

00586
4



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Química
Doctorado en Ciencias Químicas
(Ingeniería Química)

CINÉTICA DE FUSIÓN/CRISTALIZACIÓN Y CONDUCTA POLIMÓRFICA DE
TRIACILGLICÉRIDOS DE GRASAS
DE FUENTES NO CONVENCIONALES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :
DOCTOR EN CIENCIAS QUÍMICAS
(INGENIERÍA QUÍMICA)

PRESENTA:
M. EN C. JULIO ALBERTO SOLÍS FUENTES



COMITÉ TUTORAL:

Dra. Carmen Durán de Bazúa, UNAM
Dr. Mario G. Vizcarra Mendoza, UAM
Dra. Consuelo Lobato Calleros, UACH

México, D.F., Octubre de 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1



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.

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE.
Jefe de la Unidad de Administración del Posgrado.
Presente.

Me es grato informarle que el alumno **SOLÍS FUENTES JULIO ALBERTO** presentará próximamente su examen para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas (Ingeniería Química) (Clave 582), con el proyecto **"CINETICA DE FUSION/CRISTALIZACION Y CONDUCTA POLIMORFICA DE TRIACILGLICERIDOS DE GRASAS DE FUENTE NO CONVENCIONALES"**, ante el siguiente jurado:

Presidente:	Dr. Raúl Alejandro Valenzuela Monjarás (IIM)
Primer Vocal:	Dr. Jesús Gracia Fadrique (FQ)
Segundo Vocal:	Dr. Jaime Vernon Carter (UAM I)
Tercer Vocal:	Dra. Laura Patricia Martínez Padilla (FES C)
Secretario:	Dr. Mario Gonzalo Vizcarra Mendoza (UAM I)
Primer Suplente:	Dra. Consuelo Lobato Calleros
Segundo Suplente:	Dr. Pedro Roquero Tejeda (FQ)

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Ciudad Universitaria, D. F., 13 de junio de 2003.

El Coordinador


DR. WILFRIDO RIVERA GÓMEZ FRANCO

C.c.p. Integrantes del Jurado.
C.c.p. Departamento de Control Escolar de la Facultad de Química.
C.c.p. Interesado.
*ggm.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Para Lilú,
Para mi mamá, Elisa y mi papá, Juan Alejandro
Para mis hermanos y mis amigos

Son tantas las personas que me brindaron algún tipo de apoyo para la consecución de esta investigación que difícilmente podría completar, con sus nombres, listado exhaustivo alguno. Esto, sin embargo, no hace menos el tamaño y calidad de mi gratitud, aprecio y reconocimiento, a todas ellas; convirtiendo este trabajo de uno individual a otro verdaderamente colectivo.

Especial agradecimiento a mi Asesora y Tutora, Dra. Carmen Durán Domínguez de Bazúa, a mis Tutores Académicos, Dra. Consuelo Lobato Calleros y Mario G. Vizcarra Mendoza, y a los Miembros del Jurado que revisaron el trabajo escrito, aportando en él parte de su tiempo y experiencia: Dra. Laura Patricia Martínez Padilla, Jesús Gracia Fadrique, Dr. Pedro Roquero Tejeda, Dr. Raúl Valenzuela Monjarás y Dr. Jaime Vernon Carter.

De igual modo agradezco a las instituciones que me han dado formación y cobijo académico: a la Universidad Veracruzana y a la Universidad Autónoma de México.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1

Índice

	Página
Resumen	6
Abstract	8
Glosario	10
Índice de Figuras y Tablas	13
1 Introducción	16
1.1 Hipótesis	17
1.2 Objetivo	18
1.3 Metas	18
2 Las grasas y aceites de origen biológico	20
2.1 Importancia biológica y relevancia económica y social	20
2.2 Composición y propiedades químicas y físicas de las grasas y aceites (GyA)	22
2.2.1 Clasificación	22
2.2.2 La composición de las grasas y los aceites vegetales	23
2.2.3 Propiedades químicas	25
2.2.4 Propiedades físicas de las GyA	27
2.3 La investigación de fuentes alternativas de grasas y aceites	28
2.3.1 Las fuentes no-convencionales de GyA	30
2.3.2 La grasa de almendra de semilla de mango (GASM)	31
2.3.3 La grasa de almendra de semilla de mamey (GAZM)	34
2.4 Intercambio y sustitución de GyA	35
2.4.1 Grasas láuricas	36
2.4.2 Otras grasas substitutas	37
2.4.3 Grasas equivalentes a la manteca de cacao (MC)	37
2.5 Las transiciones de fase en las GyA	39
2.5.1 Clasificación de las transiciones de fase	39
2.5.2 Transiciones de fase de primer orden	40
2.5.3 Transiciones de segundo orden y orden superior	41
2.6 Fusión / Cristalización de grasas y aceites	42
2.6.1 Fusión	42
2.6.2 Cristalización	44

