ líquido) en un criomolino A11 basic (IKA) y se realizó el análisis granulométrico y la determinación del diámetro de partícula a partir del diámetro medio Sauter.

Se tomó una muestra de 10 g de semillas, las cuales se criocongelaron y molieron, se colocó la muestra a la serie de tamices Tyler (acomodo no riguroso). Las mallas utilizadas fueron las siguientes: 30, 40, 50, 70, 100, 140 y 200, se agitó constantemente por 10 min.

Para la obtención del diámetro medio Sauter primero se hizo un análisis granulométrico en el cual se determinó el peso de cada tamiz con y sin muestra, de acuerdo al número de malla, se determinó la masa retenida por diferencia de peso; el diámetro medio entre 2 tamices consecutivos (D_{pi}) fue obtenido de acuerdo a la ecuación 2.2 así como la masa retenida por cada tamiz entre la masa total retenida (x_i) en base a la ecuación 2.3.

$$D_{pi} = \frac{\text{Abertura de la malla que pasa (in)} + \text{Abertura de la malla que retiene (in)}}{2} \quad (2.2)$$

$$X_i = \frac{\text{Masa retenida (g)}}{\text{Masa total (g)}} \quad (2.3)$$

Para la determinación del diámetro medio Sauter se utilizó el procedimiento descrito por Cortazar, Meléndez y Hernández (2008).

$$\text{Diámetro medio Sauter} = \frac{1}{\sum \frac{x_i}{d_{pi}}} \quad (2.4)$$

La determinación del diámetro medio Sauter solo es para conocer el valor del diámetro de partícula de la muestra ya homogénea, de manera que esta variable no tenga influencia en la determinación de los resultados.

Con la criomolienda se busca afectar en menor medida el contenido en componentes esenciales al reducir la temperatura de molienda, además de obtener las masas representativas para el uso en la resolución de los diferentes objetivos.

2.2 Extracción de aceite

2.2.1 Extracción por el método Soxhlet

El rendimiento se determinó de acuerdo a la norma mexicana NMX-F-089-S-1978, el valor del rendimiento solo es de referencia para saber la máxima cantidad de aceite contenida en las semillas, no comparable con el US por la variable que es el tiempo de aplicación.

Se tomó una muestra de 25 g de semilla criomolida (harina), para ser sometida a extracción con éter de petróleo, con una relación masa/volumen (solvente) 1:10, entre 30 y 40 °C con una duración de 4 h, debido a limitaciones del material solo se realizó 1 vez.

Para la determinación del rendimiento se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{P3-P2}{P1} \times 100 \quad (2.5)$$

Dónde:

P1: Peso de la muestra (g).

P2: Peso del cartucho con la muestra seca (g).

P3: Peso del cartucho con la muestra húmeda (g).

2.2.2 Extracción mediante US

Para la extracción mediante el US se utilizó un baño de ultrasonido Cole-Parmer SS Ultrasonic Cleaner operando a una frecuencia de 40 KHz. Se tomaron 3 muestras de 10 g de semilla de Moringa criomolida, las cuales se depositaron en un matraz Erlenmeyer con 100 mL de éter de petróleo. El matraz fue colocado en el baño ultrasónico a un tiempo de 5, 10 y 15 min. La fracción de solvente aun presente se eliminó del aceite mediante evaporación durante 2 horas.

El rendimiento se determinó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Aceite} = \frac{P3-P2}{P1} \times 100 \quad (2.6)$$

Dónde:

P1: Peso de la muestra (g).

P2: Peso del matraz solo (g).

P3: Peso del matraz con el aceite (g).

Para los datos obtenidos del rendimiento en la extracción del US se empleó un ANOVA de una vía para determinar si existía diferencia significativa entre los datos y dos vías para las diferencias entre las repeticiones, mediante el programa Minitab 16; siendo la unidad experimental la semilla de moringa, a 3 tratamientos (5, 15 y 30 min) y 3 repeticiones, como factor experimental el tiempo y la variable de respuesta el rendimiento de aceite, se empleó una prueba de Tukey para determinar si los datos se encontraban dentro del intervalo de confianza y se obtuvieron los gráficos de caja para los análisis.

2.3 Balance de masa por contacto sencillo

Los flujos para realizar el balance de masa en una etapa fueron:

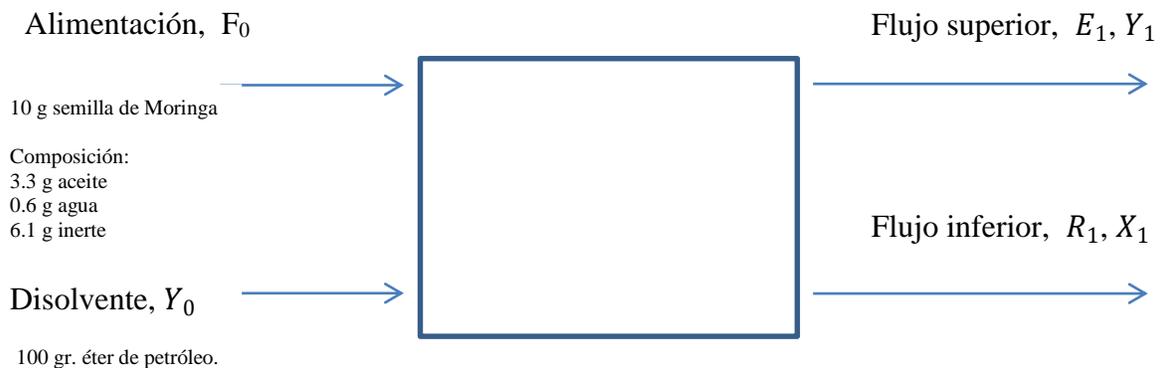


Fig. 2.1.- Diagrama representativo para una etapa de extracción, con los diferentes flujos y condiciones.

El inerte o solido seco comprende a las proteínas, fibra, cenizas y carbohidratos, propios de la semilla de Moringa.

Por aplicación de balance de materia se usaran las ecuaciones 1.1, 1.2 y 1.3.

De donde:

F0 es la alimentación, en este caso 10 g de semilla de Moringa, Y0 es el disolvente, éter de petróleo, E1 es el extracto obtenido mediante el diagrama triangular, compuesto principalmente por solvente y soluto, R1, refinado obtenido mediante el diagrama triangular, compuesto principalmente de inerte con fracciones de soluto y solvente, X_1 y Y_1 , son las fracciones del soluto en las corrientes. La disolución retenida por unidad de solido inerte se determinó experimentalmente, el valor es obtenido para la extracción mediante US 5 min.

2.4 Caracterización del aceite

2.4.1 Cromatografía en capa fina (TLC)

El aceite de Moringa obtenido por US fue analizado mediante cromatografía en capa fina. El análisis se hizo por triplicado, empleando placas de silica gel grado comercial de acuerdo a Lorenzo, et al. (2006).

Se empleó como fase móvil: Éter de petróleo, Terbutil metil éter y Ácido acético (0.7:0.299:0.001 v/v); como revelador, yodo en el caso del omega 3 y vainillina para el ácido oleico, utilizando la técnica ascendente con desarrollo simple. La solución donde fue disuelta la vainillina fue 99 % acetona y 1 % ácido sulfúrico.

Se tomaron muestras con un capilar en cantidades menores a 0.1 μ L, una vez depositadas en la placa se corrieron en la fase móvil. Se dejaron secar y se introdujeron en una solución de vainillina al 5 %. Para revelar la placa se evaporó la solución en el termoagitador; en el caso del omega 3 se utilizó una cámara de yodo.

Para la determinación del factor de retención se siguió la siguiente ecuación de acuerdo a Albella, et al. 1993:

$$Rf = \frac{(A)}{(B)} \quad (2.7)$$

Dónde:

Rf: Factor de retención.

A: Distancia recorrida por el producto (cm).

B: Distancia recorrida por la fase móvil (cm).

Obtenidos los diferentes valores de los Rf para las diferentes muestras se compararon con los valores del Rf de las referencias, empleando ácido oleico comercial y cápsulas de aceite de pescado Maxepa de Merck para el omega 3, de esta forma se determinó la presencia de los compuestos de interés.

2.4.2 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)

Para el análisis térmico se utilizó un calorímetro MDSC modelo 2920 (new jersey D.E. USA) previamente calibrado con Indio para línea base y Cp con zafiro. Se empleó una charola de aluminio hermética vacía como referencia, según el método de Besbes, et al. (2005); la determinación del perfil térmico se realizó por triplicado.

Se tomaron 3 muestras de 3 μ L de aceite de Moringa, una extraída mediante el método Soxhlet y las restantes mediante US a un tiempo de 5 y 30 min., con el fin de observar si con la aplicación del US se presentan mayores o menores compuestos a comparación del Soxhlet. las cuales se depositaron en charolas de aluminio, se sellaron y se inició la prueba donde el aceite fue enfriado hasta -60 °C y calentado desde esa temperatura hasta 100 °C, con una velocidad de barrido de 10 °C/min., usando como gas de arrastre N₂ y una modulación de temperatura de 1.592 °C/60 s.

Los termogramas de cada muestra se analizaron mediante el programa TA Universal analysis, donde se adquirieron los gráficos del flujo de calor, de la primera derivada del flujo de calor y de la capacidad calorífica Cp. Se determinaron las principales zonas donde se tenían las diferentes transiciones del aceite donde a través del mismo programa se obtienen las temperaturas de fusión, Δ CP y Δ H a partir de los perfiles de flujo de calor total.

Los termogramas obtenidos a partir del MDSC fueron analizados, siendo de importancia las transiciones que presentaron las muestras en las diferentes zonas del gráfico, así de esta forma se compararon las muestras de aceites en cuanto a su contenido de ácidos grasos.

2.5 Harina residual

2.5.1 Obtención de isotermas

Después de extraer el aceite mediante el US y el método Soxhlet se tiene la harina residual, que es la semilla molida y lixiviada, la cual es importante en el trabajo donde se ha planteado evaluar los efectos que tiene la aplicación del ultrasonido. Por tanto para llevar a cabo un análisis más extenso se aplicará el modelo de GAB a la isoterma de sorción, ya que con ésta se obtendrá información acerca de la capacidad que tienen las estructuras propias de la harina de formar enlaces con las moléculas de agua.

Para la construcción de la isoterma de sorción se empleó la harina residual obtenida de ambos métodos de extracción de acuerdo al método descrito por Martínez, et al. (1998). Las isotermas se realizaron por triplicado y el valor que se reporta es el promedio de las 3 repeticiones.

Se tomaron muestras de 2 g de harina residual las cuales se depositaron en cámaras herméticas con soluciones saturadas de sal de actividad acuosa (a_w) conocida como se observa en la Fig. 2.2, a una temperatura de 25 °C, hasta llegar al equilibrio.

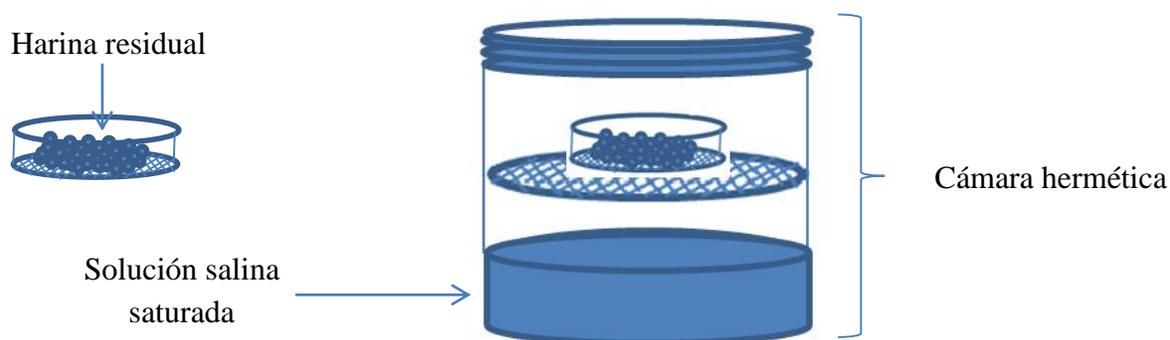


Figura 2.2 Representación de cámara hermética para el equilibrio entre la humedad relativa de la sal y del alimento.

Se dejó la masa de harina en contacto con la atmósfera de humedad relativa conocida y se registró el peso y la actividad de agua cada 24 h.

La variación del peso se determinó con una balanza analítica OHAUS modelo Scout Pro de precisión 0.01g. Las muestras se secaron en un horno de secado modelo 9023^a (ECOSHEL) a 100 °C durante 24 h para obtener el contenido de humedad en cada microambiente. Con esta humedad de equilibrio en base seca y su a_w correspondiente se construyeron las isotermas de sorción completas.

Para la determinación de las a_w se empleó un Higrómetro Aqualab 4TE, que se basa en el método de punto de rocío por lo que es de lectura rápida (10-15 min), con una precisión de 0.0001 unidades de a_w y variabilidad de 0.5 por grado centígrado.

En la tabla 2.1 se muestra la actividad acuosa de las soluciones salinas para lograr las diferentes atmósferas de humedad relativa.

Tabla 2.1.- Sales utilizadas en la elaboración de la curva de sorción

| Sal | Formula | Humedad Relativa (%) |
|----------------------|------------------------------------|----------------------|
| Cloruro de magnesio | MgCl ₂ | 32 |
| Carbonato de potasio | K ₂ CO ₃ | 43 |
| Nitrato de magnesio | Mg (NO ₃) ₂ | 52 |
| Cloruro de sodio | NaCl | 75 |
| Cloruro de potasio | KCl | 84 |
| Sulfato de potasio | K ₂ SO ₄ | 97 |

(Placido y Alemán, 2002); (Kameswara, et al. 2007)

2.5.2 Parámetros de adsorción

El ajuste de la isoterma de sorción se realizó de acuerdo a Timmermann, et al. (2002), según el modelo de GAB:

$$v(a_w) = \frac{v_m * c_g * k a_w}{(1 - k a_w)[1 + (c_g - 1)k a_w]} \quad (2.8)$$

Dónde:

c_g y K : Parámetros que definen la relación de las funciones de partición en las 3 etapas de sorción, la situación de las moléculas en el estado líquido puro.

a_w : Actividad relativa de las moléculas de agua.

$v(a_w)$: Cantidad total absorbida de agua.

v_m : Capacidad de sorción de la monocapa.

Para obtener el valor de las 3 constantes de GAB (C_g , V_{mG} y K) se tiene la representación parabólica de la ecuación (2.8). Expresando a_w/v se obtiene la siguiente forma transformada de la ecuación de GAB:

$$\frac{a_w}{v(a_w)} = \frac{1}{V_m * C_g * K} + \frac{C_g - 2}{V_m * C_g} * a_w + \frac{(C_g - 1) * K}{V_m * C_g} a_w^2 \quad (2.9)$$

Expresión que es un polinomio de segundo grado en a_w . Por lo tanto, mediante una regresión parabólica de a_w/v vs. a_w se pueden determinar 3 parámetros directamente, donde:

$$\alpha = \frac{1}{V_m * C_g * K}, \quad \beta = \frac{C_g - 2}{V_m * C_g} \quad \text{y} \quad \gamma = \frac{(C_g - 1) * K}{V_m * C_g} \quad (2.10)$$

A partir de los cuales se obtiene el valor de las constantes de GAB.

2.6 Adquisición de imagen (microscopio estereoscópico y SEM)

La microscopia es de importancia para observar de forma directa el efecto provocado por el constante choque de ondas de energía, al aplicar el US como método de extracción del aceite de semillas de Moringa.

a) Microscopio estereoscópico.

Para la toma de imagen se empleó un microscopio estereoscópico EZ4 D (LEICA). En un portaobjetos se depositaron muestras de 1 g de harina semilla de moringa residual, se

colocaron en la platina, una vez enfocada la imagen se empleó el programa Leica Application Suite V3 para analizar la micrografía; la toma de la imagen se realizó con un aumento de 35 x, una magnificación de imagen de 3.5 x y una resolución de 2048x1536 pixeles.

b) SEM

Para la microscopia electrónica de barrido se utilizó un Analytical Scanning Electron Microscope modelo JSM-6010LA (JEOL), en los porta muestras se depositó alrededor de 1 g de las harinas residuales de las diferentes muestras, estas fueron tratadas con un baño de carbón y la toma de imagen se realizó con un aumento de 20 μm , a 650 x.

Con la obtención de las diferentes imágenes se analizará el cambio estructural ocasionado a la microestructura de las diferentes harinas residuales de semilla de Moringa, por el empleo del método Soxhlet y US.

Capítulo III

Análisis de resultados

3.1 Actividades preliminares

3.1.1 Humedad

Se obtuvo un valor promedio de 5.8 ± 0.16 %. Los valores obtenidos son aceptables, no están muy alejados de los registrados en la literatura, donde presentan una humedad de 6.9 %, 5.88 % y de 6.8 % según Abdulkarim (2004), Ruttarattanamongkol K. et al. (2014) y Anward y Rashid (2007).

3.1.2 Criomolienda y determinación del diámetro medio Sauter

Se realizó la criomolienda así como el análisis granulométrico y así el cálculo del diámetro de partícula.

El diámetro medio Sauter considera el volumen promedio por unidad de superficie. Se eligió este diámetro medio ya que es de los más utilizados en ingeniería, además de que garantiza la consideración del área y el volumen de la partícula; para la semilla de Moringa criomolida se obtuvo un diámetro medio Sauter de 0.015 in (0.038 cm).

Hacer este análisis granulométrico junto con el Sauter, nos da la información del diámetro promedio con el cual se trabajó y así solo considerar el cambio en el tiempo.

3.1.3 Extracción por el método Soxhlet

La semilla criomolida con un diámetro homogéneo se utilizó para la determinación del rendimiento de extracción por Soxhlet. El resultado de la cantidad máxima de aceite fue de 30.52 g de aceite/ 100 g de semilla.

El rendimiento del aceite fue entonces 30.52 % y en comparación con el reportado por la literatura que es de 27.43 % y de 26.89 % según Mani, Jaya y Vadivambal (2007) y Nguyen, et

al. (2011) respectivamente, el valor es satisfactorio. Esto debido al uso de uno de los métodos más eficientes donde la transferencia de masa se ve beneficiada por las diferentes condiciones como el gradiente de concentración tanto de solvente como de soluto y el gradiente de presiones, dando como consecuencia el movimiento del interior al exterior de la estructura interna del alimento originando la difusión molecular, esto da lugar al mayor rendimiento de extracción. Estas variaciones en el contenido de aceite de las semillas y sus propiedades dependen principalmente de las especies y de las condiciones ambientales (Lalas y Tsaknis. 2002).

El rendimiento de aceite será utilizado como valor de referencia en la solución al objetivo particular 1, y el aceite extraído en dar solución al objetivo particular 2.

3.2 Rendimiento US

Para dar solución al objetivo particular 1 dirigido a evaluar el efecto del ultrasonido sobre el rendimiento y cambio estructural en la superficie de la semilla, se tienen los resultados obtenidos de la aplicación del US. El % de extracción promedio fue de $30.46 \% \pm 1.6$ a 5 min, de $29.8 \% \pm 0.3$ a 15 min y de $30.36 \% \pm 0.2$ a un tiempo de 30 min

Se puede observar que los valores más altos se presentaron a un tiempo de 5 min y al tiempo de 15 min están los más bajos, debido a la pérdida de solvente y posibles errores experimentales. Los rendimientos obtenidos son aceptables ya que según Marrero, et al. (2014) obtuvo un rendimiento promedio de 26.5 % utilizando un baño ultrasónico. Por otra parte utilizando otros métodos como el prensado en frío y mediante métodos enzimáticos obtuvieron rendimientos del 30.8 %, 31.2 % según Abdulkarim y Long (2005) y Tsaknis, et al. (1999).

Se realizó un balance de masa por contacto sencillo, para un tiempo de 5 min para establecer las cantidades de extracto, refinado y rendimiento de extracción de aceite.

3.2.1 Balance de masa (contacto sencillo):

Lo primero para localizar el punto de mezcla es determinar las coordenadas de la composición de inerte y soluto contenida en la disolución de la alimentación. Entonces se parte del balance general, aplicando las ecuaciones 1.1, 1.2 y 1.3.

Por lo tanto para el aceite de entrada F_0 , tendrá de coordenadas

Para el eje X se tiene:

$$X_{F_0} = \frac{3.3}{3.3 + 0.6} = 0.84$$

Para el eje Y

$$N_{F_0} = \frac{6.1}{3.3 + 0.6} = 1.56$$

El disolvente D vendrá representado por el origen de las coordenadas. El punto de mezcla estará sobre la recta FD y tendrá las coordenadas:

$$X_M = \frac{0.33 * 10}{0.33 * 10 + 0.06 * 10 + 100} = 0.031$$

$$N_M = \frac{0.61 * 10}{0.33 * 10 + 0.06 * 10 + 100} = 0.058$$

La línea representativa del flujo inferior será una recta paralela al eje de las abscisas ya que se considera que la disolución retenida por unidad de sólido inerte es constante e independiente de la concentración, como d_0 es la cantidad de disolución (aceite) retenida aun por los sólidos, esta cantidad se restó del aceite total obtenido mediante Soxhlet como referencia. Por lo tanto; Para el tiempo de 5 min d_0 es igual a 0.253 g/g de inerte.

$$N_K = \frac{1}{0.253} = 3.94$$

$$\% = \frac{102.35 \cdot 0.031}{10 \cdot 0.33} * 100 = 98.51 \%$$

Se obtuvieron los siguientes resultados para los diferentes tiempos de proceso, utilizando los promedios de cada uno de los porcentajes de extracción de aceite:

Tabla. 3.1.- Rendimiento en aceite, refinado y extracto de acuerdo al balance de masa.

| Tiempo (min) | Refinado (g) | Extracto (g) | Aceite (%) | Aceite (g) | US (gr) |
|--------------|--------------|--------------|------------|------------|---------|
| 5 | 7.64 | 102.35 | 98.51 | 3.25 | 3.04 |
| 15 | 7.99 | 102.01 | 98.18 | 3.23 | 2.98 |
| 30 | 7.70 | 102.29 | 98.45 | 3.24 | 3.03 |

Se observa que los valores obtenidos mediante el balance de masa son muy cercanos a los obtenidos mediante US. En la última columna de la Tabla 3.1 se tiene el valor en gramos, los cuales son mayores comparados con los obtenidos experimentalmente (US).

Los valores menores obtenidos mediante el ultrasonido posiblemente se deba a errores experimentales, aun con ello los resultados son más que satisfactorios por una variable principal tan determinante como lo es el tiempo que se traduce en eficiencia, rendimiento y más importante, costos de producción.

3.2.2 Extracción con disolvente

Como se observa en la tabla 3.2, durante la extracción, la cantidad de aceite obtenido por ultrasonido comparada con el método Soxhlet (siendo que no se comparan los métodos solo se tiene el rendimiento del Soxhlet como referencia) presenta cierta ventaja de acuerdo al tiempo ya que presentó casi el mismo rendimiento.

Tabla. 3.2.- Rendimiento de aceite de moringa extraído con los dos diferentes métodos.

| Rendimiento (%) | | | |
|------------------------|-----------|-----------|----------------|
| US (min) | | | Soxhlet |
| 5 | 15 | 30 | |
| 30.46 | 29.8 | 30.36 | 30.52 |

Los rendimientos que se presentaron con el US fueron debidos a los diferentes mecanismos presentes. Por un lado, tiene lugar un calentamiento progresivo por absorción específica de la energía acústica en las membranas, específicamente en las interfaces. Las ondas acústicas a su paso a través de los materiales sólidos provocan, además, expansiones y contracciones rápidas y sucesivas dando lugar a lo que se conoce como efecto esponja (Olucha, 2013).

Por otro lado, resultado de la sonicación es la cavitación o la formación y colapso de burbujas microscópicas que pueden liberar enormes cantidades de energía en forma de calor, presión y cizallamiento mecánico, dando lugar a cambios conformacionales, que causan que las membranas celulares tiendan a ser menos selectivas y así los compuestos son más accesibles a la extracción (Corrales, 2008), además con el cambio de presiones más disolvente se difunde en la célula. Como el disolvente entra, más compuestos del aceite pueden ser extraídos, lo cual puede resultar en un rendimiento de extracción superior.

En el proceso se presentó una sinergia de los diferentes factores donde con la aplicación del ultrasonido dió lugar a que se presentara la difusión por convección por efecto de la onda en la semilla de Moringa que como resultado a tiempos muy cortos se obtuvo casi todo el aceite contenido.

3.2.3 Análisis estadístico

Se empleó un ANOVA de una vía, ya que se quería comparar de entre los resultados obtenidos del aceite de moringa si existía estadísticamente diferencia significativa. Obteniendo el grafico de caja como se observa en la Fig. 3.2.

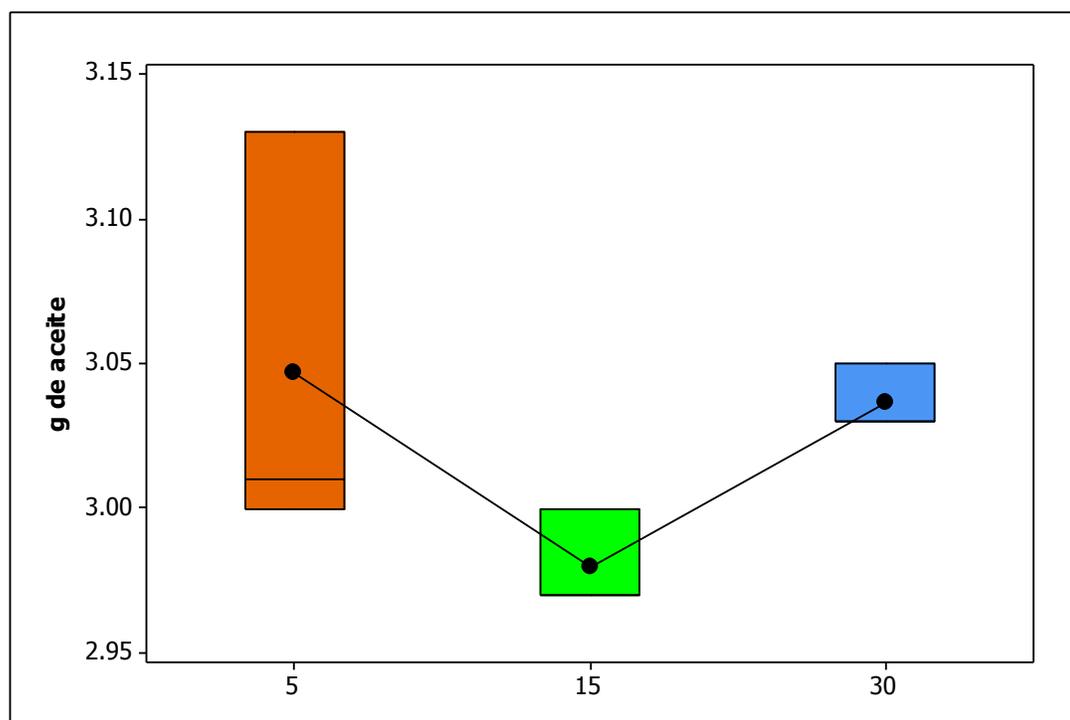


Fig. 3.2.- Grafico de caja para la dispersión de los datos de extracción a los diferentes tiempos.

De primera instancia se observa en la Fig. 3.2 que para un tiempo de 5 min existió una mayor dispersión de los datos, aunque en realidad no es de consideración esta diferencia ya que la escala utilizada es pequeña; para el tiempo de 15 y 30 min se tiene que los más homogéneos fueron los de 30 min. Esta variación a un tiempo de 5 min fue debido a que en esa corrida no se llevó a cabo el segundo filtrado y por presencia de sólidos suspendidos, presentó un mayor peso por tanto se observa la media de los datos en el gráfico. Se obtuvo un valor de 2.05 para F y 0.209 para P, estos valores no muestran diferencia significativa, por lo que estadísticamente cualquier tiempo se podría emplear; sin embargo, se considera que por el gasto de energía un tiempo de 5 min es más eficiente. Además se realizó un ANOVA de dos vías para observa la

diferencia entre las repeticiones de la extracción obteniendo que de acuerdo a las diferencias entre repetición y tiempo son no significativas, (Fig. 3.3).

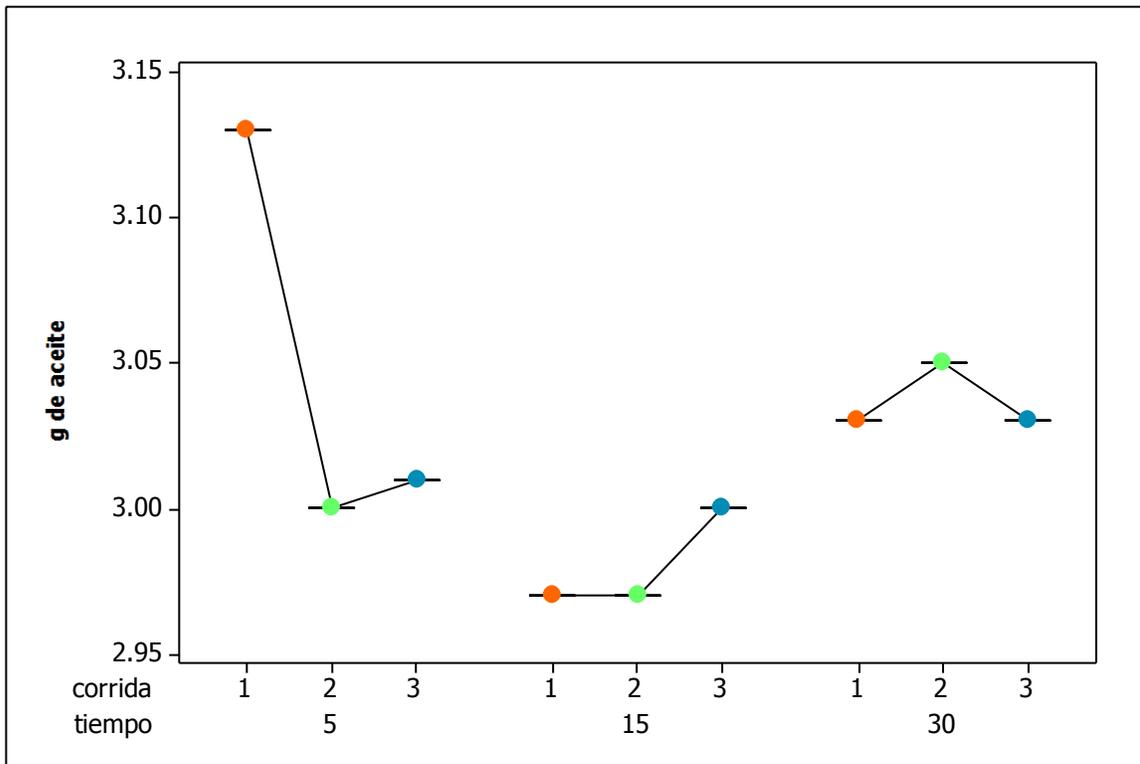


Fig. 3.3.- Grafico de caja para la variación de los datos de cada tiempo, de la extracción de aceite.

En la Fig. 3.3 se observa que para las primeras corridas de los diferentes tiempos es donde existió más dispersión de los datos aparentemente debido a la escala utilizada, pero las diferencias no son tan grandes. La mayor homogeneidad se presentó en los datos para las terceras corridas, aun así en general los datos son aceptables y la diferencia que presentan se considera despreciable.

3.3 Análisis estructural de la harina y calidad del aceite

Para determinar el efecto que tuvo el US sobre la harina, se empleó la microscopía y para la calidad del aceite se empleó la cromatografía en capa fina.

3.3.1 Análisis de imagen

Para observar de forma macro los efectos ocasionado por la aplicación del US y el mecanismo de extracción del aceite, se tomaron microfotos de las diferente harinas residuales empleadas a los tiempos de 5 y 30 min y como referencia se tiene la semilla criomolida sin tamizar.

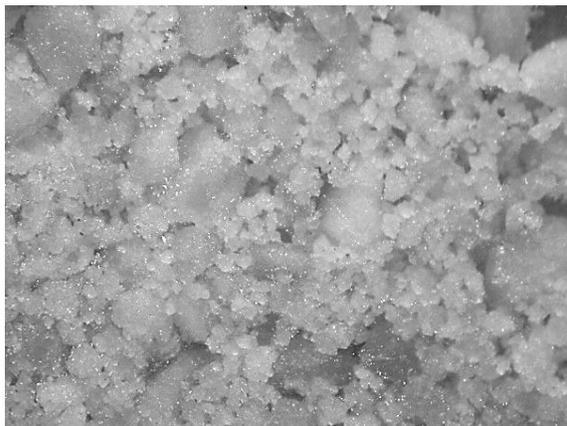


Fig. 3.4.- Semilla de *M. oleífera* criomolida



Fig. 3.5.- Semilla de *M. oleífera*, desengrasada con aplicación de ultrasonido (5 min.)



Fig. 3.6.- Semilla de *M. oleífera*, desengrasada con aplicación de ultrasonido (30 min.)

En la Fig. 3.4 Se observa la semilla de *M. oleífera* criomolida sin aplicación de US, como no se sometió a ningún proceso se observa aglomerada y con brillo debido al aceite; el diámetro de partícula no fue controlado por lo que la distribución de los tamaños se observa muy poco uniforme.

En la Fig. 3.5 la distribución del diámetro de partícula es más uniforme debido a que esta muestra junto con la de la Fig. 3.6 se controló mediante un tamizado para que esta variable no fuese de influencia en la obtención de los datos. Lo que se observa es que a 5 min la semilla no presenta un efecto significativo en su estructura; por aplicación del ultrasonido en comparación con la de 30 min, donde la harina se encuentra más diseminada con efecto aparente del US. Esto es debido a que con esta técnica se aplican ondas constantes, con gran carga de energía cinética, estos constantes choques recibidos por la estructura, junto con la presencia de oxígeno, genera la formación de burbujas que van creciendo hasta colapsar liberando la energía acumulada (cavitación); este proceso se observa en la Fig. 3.7.

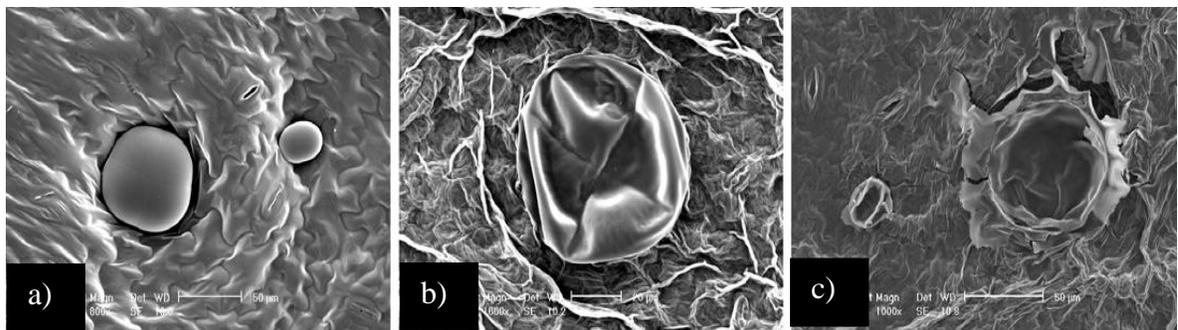


Fig. 3.7.- a) Formación, b) crecimiento y c) colapso de las burbujas generadas por el fenómeno de cavitación. (Chemat, 2011)

Rompiendo de esta forma parte de los enlaces conformadores de la estructura de la semilla dejando así libre la mayor parte del soluto (aceite) para que sea arrastrado mediante el solvente.

Además en la Fig. 3.4, 3.5 y 3.6 se observan fragmentos de la semilla sin daño aparente, posiblemente por tener un diámetro de partícula mayor al resto, lo que provocó una atenuación en la efectividad del ultrasonido.

Por el efecto que imparten las ondas del US se pensaría que al tiempo de 30 min se tendría un mejor resultado, pero por tiempos prolongados es perjudicial. Sullivan, et al. (2015) encontraron que el tratamiento ultrasonico de proteínas en los alimentos se ha relacionado con la afectación a las propiedades fisicoquímicas, estructurales y emulsificantes, además aumenta los sitios activos para más interacciones con otros compuestos Por lo tanto no es conveniente el aplicarlo a tiempos largos.

3.3.2 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Para observar de forma puntual los cambios en estructura producido por las ondas del ultrasonido se tomaron imágenes de la harina residual, mediante un SEM hasta 20 μm y 650 x.

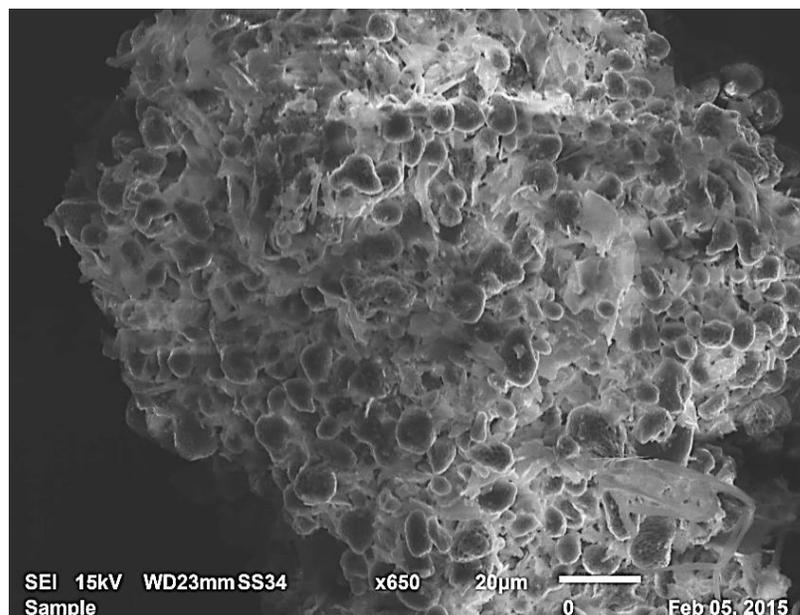


Fig. 3.8.- Microfotografía de la semilla de *M. oleífera*, desengrasada mediante el método Soxhlet.

En la Fig. 3.8 se observa la microfotografía de la semilla de *M. oleífera*, sometida al método de extracción Soxhlet; la microestructura no presenta cambios significativos ya que aún se observan los componentes aglomerados, además la estructura no se observa alterada, aun los compuestos son conformadores en la partícula de la semilla de Moringa. Esto debido a que en el proceso de extracción la única variable de influencia lo fue la concentración del solvente (relación 1:10 p/v), el proceso fue a presión atmosférica, el contacto del solvente con la semilla fue a temperatura ambiente del agua, el diámetro de partícula también es de importancia aunque solo fue utilizado un promedio del mismo (0.038 cm).

Con este método se extrae una mayor cantidad de aceite, pero la implementación del mismo fue de 4 horas y aunque con el US se tiene una menor extracción, la diferencia radica en el tiempo ya que con solo aplicar 5 min el US se tiene casi la misma cantidad de aceite, por lo tanto el Soxhlet cuenta con desventaja frente al US en la extracción de aceite de semillas de Moringa, además los gastos energéticos debido al tiempo son mayores en el Soxhlet.

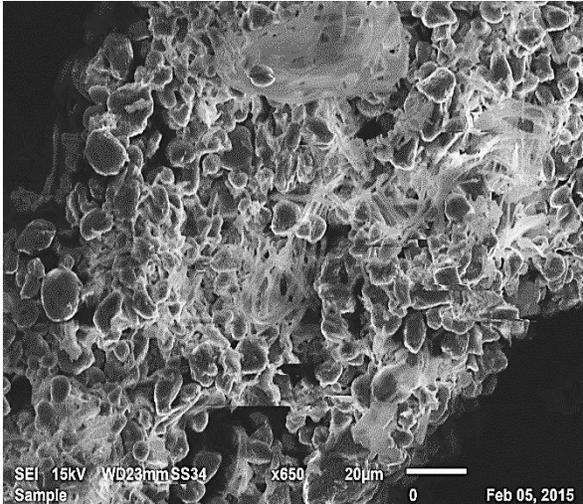


Fig. 3.9.- Semilla de *M. oleífera*, desengrasada con aplicación de ultrasonido (5 min.)

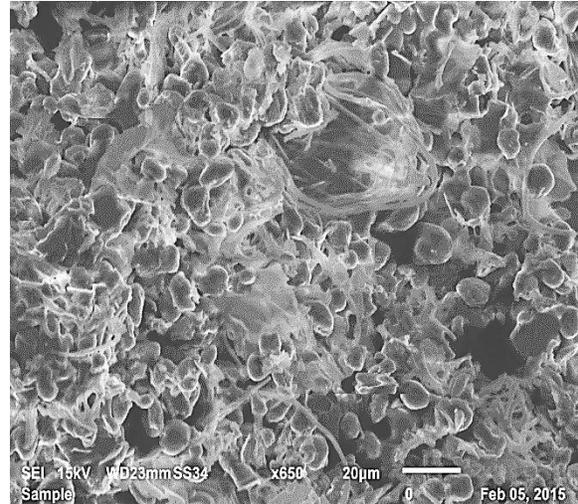


Fig. 3.10.- Semilla de *M. oleífera*, desengrasada con aplicación de ultrasonido (30 min.)

En la Fig. 3.9 y 3.10 se observa la microestructura de la semilla de Moringa molida, que con la aplicación del ultrasonido por 5 min el efecto es poco evidente, aun se tiene una conformación íntegra de la partícula; al tiempo de 30 min el material se observa dispersado, debido al daño ocasionado por el constante choque de las ondas, esto se ve reflejado en la alteración de la estructura.

La energía ultrasónica ha demostrado mejorar la extracción del tejido vegetal mediante la aceleración de la hinchazón de las células vegetales acompañada por la fragmentación de la matriz del tejido. Esta extracción implica la transferencia de masa y la penetración del disolvente en la célula, que promueve la difusión del contenido en el disolvente (Metherel, 2009), posiblemente este mecanismo de extracción predominó al tiempo de 5 min, ya que el daño no es tan evidente. Por otro lado se ha reportado que el ultrasonido empleado a frecuencias arriba de 20 KHz. su efecto se basa en el rompimiento de las subunidades debido a las ondas sónicas y a la presencia de oxígeno, de esta forma se rompe la estructura cuaternaria la cual no se vuelve a recuperar, esto se ha reportado en proteínas globulares (Ozuna, 2012).

Estas proteínas globulares suelen estar conformadas en su mayoría por un aminoácido en específico, la glicina, que por su naturaleza alifática no polar contribuye a la estructura global de la proteína debido al efecto hidrofóbico, de acuerdo a Dalia (2012) en el aislamiento y

caracterización de las fracciones proteicas de la semilla de moringa oleífera. El análisis de aminoácidos demostró que la glicina fue el de mayor presencia, por tal motivo esta característica en particular; además de que las semillas presentan una composición 40.31 de proteína (Anhwange, 2004) hace que la implementación del ultrasonido sea la tecnología adecuada para la extracción del aceite siendo al tiempo de 5 min el tiempo más conveniente por los gastos de energía.

3.3.3 Cromatografía de capa fina

Como una medida de la calidad del aceite se emplea la cromatografía en capa fina para establecer la presencia de los compuestos de interés como lo es el ácido oleico y el omega 3.

Ácido Oleico

Las diferentes muestras de aceite obtenidas mediante US fueron analizadas mediante cromatografía en capa fina, donde lo que se buscó fue comprobar la presencia de ácido graso en las muestras de aceite de la semilla; se empleó esta técnica por facilidad para establecer la presencia de los componentes de interés, en la Fig. 3.11 se observan las placas con la referencia, ácido oleico comercial (droguería la París) y muestra de aceite extraído mediante US 5 min.

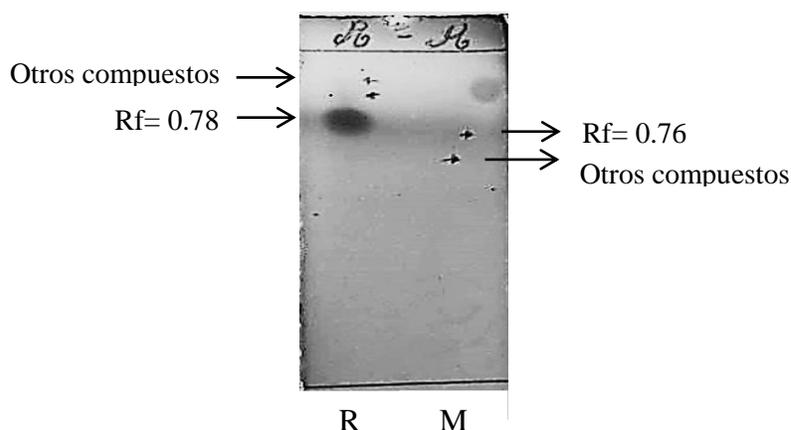


Fig. 3.11.- TLC para muestras en ácido oleico de grado comercial (R) y para la extraída (M)

Los compuestos presentaron un Rf en promedio, para la referencia de 0.78 y para la muestra de 0.76, que al ser revelado con vainillina presentó una coloración violeta. El Rf nos da una idea de la afinidad que presentó la fase móvil con las muestras, donde la compatibilidad fue buena ya que se logró la separación de diferentes compuestos. En lo que respecta al ácido oleico, se observa una pequeña fracción del mismo a la altura de la muestra de referencia lo que confirma su presencia en el aceite obtenido de las semillas de Moringa. Dentro de los diferentes ácidos grasos presentes en el aceite el de mayor contenido es el ácido oleico con una composición mayor al 70.0 % según lo reporta Ayerza, (2011).

Los demás compuestos observables posiblemente sean los de mayor presencia después del ácido oleico, los cuales son el palmitoleico, linoleico, linolénico entre otros. El valor de Rf es casi igual por lo que se dice que es el mismo compuesto, la pequeña diferencia posiblemente se debe a la presencia de pequeñas cantidades de los demás compuestos, lo cual cambia la polaridad de la sustancia cambiando de esta forma la afinidad por la fase móvil. También se observa que el ácido oleico de grado comercial presenta más compuestos ya que este es de baja pureza.

El omega 3 se obtuvo de cápsulas de aceite de pescado Maxepa de Merck como referencia y las muestras del aceite de semillas de Moringa fue el extraído mediante US 5 min; la fase móvil empleada en la determinación fue la misma que para el ácido oleico, como revelador se empleó una cámara de yodo el cual forma complejos coloreados con los componentes orgánicos (con tonos amarillo-marrón).

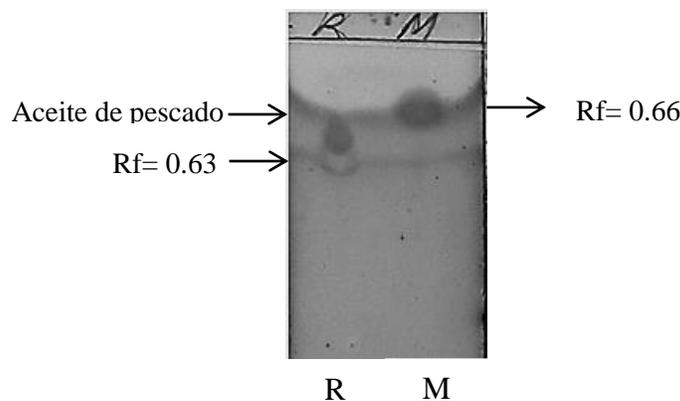


Fig. 3.12.- TLC para muestras de Omega 3 de grado comercial (R) y para la extraída (M)

En la Fig. 3.12 se tiene la aplicación de la técnica donde se observa que las placas presentaron diferentes coloraciones, para la referencia se tienen 3 definidas, la de mayor presencia ($R_f=0.75$) atribuible al omega 3, mientras que las de menor tamaño al ácido eicosapentaenoico (EPA, C20: 5, n-3) (18 % en composición) y una de las otras al segundo ácido en composición de las cápsulas que es ácido docosahexaenoico (DHA, C22: 6 n-3) (12 % en composición) los dos conformadores de la muestra. Para el aceite de Moringa ($R_f=0.66$) se tienen varias coloraciones, parte de una de ellas cae cerca del R_f del omega 3 ($R_f=0.63$), lo que posiblemente sea la presencia del omega 3 en el aceite. Como tal el ácido linolénico, según lo reporta Zhao y Zhang (2013), las semillas de Moringa contienen un 0.18 % del total de ácidos grasos. El cambio en el valor del R_f por la impureza de la muestra, que cambia la afinidad.

La separación resultó ser efectiva y se comprobó la presencia del omega 3, la afinidad que presentaron las diferentes sustancias por la fase móvil fue buena, la polaridad logró la separación de los diferentes componentes; por tanto, la cromatografía en capa fina nos da de forma cualitativa la presencia del ácido oleico y omega 3.

3.4 Calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)

En la Figura 3.13 se tiene el perfil del flujo de calor para las muestras de aceite, donde se busca establecer la presencia de los diferentes compuestos (si a un tiempo menor o mayor de aplicación de US y también al método de aplicación afecta o no para que se presente una sustancia) no utilizando para este análisis el tiempo de 15 min de US.

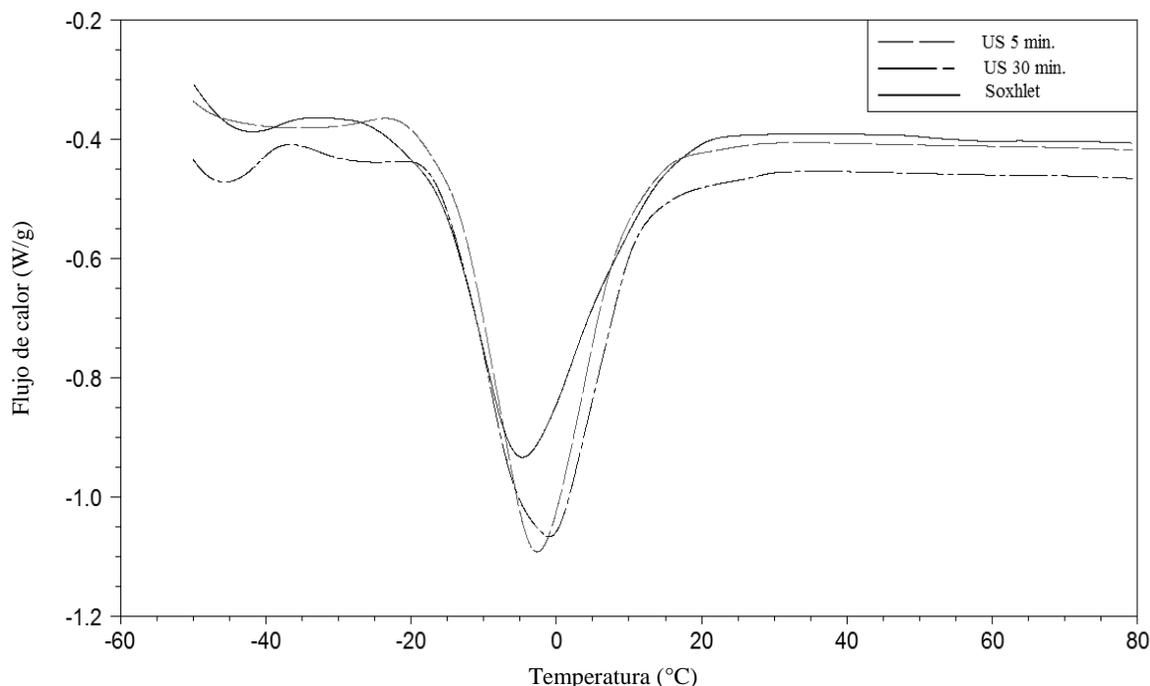


Figura 3.13.- Perfil del flujo de calor total para las muestras de aceite obtenidas mediante Soxhlet y US.

Durante el proceso de calentamiento se observa en general para las tres una primera región de baja temperatura de transición, una transformación endotérmica que va desde los -50 °C hasta los -26 °C, con un inicio de transición a una temperatura en promedio de -43 °C, se tiene una segunda zona que va de los -26 °C a los 12 °C, caracterizada por presentar un gran pico endotérmico, el mayor del termograma, a una temperatura promedio de -4 °C y una tercera región que inicia a los 12 °C hasta los 30 °C.

Para observar las diferentes transiciones que presenta el aceite se dividió la curva en tres zonas, la primera, de los -50 a los -26 °C, estas se observan en la Fig. 3.14.

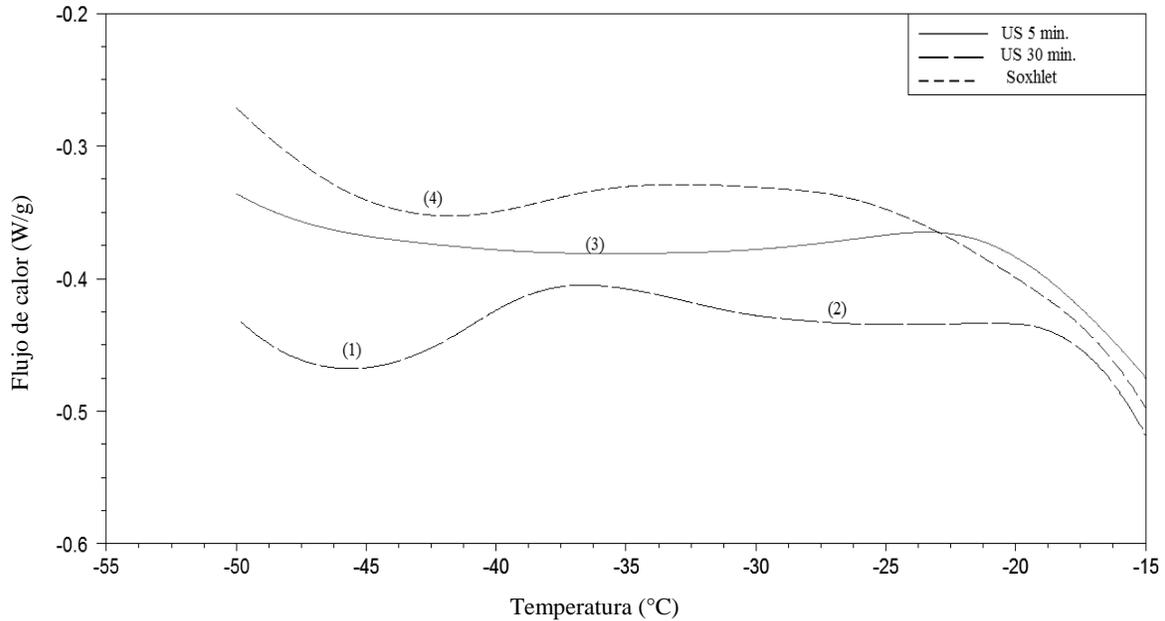


Figura 3.14.- Zona I, transiciones en el intervalo de temperatura de -50 a -26 °C.

Para la primera zona se observa que las muestras de aceite obtenidas mediante el Soxhlet y US a un tiempo de 5 min presentaron una sola transición, a diferencia de la muestra obtenida a un tiempo de 30 min mediante US donde se observan dos cambios en la curva del flujo de calor, la primera con un valor de ΔC_p mayor con respecto a las demás transiciones, estos valores se observan en la tabla 3.3.

Tabla 3.3.- Temperaturas de transición y ΔC_p en la zona I.

| Temperaturas de transición vítrea (Zona I) | | | | |
|--|--------|--------|--------|---------------|
| Método | t_i | t_g | t_f | ΔC_p |
| | °C | °C | °C | J/(g·°C) |
| Soxhlet (4) | -48.05 | -47.55 | -45.68 | 0.2058 |
| US 5 min (3) | -47.14 | -46.2 | -38.38 | 0.2303 |
| US 30 min (1) | -45.75 | -40.97 | -38.96 | 0.4797 |
| US 30 min (2) | -34.61 | -32.48 | -28.69 | 0.1709 |

En lo que respecta a la segunda zona se tiene a una temperatura que inicia en promedio a los -26 °C hasta los 12 °C como se observa en la Fig. 3.15.

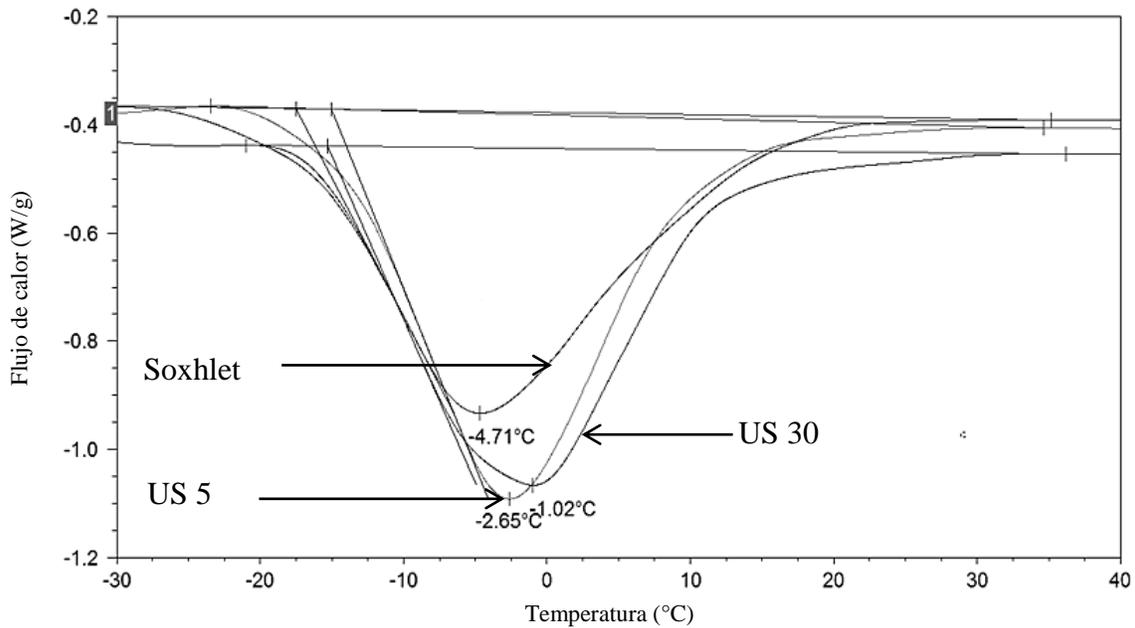


Figura 3.15.- Zona II, transiciones en el intervalo de temperatura de -26 a 40 °C.

Para la segunda zona se tienen las principales transiciones del termograma donde el mayor pico endotérmico lo presenta la muestra con un tiempo de 5 min mediante el US, con una temperatura máxima de transición de -2.65. Como se observa en la tabla 3.4 la muestra con la menor área fue la obtenida con el método US 30 min.

Se obtuvieron las entalpías para determinar la cantidad de energía necesaria en la fusión, aunque también es utilizada para determinar la tasa de eliminación o absorción de calor durante la congelación o calentamiento de los productos alimenticios (Fasina et al., 2008).

Tabla 3.4.- Temperaturas de fusión y entalpía en la zona II.

| Zona de integración | | | | |
|---------------------|----------------|--------|----------------|----------|
| Método | t _i | t max. | t _f | Entalpía |
| | °C | °C | °C | J/g |
| US 5 min | -23.47 | -2.65 | 34.6 | 72.68 |
| US 30 min | -21.02 | -1.02 | 36.15 | 69.2 |
| Soxhlet | -31.23 | -4.71 | 35.12 | 69.23 |

En la III zona se presenta la transición para el ácido oleico, el perfil de flujo de calor y la derivada se representa en la Fig. 3.16 para observar mejor las transiciones en dicha zona, esta comprende desde una temperatura de 12 hasta los 30 °C

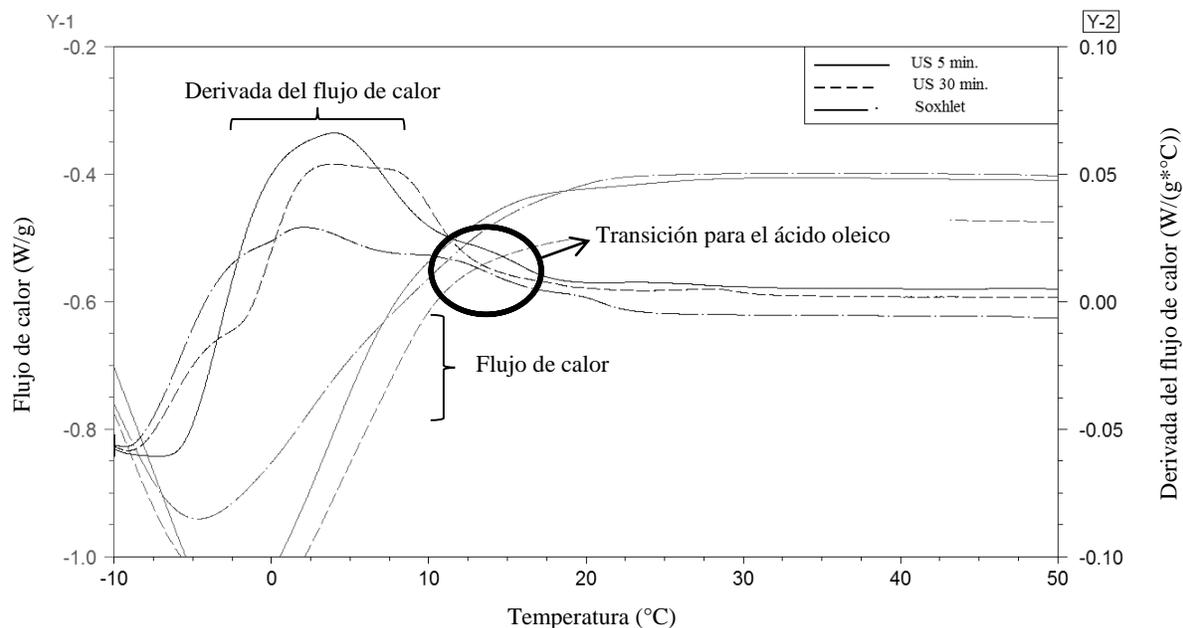


Figura 3.16.- Zona III, transiciones para el ácido oleico en el intervalo de temperatura de 12 a 30 °C.

En la Fig. 3.16 se observa que para la muestra Soxhlet el cambio en la curva es mayor respecto a las muestras del US, siendo que para la muestra a 30 min el cambio no es tan notorio, los valores del ΔC_p (cambio estructural) del ácido oleico se observan en la tabla 3.6.

Tabla 3.5.- Principales transiciones en la zona III y ΔC_p .

| Método | Transición vítrea | | | ΔC_p J/(g·°C) |
|-----------|-------------------|-------------|-------------|--------------------------|
| | t_i °C | t_g °C | t_f °C | |
| US 5 min | 12.80 | 13.18 | 15.86 | 0.3051 |
| US 30 min | 17.03 | 17.57 | 18.06 | 0.0349 |
| Soxhlet | 11.16 | 11.62 | 14.75 | 0.4844 |

Para observar mejor los cambios cinéticos y de estructura se obtuvieron los gráficos de la capacidad calorífica Fig. 3.17 y de la primera derivada del flujo de calor para el intervalo completo de temperatura, Fig. 3.18

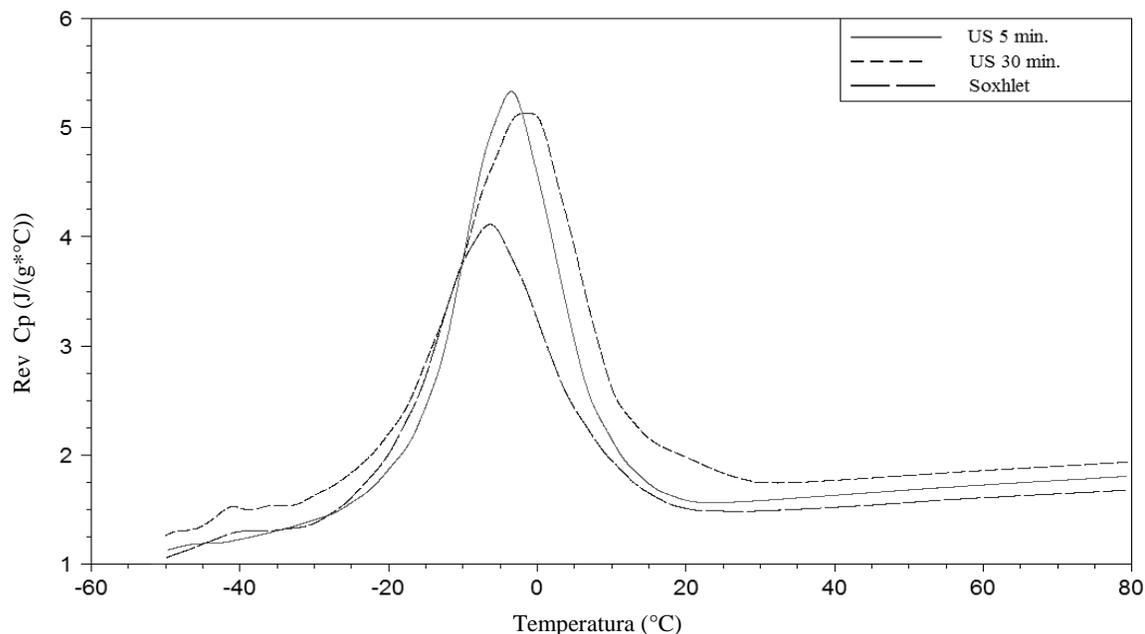


Figura 3.17.- Capacidad calorífica para las diferentes muestras de aceite de las semillas de Moringa.

En la Fig. 3.17 se tiene el mayor cambio de estructura a un intervalo de temperatura de entre -35 a 28 °C, donde para un tiempo de 5 min del método US se tienen los mayores cambios y para el Soxhlet los menores, esto porque con esta técnica se presenta el fenómeno de cavitación generando mayor exposición de los diferentes compuestos a ser disueltos por el disolvente además de presentar mayor energía cinética.

Varias de las transiciones no son observables con la curva normal del flujo de calor por tanto al obtener la derivada del flujo estas son mas evidentes como se observa en la Fig. 3.18.

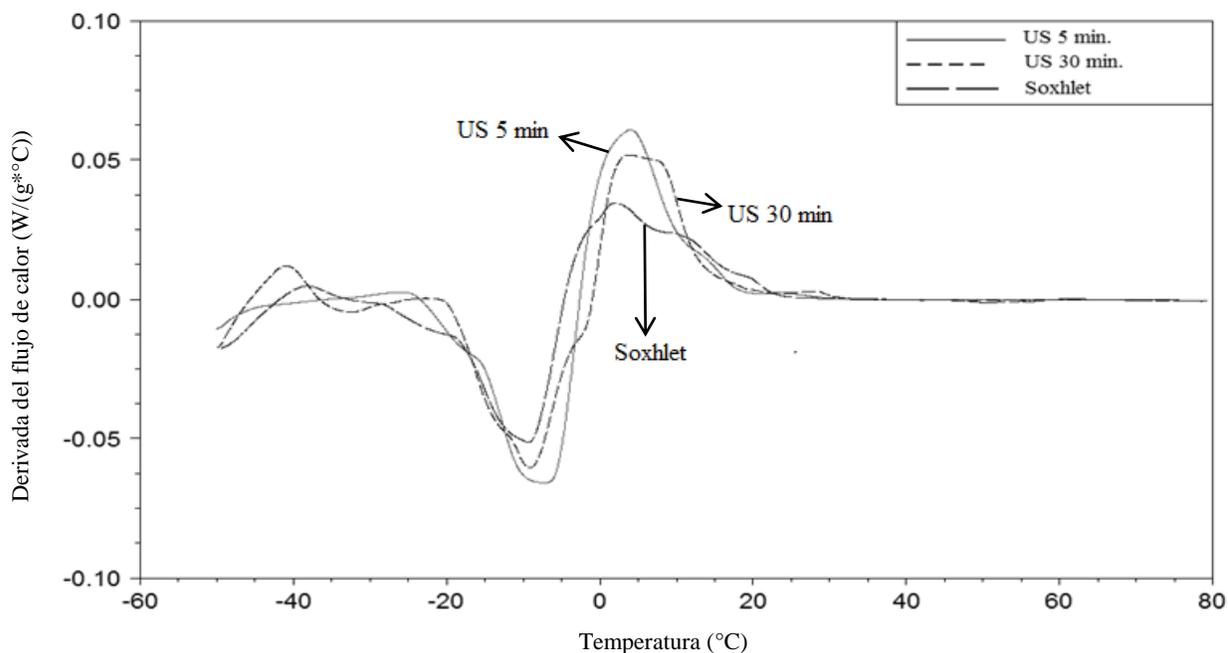


Figura 3.18.- Primera derivada del flujo de calor para las muestras de aceite de las semillas de Moringa.

En la derivada del flujo de calor cualquier desviación que salga fuera de cero, representa un evento térmico importante, para las muestras tratadas con US se tiene una transición de alguno de los ácidos grasos, que justo cae en la zona de temperatura de fusión del ácido oleico (13 °C) según G.K. Knothe y R.O. Dunn (2009), en la muestra del método Soxhlet el cambio no es tan evidente.

La discusión de los diferentes resultados por zonas se tiene a continuación:

Respecto a la zona I, las transiciones presentes son de segundo orden dado que solo cambia el acomodo molecular, los cambios en el ΔC_p son mínimos como se observa en la tabla 3.3. El valor en el ΔC_p para US a 30 min es casi el doble en comparación con las demás, debido al efecto provocado a la estructura de la semilla por US, lo que genera sitios activos para más interacciones, dejando libres grupos polares de hidrogeno que tienen la capacidad de almacenar energía por lo que el valor del ΔC_p es mayor; todo esto en relación con algún ácido graso, posiblemente el Araquidónico con una temperatura de fusión de -50 °C. Según Ruttarattanamongkol, et al. (2014) en la caracterización del aceite de semillas de Moringa oleífera, presenta de un 3.10 a un 3.85 % del total de ácidos grasos, estableciendo de esta forma la presencia del mismo. En las 3 muestras se tiene el inicio de la transición alrededor de los -46

°C, en la aplicación del método Soxhlet el valor es más próximo, al punto de fusión del ácido araquidónico, suponiendo que no existió efecto a la composición o estructura del ácido graso, la extracción por este método no implica como tal energía de degradación, por tanto la obtención de la muestra es más íntegra. Para la segunda transición que presento la muestra US 30 min, se tiene la de menor cambio estructural, un componente con menor presencia pero que implicó que con un tiempo prolongado del US se presentara.

Para la zona II se tiene a un tiempo de 5 min una entalpia de fusión de 72.68 J/g; la mayor energía requerida para llevar a cabo el cambio de estado, en la Fig. 3.17 se observa para este tiempo el mayor cambio en el Cp. Esta es una transición de primer orden que se presentó a una temperatura -2.65 para US 5 min, esto es debido a la recristalización que sufren los cristales de dicho componente (trioleína) del aceite de las semillas de Moringa, según el estudio realizado por abdulkarim, et al. (2005), en la determinación de algunas propiedades fisicoquímicas del aceite de semillas de *Moringa oleífera* mediante la calorimetría diferencial de barrido encontró un gran pico endotérmico a una temperatura de -4.4 °C debido a que la velocidad de barrido del DSC fue de 5 °C/min, por lo que se dio la fusión de los cristales inestables dando lugar continuamente a la recristalización, en formas cristalinas más estables, esto ocasionó la formación del gran pico. Por otra parte el aceite de semillas de Moringa, dentro de los triacilglicéridos (TAG) poliinsaturados, presenta un 36.7 % de trioleína. En el estudio hecho por Márquez (2003) a mezclas de aceite de oliva, mediante calorimetría obtuvo un gran pico a una temperatura de -3.82 °C, esto debido a la trioleína. Che Man et al. (1999) obtienen para la trioleína pura un único pico endotérmico a 2,98 °C.

Martínez, et al. (1988), menciona que mayor parte de las transiciones de los lípidos son de primer orden entre sus estructuras cristalinas (sub- α , α , β' y β) y el estado líquido. La transición entre las formas sub- α y α es de segundo orden. Muchos triacilglicéridos pueden aparecer en cualquiera de las tres formas cristalinas en función del tiempo, la temperatura y la composición, siendo las formas cristalinas β y β' las más comunes en aceites y grasas por su estabilidad. La forma poliformica en la que se representan es una característica diferencial en la mayoría de los lípidos. Márquez, (2003) indica que el primer pico de un termograma de calentamiento corresponde a la forma α , mientras que los últimos picos corresponden a las formas β , más estables. El empaque en la cadena del polimorfo β es más denso que el del polimorfo α . La

cadena más densa en β hace que tenga mayor estabilidad. Además, los polimorfos estables tienen mayor punto de fusión y requieren mayor calor de fusión que las formas menos estables, por tal motivo la zona analizada requirió más energía para la fusión.

Para obtener las temperaturas de transición en la zona III, se tiene la derivada del flujo de calor, Fig. 3.18, se observa que de acuerdo a la temperatura de fusión del ácido oleico, 13 °C (Bradley y Peter, 1982), la aplicación del US a un tiempo de 5 min, se acerca más, a este valor, seguidamente del método Soxhlet y para un tiempo de 30 min del US se tiene la transición más alejada de acuerdo a la temperatura, tabla 3.5, posiblemente por el efecto de la onda (cavitación) que ocasiona el US a tiempos prolongados por lo que la degradación de las diferentes estructuras. A pesar de que la muestra US 5 min se tiene la temperatura más cercana a la transición, Tabla 3.5, el valor del ΔC_p es mayor en la muestra Soxhlet lo que posiblemente se debe a una mayor cantidad de ácido oleico en la muestra de aceite, el C_p es una propiedad extensiva por tanto cuanto más grande sea la cantidad de la muestra, el reacomodo molecular es mayor.

Estos cambios en la capacidad calorífica, presentes en el intervalo de temperaturas, son porque las cadenas de ácidos grasos al enfriarse se alinean y forman una estructura compacta (cristal), y como están presentes varios ácidos grasos, el empaquetamiento no es tan homogéneo por ser de diversas características como las insaturaciones, isómeros, tamaño etc. Por lo tanto se produce más de un tipo de cristal (Badui, 2006). Estos cristales van cambiando de patrón hasta llegar a un estado termodinámicamente más estable, el tamaño y forma del mismo dependerá básicamente del punto de fusión de cada uno (Akoh et al, 2002; Marangoni, 2005) y al presentarse polimorfismo, cambia su masa por tanto el valor del C_p aumenta o disminuye presentándose estas variaciones dentro del mismo intervalo de temperatura.

Para la muestra del US con un tiempo de aplicación de 5 min se tiene el mayor cambio en la curva, lo que significaría que no existió un daño evidente en el compuesto de interés a comparación con la aplicación de un tiempo de 30 min donde el cambio en la muestra no es tan notorio y la temperatura de transición se ve afectada a una temperatura mayor, posiblemente por el efecto ocasionado a los enlaces, en los diferentes compuestos, por el efecto del constante golpeteo inducido por la cavitación, lo que dejaría diferentes grupos disponibles para nuevas interacciones entre los mismos. Para la muestra que se obtuvo a través del método Soxhlet se

observa un cambio menor en la derivada Fig. 3.16, en comparación con las otras muestras, esto porque en la aplicación de este método solo se tiene el diferencial de concentración (solvente-soluto), lo que no implica un efecto de consideración, la fuerza impulsora originada por este diferencial no fue suficiente para la extracción significativa del ácido oleico.

Por otra parte como elemento importante el ácido linolénico (Ruttarattanamongkol, et al. 2014) en el aceite de Moringa (ALA, C18:3, n-3) es un ácido graso poliinsaturado de cadena larga con dobles enlaces a las 9, 12 y 15 en carbono desde el extremo ácido carboxílico. Este ácido graso es conocido como un precursor de los ácidos grasos de cadena más larga (omega 3) como los ácidos eicosapentaenoico (EPA, C20: 5, n-3) y docosahexaenoico (DHA, C22: 6 n-3) (Paramita, Bannikova y Kasapis, 2015). De esta forma en la caracterización del aceite de moringa se tiene que el ácido graso linolénico es de importancia para establecer como tal la presencia del omega 3, en la Fig. 3.19 se tiene el perfil del flujo de calor para la muestra, utilizando Maxepa de Merck conteniendo 70 % en diversos componentes, ácido eicosapentaenoico, 18 % en composición y ácido docosahexaenoico, 12 % en composición.

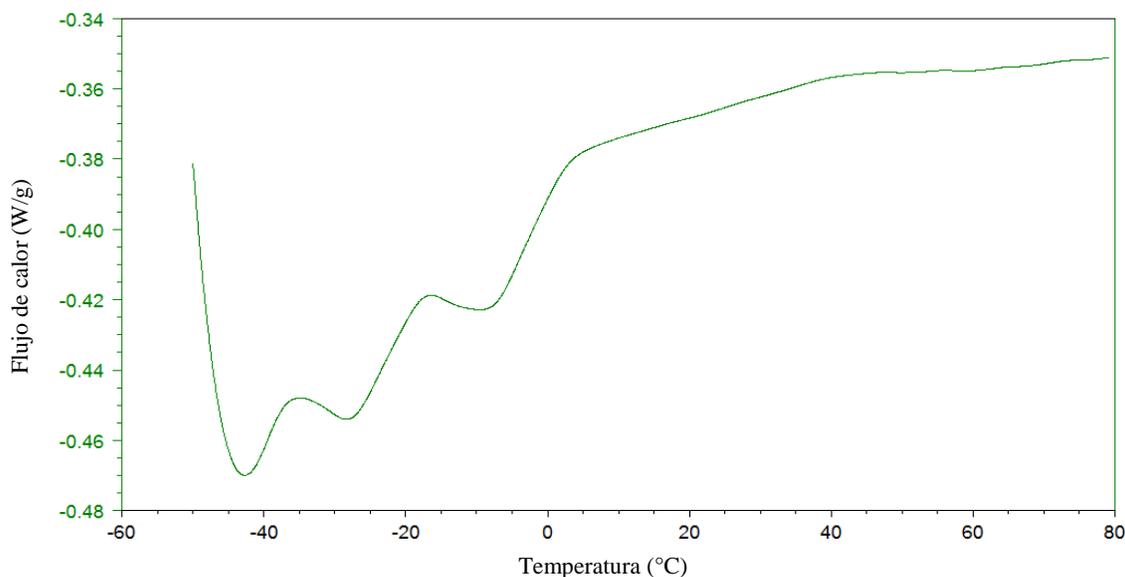


Figura 3.19.- Perfil del flujo de calor para la muestra de aceite del omega 3.

En la figura 3.19 se observa el termograma obtenido de la muestra sometida a calorimetría diferencial de barrido, donde se presentaron 3 transiciones de segundo orden, en comparación con las muestras del US y Soxhlet el flujo de calor para que se presentaran las transiciones es menor.

Para observar de manera puntual los diferentes cambios en la curva del flujo de calor específicamente para las muestras del omega 3 se tienen las primeras transiciones como se observa en la Fig. 3.21.

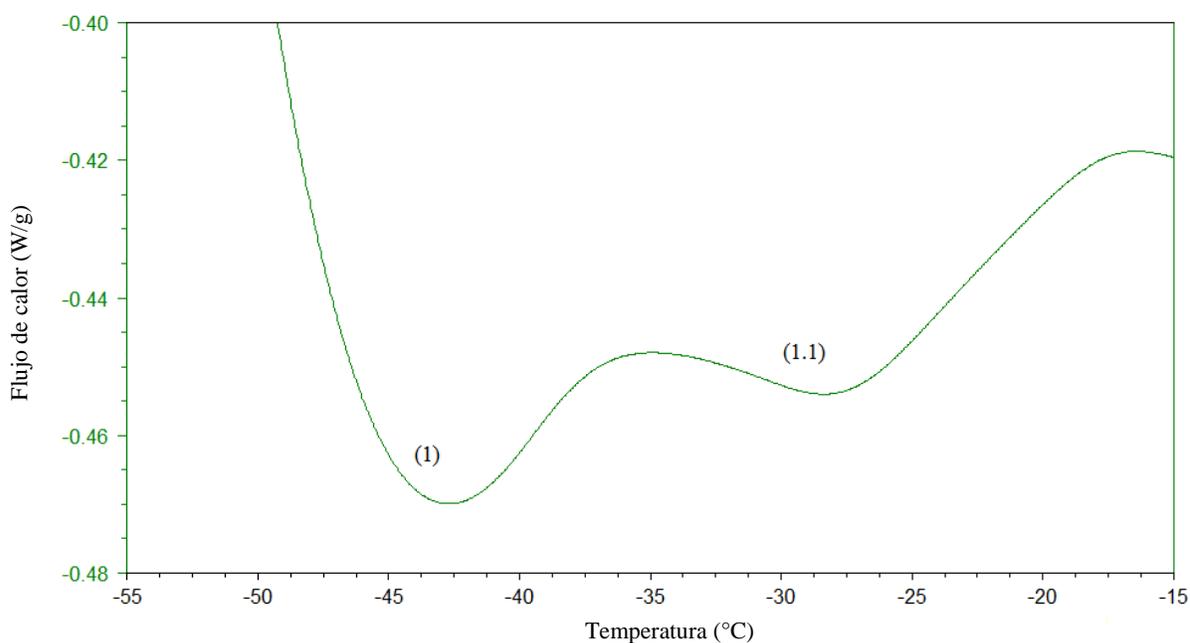


Figura 3.20.- Primeras transiciones presentes en la muestra del omega 3.

Se observa que para la muestra del omega 3 la primera transición que se observa es más significativa (-48.28 °C), aunque de acuerdo al valor del ΔCP no cambian tanto. Posiblemente corresponda al ácido araquidónico (P.F -50 °C), y al igual que esta muestra las demás presentan esta transición tanto la del US como del Soxhlet a temperaturas cercanas tabla 3.3. El valor del cambio estructural se tiene en la tabla 3.6.

Tabla 3.6.- Temperaturas y ΔC_p de las principales transiciones para la muestra de omega 3.

| Transición vítrea | | | | |
|-------------------|--------|--------|--------|--------------|
| Muestra | t_i | t_g | t_f | ΔC_p |
| Omega 3 | °C | °C | °C | J/(g·°C) |
| 1 | -48.28 | -47.81 | -46.27 | 0.2092 |
| 1.1 | -26.65 | -23.74 | -19.28 | 0.1854 |

La muestra del omega 3 presenta otra transición a una temperatura promedio de -7.46 °C , esta se observa en la Fig. 3.21.

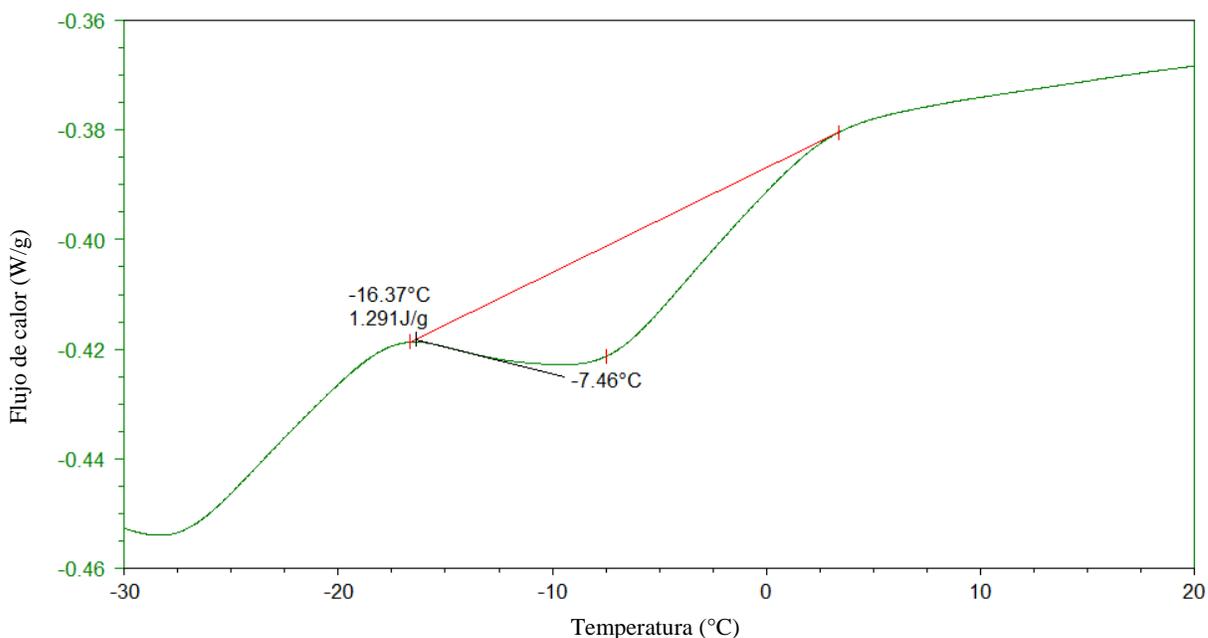


Figura 3.21.- Principal transición de la muestra del omega 3

En la Fig. 3.21 se tiene la principal transición, que no es tan significativa como lo fueron algunas de las anteriores con mayor cambio en la capacidad calorífica, más en esta zona es donde se tiene el componente principal para la comparación con las demás muestras, el ácido linolénico, en esta transición se tiene una entalpia de 1.291 J/g .

Para observar si las muestras obtenidas mediante el US y Soxhlet presentan el cambio en la derivada para asumir de esta forma la transición, se tiene el perfil de la primera derivada del flujo de calor como se observa en la Fig. 3.22.

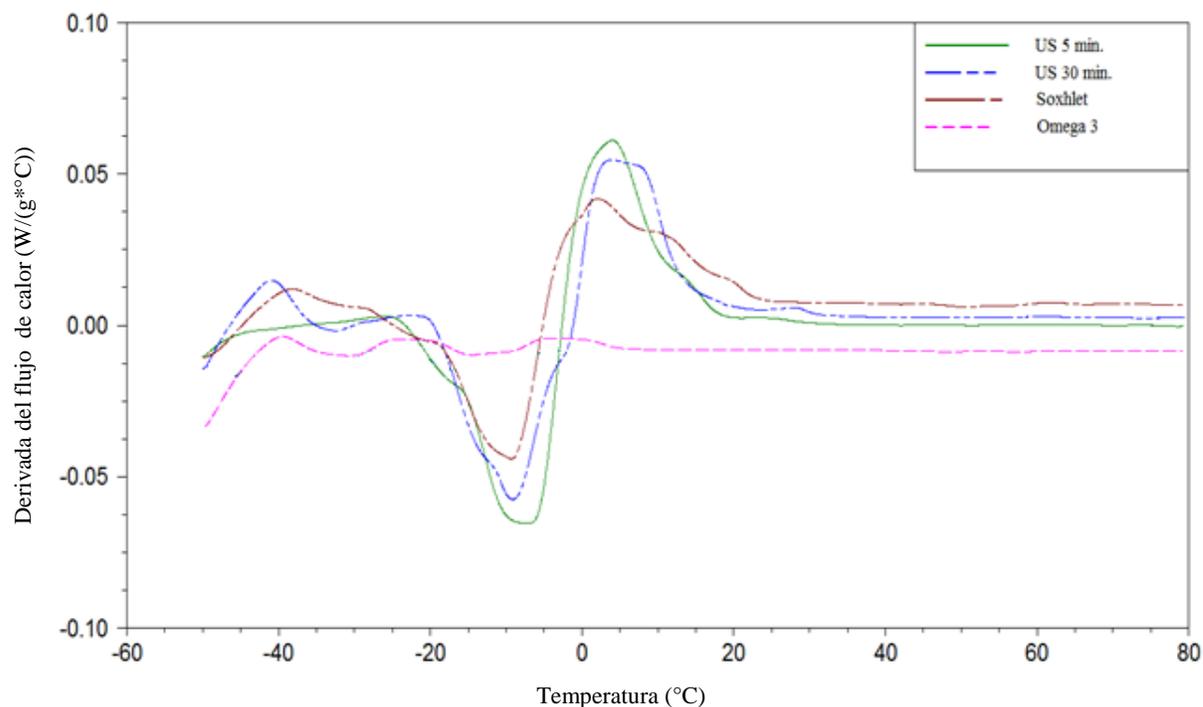


Figura 3.22.- Primera derivada del flujo de calor para las muestras en la zona de temperatura de fusión del ácido linolénico (-11 °C).

Se tiene la primera derivada del flujo de calor donde a una temperatura de $-11\text{ }^{\circ}\text{C}$ se tiene la transición del ácido linolénico, las muestras que presentan dicha transición son las obtenidas mediante el US, la del método Soxhlet no presenta el cambio, posiblemente el contenido de este compuesto en la muestra no fue el suficiente para la transición, siendo que el US proporciona energía constante a la estructura de la semilla, dejando el contenido libre para la extracción por el solvente. Los datos obtenidos donde se tiene el compuesto de interés se muestran en la tabla 3.7.

Tabla 3.7.- Temperaturas de transición en la zona de fusión del ácido linolénico.

| Transición vítrea | | | | |
|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--|
| Muestra | t_i | T_g | t_f | ΔC_p |
| | $^{\circ}\text{C}$ | $^{\circ}\text{C}$ | $^{\circ}\text{C}$ | $\text{J}/(\text{g}\cdot^{\circ}\text{C})$ |
| Omega 3 | -7.91 | -3.87 | -1.08 | 0.1905 |
| US 5 min | -15.52 | -15.02 | -14.92 | 0.02192 |
| US 30 min | -11.35 | -10.64 | -10.52 | 0.03294 |

Las temperaturas de inicio de la transición para las muestras difieren, para la comercial del omega 3 se tiene una temperatura de -7.91°C , esta se aleja de la temperatura de transición del ácido linolénico (-11°C), para la muestra del US a un tiempo de 30 min se tiene la transición más cercana al componente, además considerando la capacidad calorífica, la energía que se requirió para que diera paso a la transición fue alrededor de 10 veces más para las comerciales que con las muestras del US, en cuanto a la presencia del componente según Ruttarattanamongkol, et al. (2014) reportan para las semillas de moringa oleífera de un 0.16 a un 0.18 % de ácido linolénico en composición de ácidos grasos, además en la técnica TLC se confirmó la presencia de este componente, donde en las placas una pequeña cantidad tiene el mismo R_f que la muestra comercial del omega 3.

En todas las muestras sometidas a calorimetría se tienen variaciones en las temperaturas de transición en comparación con la literatura, esto es porque los componentes influyen esta temperatura aumentando o disminuyendo la zona de transición además los aceites y grasas están caracterizados por presentar el fenómeno de polimorfismo debido a las diferencias en composición de los ácidos grasos entre los propios triacilglicéridos, modificando de esta manera las temperaturas de fusión, en los lípidos las diferencias en el empaque de la cadena de hidrógeno carbono y las variaciones en el ángulo de inclinación hacen diferentes las formas poliformicas, El comportamiento de cristalización de los triacilglicéridos incluyendo la velocidad de cristalización, tamaño de cristal, la morfología y la cristalinidad total, se ven afectados por este fenómeno. La estructura molecular de los triacilglicéridos y varios factores externos como la temperatura, presión, velocidad de cristalización, impurezas y velocidad de cizallamiento influyen el polimorfismo (Bailey, 1950).

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica eficaz para el análisis de las muestras de aceite, separando por medio del flujo de calor los diferentes componentes presentes del material de estudio, con esta técnica se puede observar si alguna muestra esta alterada por otro componente o para saber las temperaturas optimas de conservación, esencialmente, pero para un enfoque más global, como complemento las demás pruebas normalmente aplicadas a lípidos son de importancia, como el índice de acidez, índice de yodo, índice de saponificación, índice de peróxidos, densidad etc. el MDSC es de gran utilidad utilizado para pruebas rápidas y de importancia por la información que nos puede aportar.

3.5 Isoterma de sorción

La isoterma de GAB ha sido satisfactoriamente probada en datos de adsorción de gases, como en absorción de vapor soluciones altamente concentradas de electrolitos, alimentos, proteínas y otros materiales (Timmermann, 2002). Para observar los cambios en las dos diferentes muestras de harina residual se tienen las dos curvas de sorción. En la Fig. 3.23 se tiene las isotermas obtenidas US 30 min y Soxhlet, solo se utiliza este tiempo para comparar entre los dos métodos, si existe un cambio considerable a tiempos prolongados de aplicación del US, a tiempos menores del US en SEM y MDSC no se presenta gran diferencia.

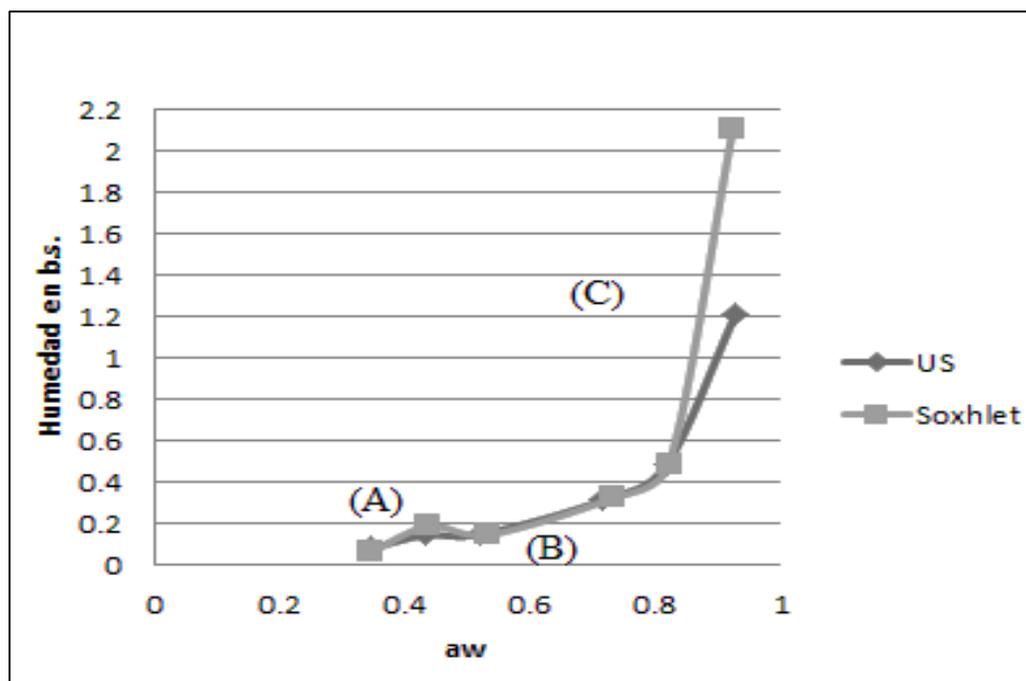


Figura 3.23.- Isoterma de sorción de harina residual (US y Soxhlet).

Se observa que no existe gran diferencia en los primeros valores de la humedad en base seca respecto a la a_w , siendo que para el último dato, el cambio es notable en la curva de la muestra obtenida mediante el método Soxhlet, el tipo de isoterma es del tipo II. Este tipo de isoterma es el más frecuente que se observa experimentalmente, siendo características de fenómenos de adsorción física en multicapas sobre sólidos no porosos. Presentan forma sigmoidal, correspondiendo la formación de la monocapa además a fenómenos de condensación en los microporos (Albella, et al. 1993).

Al observar la curva se tiene que para el último dato existe una diferencia de consideración donde se tiene que la harina residual por parte del Soxhlet presento una mayor capacidad de absorción de humedad, a comparación con la harina del US esto porque en esta última muestra, la aplicación de la técnica fue de 30 min lo que afecta el material, por lo que existió alteración de los diferentes grupos de la harina, disminuyendo de esta forma la capacidad de interacción con las moléculas de agua como se observa en la isoterma, a diferencia del Soxhlet dónde la estructura no fue alterada por aplicación de energía exterior, dejando más sitios activos para las uniones con las moléculas de agua. Por tanto el efecto aportado por la aplicación del US se hace evidente y aunque las isotermas dan información acerca de las condiciones a las cuales los materiales pueden ser almacenados, en este trabajo lo importante fue analizar los efectos propios del US.

3.5.1 Modelo de GAB

El supuesto básico del modelo de GAB es la formación de multicapas de adsorción en los centros de adsorción del sorbente. Las moléculas en la primera capa se unen a los centros de adsorción, y las moléculas en cada capa superior se unen a las moléculas adsorbidas en la siguiente capa inferior (Vopicka, Randova y Friess, 2014).

Los valores de las diferentes constantes en harina residual de la técnica US y Soxleth se observan en la Tabla 3.8.

Tabla 3.8.- Valores de los parámetros obtenidos a partir del modelo de GAB para la harina residual del US y Soxhlet.

| Parámetros | US | Soxhlet |
|-------------------------------------|-----------|----------------|
| K | 0.911 | 0.962 |
| M₀ (g agua/g m.s) | 0.123 | 0.235 |
| C | 0.033 | 0.028 |

El parámetro K es la energía de absorción entre las moléculas en la segunda capa y las moléculas de líquido, capas subsiguientes a la monocapa (Trejo, 2015), describe las propiedades de adsorción de agua. Se tienen entonces que para la aplicación del ultrasonido el valor es menor, posiblemente al efecto ocasionado a los diferentes grupos dentro de la composición de la semilla, por lo tanto, en la adsorción de moléculas de agua los grupos no están tan disponibles para crear las nuevas uniones, por otra parte el método Soxhlet no genera mayores cambios dentro de la estructura de la semilla, así con la aplicación del secado de la harina residual, el efecto no es tan evidente y el valor es mayor, las moléculas en multicapas, tienen interacción con el absorbente en valores energéticos similares a los que tienen las moléculas de monocapa.

Para el valor de M_0 representa la cantidad de agua sorbida en la monocapa se tiene que para el US es la mitad que para la harina del Soxhlet, como lo es sabido por el efecto ocasionado a la estructura de la harina residual, a comparación con la muestra (Soxhlet) Sullivan y Murray, (2015) encontraron que el tratamiento ultrasónico de proteínas en los alimentos se ha relacionado con la afectación a las propiedades fisicoquímicas, estructurales y emulsificantes de un gran número de fuentes de proteína, por lo que con el US la interacción entre proteínas y agua se ve afectada.

Respecto al parámetro C que es la energía necesaria para que las moléculas de agua se ligen al alimento en la aplicación del Soxhlet indica una menor energía de enlace en humedades altas de monocapa, esto se interpreta como que el proceso de adsorción está fuertemente localizado, que las moléculas de agua permanecen más tiempo en la primera capa y además esta humedad

no está disponible para actuar como disolvente o como para reaccionar Rosas, (2012) a diferencia del US donde la energía requerida para los enlaces es un poco mayor debido a que el método provoca cambios en la estructura molecular de las proteínas, que inducen a alteraciones de los diferentes grupos, además modifica sus propiedades funcionales y estos cambios se consideran estrechamente relacionados con modificaciones moleculares (Jiang, et al. 2014), aun con esto las diferencias entre valores para las muestras no varían tanto, la implementación del US si presenta cambios pero no tan drásticos como se esperaba, posiblemente los efectos propios del US la cavitación solo afecto la superficie de la harina, y como tal la extracción del aceite se efectuó por el mecanismo de esponja, ya que de acuerdo al valor del agua absorbida en la monocapa el valor es casi la mitad en comparación con el Soxhlet y el valor de K y C son muy cercanos, en la visualización de la harina residual mediante el microscopio estereoscópico la harina para 5 min de extracción no presenta un efecto considerable por el US, además por microscopia electrónica de barrido el material conserva uniformidad, aglomeración y poca diseminación de los componentes, para un tiempo de 30 min el efecto si es de consideración. En otros estudios en harina de maíz se han obtenido valores para las constantes; M_0 , C y K de: 0.082; 23.23; 0.62 y de 0.134; 3.03; 0.62, según Vega, Lara y Lemus (2006) y Ramírez, et al. (2014). Por tanto la utilización de este método es eficaz para la extracción del aceite debido al tiempo y además no genera efectos importantes en la harina residual.

CONCLUSIONES

La aplicación del US presentó ventajas sobre el método Soxhlet, a un tiempo de 5 min se obtuvo casi todo el contenido de aceite de las semillas, el mecanismo predominante de extracción fue la constante expansión y contracción de las células “efecto esponja”, esto se confirmó en parte con la microscopia donde se observó poca diseminación de la harina para el tiempo de 5 min, con la microscopia electrónica de barrido los efectos en la estructura de la harina no son significativos, por lo tanto en el planteamiento del objetivo particular 1 donde se pensaba que con mayores tiempos de aplicación del US se tendría el mayor rendimiento y daño, este se cumplió parcialmente ya que el mayor rendimiento se logró a el tiempo menor, sin embargo por los efectos de la técnica, los cambios estructurales, se hicieron más evidentes a tiempos mayores.

Para el objetivo particular 2 donde la base fue la caracterización del aceite mediante la aplicación de 2 técnicas, la cromatografía en capa fina dio una separación de los diferentes componentes aunque es limitada ya que solo se comprueba la existencia del compuesto teniendo las referencias, en este estudio el omega 3 y el ácido oleico. Se comprobó la presencia de los mismos pero con la calorimetría diferencial de barrido modulada, por tanto la hipótesis se cumplió de forma satisfactoria, el MDSC utilizado para pruebas rápidas es de importancia por la información que nos puede brindar.

En la aplicación del modelo de GAB, dio como resultado que el efecto del US solo afectó la superficie del material de acuerdo a la humedad de monocapa (M_0), la constante C y K son similares para el US y el método Soxhlet, en la resolución del objetivo 1 los resultados corroboran estos datos, además la hipótesis antes predicha se cumplió siendo que para un tiempo de 5 min la energía necesaria para lograr la unión de las moléculas de agua es mayor

Se tiene entonces que el US tiene gran efecto sobre el rendimiento en la extracción de aceite además el daño al material no es tan significativo, la técnica como tratamiento da grandes beneficios como se ha comprobado en otros estudios, concluyendo que la implementación del US es de gran importancia en la industria, investigación y desarrollo por su utilidad.

Recomendaciones

Investigar más a fondo para determinar el mecanismo de difusión de acuerdo al objetivo particular 1, aplicar las diferentes ecuaciones para el modelado de la isoterma respecto al objetivo particular 3, aplicar tiempos menores de extracción y caracterizar el contenido en aceite por métodos instrumentales como espectrometría según el objetivo particular 2.

Referencias Bibliográficas

1. Abdulkarim, S.M. y Long, K. (2005). Some physico-chemical properties of Moringa oleifera seed. Food Chemistry, 253-263.
2. Albella, J.M., Cintas, A.M., Miranda, T. y Serratos, J.M. (1993) Introducción a la ciencia de materiales. España. CSIC.
3. Anhwange B. A., Ajibola V.O, Oniye S. J. (2004), Chemical studies of the seeds of Moringa Oleifera (Lam) and Detarium microcarpum (Gill and Sperr). Journal of Biological Sciences. Vol 4, num 6, pp. 711-715.
4. Anwar, F. y Bhanger M.I. (2003). Analytical Characterization of Moringa oleifera Seed Oil Grown in Temperate Regions of Pakistan. Agricultural and Food Chemistry. 51: 6558-6563.
5. Anward, F. y Rashid, U. (2007). Physico-chemical characteristics of Moringa oleifera seeds and seed oil from a wild provenance of Pakistan. Pakistan Journal of Botany. 39:1443-1453.
6. Ashokkumar, M. (2015) Applications of ultrasound in food and bioprocessing. Ultrasonics Sonochemistry, 25: 17-23.
7. Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O.E., Asker, D. y Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. Food Research International, 48 (2): 410-427.
8. Ayerza, R. (2011). Seed yield components, oil content, and fatty acid composition of two cultivars of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) growing in the Arid Chaco of Argentina. Industrial Crops and Products. 33 (2): 389-394.
9. Ayerza, R. (2012) Seed and oil yields of *Moringa oleifera* variety Periyakalum-1 introduced for oil production in four ecosystems of South America. Industrial Crops and Products. 36 (1): 70-73.
10. Bailey, A.E. (1984) Aceites y grasas industriales. Barcelona: REVERTE.
11. Barreiro, M.J.A. y Sandoval B.A.J. (2006) Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Equinoccio.

12. Belting, P.C., Gmehling, J., Bolts, R., Rarey, J., Ceriani, R., Filho, O.C. y Meirelles, J.A. (2014). Excess enthalpies for pseudobinary mixtures containing vegetable oils at the temperatures 298.15 K, 353.15 K and 383.15 K. *Fluid Phase Equilibria*. 375: 124-133.
13. Besbes, S., Blecker, C., Deroanne, C., Lognay, G., Drira, N.E. y Attia, Hamadi. (2005). Heating effects on some quality characteristics of date seed oil. *Food Chemistry*, 91 (3): 469-476.
14. Berrocal, M.I.J. (2011) Principios de transferencia de masa en ingeniería en alimentos. Perú. Universidad Nacional del Callao.
15. Bradley, A.F. y Peter B.T. (1982) Bioquímica. España. REVERTE.
16. Ceballos, P.A.M., Giraldo, G.G.I. y Orrego, A.C.E. (2009). Evaluación de varios modelos de isotermas de adsorción de agua en un polvo de fruta deshidratada. *Vector*. 4: 107-116.
17. Chemat, F., Huma, Z.E. y Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4): 813-835.
18. Chuang, P.H., Lee, C.H., Chou, J.Y., Murugan, M., Shieh, B.J. y Chen, H.M. (2007) Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technology*. 98: 232-236.
19. Corrales, M., Toepfl, S., Butz, P., Knorr, D. y Tauscher, B. (2008) Extraction of anthocyanins from grape by-products assisted by ultrasonics, high hydrostatic pressure or pulsed electric fields: A comparison. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 85-91.
20. Cortázar, M.F.L., Meléndez, P.R. y Hernández, O.D.M. (2008), Consumo de energía y distribución de tamaño de partícula en la molienda de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) y pimienta negra (*Piper nigrum* L) *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7: 123-130.
21. Coulson, J.M. y Richardson J.F. (2003) Ingeniería química operaciones básicas. Reverté.
22. Dalia Isabel S. M.(2012). Aislamiento y caracterización de las fracciones proteicas de la semilla de *Moringa oleifera*. *Revista química latinoamericana* 42, pp. 203-207.

23. Dirección general de normas. Determinación de extracto etéreo (método soxhlet) en alimentos. NMX-F-089-S-1978.
24. Dirección general de normas. Determinación de humedad en productos alimenticios NMX-F-083-1986.
25. Fasina, O.O., Shchmidt, M.C., Colley, Z. y Hallman, H. (2008). Predicting melting characteristics of vegetable oils from fatty acid composition. *LWT - Food Science and Technology*. 41 (8): 1501-1505.
26. Fernández, J.D.S. (2007) Estabilidad coloidal de nanoestructuras liposómicas. Universidad de Santiago de Compostela. USC.
27. Ganesan, S.K., Singh, R., Choudhury, D.R., Bharadwaj, J., Gupta, V. y Singode, A. (2014). Genetic diversity and population structure study of drumstick (*Moringa oleifera* Lam.) using morphological and SSR markers. *Industrial Crops and Products*. 60: 316-325.
28. Gharagheizi, F., Llani-Kashkouli, P., Kamari, A., Mohammadi, A.H. y Ramjugernath, D. (2014). A group contribution model for the prediction of the freezing point of organic compounds. *Fluid Phase Equilibria*. 382: 21-30.
29. Grasso F.V. (2013) Diseño del proceso: Pretratamiento enzimático para extracción de aceites vegetales en un extractor de columna. Argentina.
30. Guendouzi, A. y Mekelleche, S.M. (2012). Prediction of the melting points of fatty acids from computed molecular descriptors: A quantitative structure–property relationship study. *Chemistry and Physics of Lipids*. 165 (1): 1-6.
31. Guo, X., Mauro, J.C., Allan, D.C. y Yue, Y. (2012) On the frequency correction in temperature-modulated differential scanning calorimetry of the glass transition. *Journal of Non-Crystalline Solids*. 358 (14): 1710-1715.
32. Gutiérrez J.B. (2000). *Ciencia bromatológica (principios generales de los alimentos)*. España. Díaz de santos.
33. Ibarz A. y Cánovas G.V. (2005). *Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos*. España. Mundi-prensa.
34. Incropera, F.P. y Witt, D.P. (1999) *Fundamentos de transferencia de calor*. México Pearson.

35. Jarque, R. G. (1984). Química avanzada Nuffield, ciencia de la alimentación. REVERTÉ. España.
36. Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., Chen, Y., Ma, W., Qi, B. y Zhang, M. (2014). Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Research International*. 62: 595-601.
37. Kameswara, R.N., Hanson, J., Dulloo, M.E., Ghosh, K., Nowell, D. y Larinde, M. (2007). Manual para el manejo de semillas en bancos de germoplasma. Italia. Bioversity International.
38. Kreisberger, G., Himmelsbach, M., Buchberger, W. y Klampfl, C.W. (2015) Identification and semi-quantitative determination of anti-oxidants in lubricants employing thin-layer chromatography-spray mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 1383: 169-174.
39. Lalas, S. y Tsaknis, J. (2002). Characterization of Moringa oleiferaseed oil variety ‘ Periyakulam 1 ’ . *Journal of Food Composition and Analysis*. 15: 65-77.
40. Lamarque, A., Zygadlo, J., Labuckas, D., Lopez, L., Torres, M. y Mestri, D. (2008). Fundamentos teórico-prácticos de química orgánica. Argentina. ENCUENTRO.
41. Liu, W. y Lanier, T.C. (2015) Combined use of variable pressure scanning electron microscopy and confocal laser scanning microscopy best reveal microstructure of comminuted meat gels. *LWT - Food Science and Technology*. 62 (2): 1027-1033.
42. Llorente U.M.A. y Horta Z.A. (1991) "Técnicas de caracterización de polímeros". UNED.
43. Lorenzo, M., Frías, A., Villa, P. y Valle, M. (2006). Detección por cromatografía de capa fina (CCF) de metabolitos antifúngicos producidos de *Pseudomonas*. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 40 (1):27-30.
44. Lozano, O.E.L., Haney, C.F., Ramón, G.S., Souza, M., Rossi, A.L. y Oliveira, M. (2010) Aplicación de la Microscopia Electrónica de Barrido en la Caracterización de la Poliapatita. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 41: 1-6.
45. Macarulla, M.J. y Goñi, M.F. (1994). Bioquímica humana, curso básico. Barcelona. REVERTE.

46. Magaña, B.W. (2012). Aprovechamiento poscosecha de la Moringa (Moringa oleífera). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 13:171-174.
47. Mani, S., Jaya, S. y Vadivambal, R. (2007). Optimization of Solvent Extraction of Moringa (Moringa Oleifera) Seed Kernel Oil Using Response Surface Methodology. *Food and Bioproducts Processing*. 85 (4): 328-335.
48. Manohar, B. y Sridhar B.S. (2001). Size and shape characterization of conventionally and cryogenically ground turmeric (*Curcuma domestica*) particles. *Powder Technology*, 120 (3): 292-297.
49. Márquez, A.J. y Maza G.B. (2003). Aplicación de la calorimetría diferencial de barrido (CDB) en la caracterización del aceite de oliva virgen. *Grasas y Aceites*. 54 (4): 403-409.
50. Marrero, D.D., Vicente, M.R., Gonzales, C.V., Gutiérrez, A.J. (2014) Composición de ácidos grasos del aceite de las semillas de Moringa oleífera que crece en La Habana, Cuba. *Revista cubana de plantas medicinales*. 19 (2): 1028-4796.
51. Martínez, M.A., Valencia, G.M., Jimenez, U.N., Mesa, M. y Galeano, J.E. (2008). *Farmacia*. udea. Recuperado el 16 de Noviembre de 2014, de <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/manual2008.pdf>.
52. Martínez, N.N., Grau, A.M.A., Boix, A.C. y Mauppoey, P.F (1998). *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno*. España: Universidad Politécnica de Valencia.
53. Masciarelli, R., I. S. (2012). Universidad Tecnológica Nacional. Recuperado el 15 de Noviembre de 2014, de http://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/4_anio/ingenieria_reacciones/Transferencia_de_Materia.pdf.
54. McCabe, W.L., Smith, J.C. y Harriott, P. (1991). *Operaciones unitarias en ingeniería química*. España: McGraw-Hill.
55. Metherel, A.H., Taha, A.Y., Izadi, H., Stark, K.D. (2009) The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed), In press.
56. Métodos de análisis térmico. Recuperado el 11 de junio de 2015, de http://ocw.uc3m.es/ciencia-e-oin/caracterizacion-de-materiales/material-de-clase-1/Apuntes_MeTODOS_DE_ANALISIS_TERMICO.pdf.

57. Miranda, N.M.R. (2012). Determinación de isothermas de sorción en harina de maíz a tres temperaturas y su ajuste a modelos matemáticos. México. IPN.
58. Murlidhar, M. y Goswami, T.K. (2013) Evaluation of size reduction and power requirement in ambient and cryogenically ground fenugreek powder, 24: 427-435.
59. Murthy, C.T. y Bhattacharya, S. (2008) Cryogenic grinding of black pepper. Journal of Food Engineering. 85 (1): 18-28.
60. Nguyen, H.N., Gaspillo, D.P., Maridable, J.B., Malaluan, R.M., Hinode, H., Salim, C. y Huynh, K.P.H. (2011). Extraction of oil from Moringa oleifera kernels using supercritical carbon dioxide with ethanol for pretreatment: Optimization of the extraction process. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 50 (11-12): 1207-1213.
61. Ocampo, C.R., Rios, V.L.A., Betancur, J.L.A. y Ocampo, S.D.M. (2008). Curso práctico de química orgánica, enfocado a biología y alimentos. Colombia. Universidad de Caldas.
62. Olson, M.E. y Fahey, J.W. (2011). Moringa oleífera: un árbol multiusos para las zonas tropicales secas. Revista Mexicana de Biodiversidad, 82 (4): 1071-1082.
63. Olucha, M.D. (2013) Estudio de la influencia de los ultrasonidos de potencia en la transferencia de materia, propiedades ópticas y mecánicas durante el tratamiento prefritura de patata. Recuperado el 11 de junio de 2015, de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/27981/TFM%20DAVID%20OLUCHA%20MORENO..pdf?sequence=1>.
64. Orozco, M. (1996) Operaciones unitarias. México Limusa.
65. Orrego, A.C.E. (2003). Procesamiento de alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.
66. Ortuño, S.M.F. (2006). Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. España. AIYANA.
67. Ozuna, R. y Martínez, O. (2012). Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. Red de revistas científicas de America Latina, el Caribe, España y Portugal, 13: 109-122.

68. Padilla, C., Fraga, N. y Suarez, M. (2012) Efecto del tiempo de remojo de las semillas de moringa (*Moringa oleífera*) en el comportamiento de la germinación y en indicadores del crecimiento de la planta. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*. 46 (4): 419-421.
69. Paredes, A.M. (2014). *Microscopy, Scanning Electron Microscopy*. *Encyclopedia of Food Microbiology* . 2: 1397-1406.
70. Pérez, A., Sánchez, T., Armengol, N. y Reyes, F. (2010) Características y potencialidades de *Moringa oleífera*, Lamark. Una alternativa para la alimentación animal. 33 (4): 1-16.
71. Pingret, D., Sylvie, A., Tixier, F. y Chemat, F. (2013) Degradation during application of ultrasound in food processing: A review. *Food control*. 31 (2): 593-606.
72. Piqueras J.R. y Faura M. (2015). Principios básicos del microscopio electrónico de barrido. Recuperado el 23 de mayo de 2015, de http://ruc.udc.es/bitstream/2183/9313/1/CC-011_art_5.pdf.
73. Placido, M. y Alemán M.P. (2002). Método higrométrico rápido para determinar actividad de agua. *Ciencia y tecnología alimentaria*. 3 (4): 229-235.
74. Popoola, J.O. y Obembe, O.O. (2013) Local knowledge, use pattern and geographical distribution of *Moringa oleifera* Lam. (*Moringaceae*) in Nigeria. *Journal of Ethnopharmacology*. 150 (2): 682-691.
75. Qiang, W.T., Di-Cai, L., Xiao, Y. y Guo, J. (2010). Extraction and Removal of Caffeine from Green. *The Society for Food Science and Technology*, 75 No. 4.
76. Ramirez, M.M., Cruz, M.T., Vizcarra, M.G. y Sosa, A.I. (2014). Determinación de las isoterma de sorción y las propiedades termodinámicas de harina de maíz nixtamalizada. *Revista mexicana de ingeniería química*. 13 (1): 165-178.
77. Realpe, A.C. (2003). Isoterma de sorción de humedad de grano reventado de amaranto y sus dos productos. Ecuador. INIAP.
78. Riera, J.B., Salcedo, R.C. y Alegret, L.P. (2004) *Química y Bioquímica de los alimentos II* (eBook). Universidad de Barcelona.
79. Rodríguez, A.L.J. y Fidalgo, J.L. (2007) T-, D- and c-optimum designs for BET and GAB adsorption isotherms. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*. 89 (1): 36-44.

80. Rosas, M.M.E. (2012). Evaluación del fenómeno de transferencia de masa durante la deshidratación osmótica, asistida por ultrasonido, de mango ataulfo (*Mangifera Indica L.*) y manzana starking (*malus domestica borkh*). México. IPN.
81. Ruttarattanamongkol, K., Siebenhandl, E.S., Schreiner, M. y Petrasch, A.M. (2014). Pilot-scale supercritical carbon dioxide extraction, physico-chemical properties and profile characterization of *Moringa oleifera* seed oil in comparison with conventional extraction methods. *Industrial Crops and Products*. 58: 68-77.
82. Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, B.P., Ghazali, H.M., Bordbar, S. y Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chemistry*. 172: 7-17.
83. Scott, H.F. (2001) Elementos de ingeniería de las reacciones químicas. México, Prentice Hall.
84. Sharapin, N. (2000). Fundamentos de Tecnología de productos Fitoterapéuticos. Colombia. CAB.
85. Shirsath, S.R., Sonawane, S.H. y Gogate, P.R. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chemical Engineering and Processing*, 53: 10-23.
86. Singh, G.R.S., Negi, P.S. y Radha, C. (2013) Phenolic composition, antioxidant and antimicrobial activities of free and bound phenolic extracts of *Moringa oleifera* seed flour. *Journal of Functional Foods*. 5 (4): 1883-1891.
87. Staudt, P.B., Tessaro, I.C., Marczak, L.D.F., Soares, R.P. y Cardozo, N.S.M. (2013) A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures: Extension to the GAB model. *Journal of Food Engineering*. 118 (3): 247-255.
88. Sullivan, J.O., Murray, B., Flynn, C. y Norton, I. (2015). The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids*.
89. Tao, J. Y Feng, Y.J. (2014) Thin-layer chromatography as a method for separating aniline oligomers. *Polymer Testing*, 40: 1-3.

90. Timmermann, E.O., Chirife, J. y Iglesias, H.A. (2001). Water sorption isotherms of foods and foodstuffs: BET or GAB parameters? *Journal of Food Engineering*, 48 (1): 19-31.
91. Trejo J.V. Seminario de investigación: Fenómenos de Superficie, Postgrado en Ciencias Químicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Recuperado el 07 de abril de 2015, de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/11AwGABJV_14227.pdf.
92. Treybal, R. E. (1980). *Operaciones de Transferencia de Masa*. México: McGraw-Hill.
93. Tsaknis, J., Lalas, S., Gergis, V., Dourtoglou, V. y Spiliotls V. (1999). Characterization of Moringa oleifera Variety Mbololo Seed Oil of Kenya. *Agric. Food Chem.* 47: 4495-4499.
94. Ullauri P.G. (2010) transporte de masas en extracción fase sólido-liquido. *Reciteia*.
95. Valderrama, J.O. (1998). *Información tecnológica*. Chile. CONICYT.
96. Vega, G.A., Lara, A.E., Lemus, M.R. (2006) Isotermas de adsorción en harina de maíz (*Zea mays L.*) *Ciencia y tecnología alimentaria*, Campinas: 26(4): 821-827.
97. Vivienne, L.H., Duncan, Q.M.C. y Liam, C.F. (1998) Characterisation of spray-dried lactose using modulated differential scanning calorimetry. *International Journal of Pharmaceutics*. 161 (1): 95-107.
98. Vopicka, O., Randova, A. y Friess, K. (2014) Sorption of vapours and liquids in PDMS: novel data and analysis with the GAB model of multilayer adsorption. *European Polymer Journal*. 60: 49-57.
99. Wanasundara, U.N y Shahidi F. (2005). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. New York. Wiley-Interscience.
100. Wang, B. y Lin, Q. (2013) Temperature-modulated differential scanning calorimetry in a MEMS device. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 180: 60-65.
101. Zakariassen, H. y Sorlie, M. (2007). Heat capacity changes in heme protein–ligand interactions. *Thermochimica Acta*. 464 (1-2): 24-28.
102. Zhao, S. y Zhang, D. (2013). A parametric study of supercritical carbon dioxide extraction of oil from Moringa oleifera seeds using a response surface methodology. *Separation and Purification Technology*. 113: 9-17.