2.6.3	Nucleación y velocidad de cristalización	45
2.6.4	Modelos cinéticos de cristalización	47
2.6.5	Tamaño y ordenamiento de cristales	52
2.7	El polimorfismo de las grasas naturales y comerciales	53
2.7.1	Estructura cristalina de los lípidos simples	56
2.7.2	Formas polimórficas en las grasas	57
2.7.3	La investigación de polimorfos en los lípidos	60
2.8	Contenido de sólidos y diagramas de fase de las grasas naturales	63
2.9	La manteca de cacao, un modelo de grasa industrial	70
3	Materiales y métodos	75
3.1	Muestreo	75
3.2	Caracterización del fruto	75
3.2.1	Peso y porcentaje de cada componente constitutivo de la fruta	75
3.2.2	Análisis químico de la pulpa de mango	75
3.2.3	Análisis químico de las almendras	78
3.3	Obtención de la grasa de almendra de semilla de mango (GASM)	79
3.3.1	Deshidratación y reducción de tamaño	79
3.3.2	Extracción y purificación de la grasa	80
3.4	Rendimiento en la extracción de la GASM de almendras de mango maduro	80
3.4.1	Diseño experimental	80
3.4.2	Análisis de efectos principales de las variables de extracción	82
3.4.3	Análisis de regresión y análisis de superficie de respuesta	83
3.5	Propiedades fisicoquímicas de la GASM	83
3.5.1	Ácidos grasos libres	84
3.5.2	Índice de yodo (Método de Wijs)	84
3.5.3	Valor de saponificación	84
3.5.4	Índice de refracción	84
3.6	Patrón de ácidos grasos de la GASM	84
3.6.1	Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos	85
3.6.2	Cromatografía de gases-Espectroscopía de masas	85
3.7	Conducta térmica de la GASM: Fusión/cristalización	86
3.7.1	Perfiles de fusión y cristalización	86
3.7.2	Contenido de grasa sólida	87
3.8	Polimorfismo de la GASM	88



3.8.1	Investigación de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido	88
3.8.2	Patrón de difracción de Rayos X de la GASM	88
3.9	Cinética de cristalización	90
3.9.1	Modelos de cristalización isotérmica	91
3.9.1.1	Modelo Sestak-Berggren	91
3.9.1.2	Modelo de Avrami	91
3.10	Análisis de mezclas GASM-MC	92
3.10.1	Comportamiento térmico de mezclas GASM y MC	92
3.10.2	Contenido de sólidos de las mezclas binarias de GASM y MC	93
3.10.3	Diagramas de fase de las mezclas binarias GASM-MC	93
3.11	Análisis de mezclas GASM-MC-GAZM	93
3.11.1	Obtención y caracterización de la GAZM	94
3.11.2	Preparación de las mezclas ternarias de GASM, MC y GAZM	94
3.11.3	Perfiles de fusión y cristalización de las mezclas ternarias	94
3.11.4	Contenido de sólidos de las mezclas ternarias	94
3.11.5	Perfil del contenido de grasa sólida	95
3.11.6	Diagramas ternarios de fase	95
4	Resultados y discusión	96
4.1	Caracterización fisicoquímica de frutos de mango var. Manila	96
4.1.1	Peso y porcentaje de cada porción constitutiva de la fruta	96
4.1.2	Composición química de la pulpa de mango Manila	97
4.1.3	Composición de las almendras de mango Manila	99
4.2	Obtención de la grasa de las almendras de semilla de mango Manila maduro (GASM)	101
4.2.1	Extracción y purificación de la grasa	101
4.2.2	Análisis del proceso de extracción	101
4.2.2.1	Deshidratación y reducción de tamaño	101
4.2.2.2	Rendimientos de extracción	102
4.2.3	Efecto de la relación S-L, tamaño de partícula y tiempo de extracción en los rendimientos	103
4.2.4	Análisis de regresión	104
4.2.5	Caracterización de la superficie de respuesta	106
4.2.6	Mapas de contorno y superficie de respuesta	107
4.3	Características químicas y físicas de la GASM	109

4.4	Composición y propiedades fisicoquímicas de la MC	110
4.5	Composición de ácidos grasos de la GASM	110
4.6	Comportamiento térmico de la GASM y de la MC	112
4.7	Perfil de sólidos de la GASM y de la MC	116
4.8	Polimorfismo de la GASM	118
4.8.1	Identificación de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido, CB	118
4.8.2	Identificación y caracterización de polimorfos mediante difracción de Rayos X, DRX	121
4.9	Cinética de cristalización de la GASM	125
4.9.1	Termogramas isotérmicos	125
4.9.2	El modelo autocatalizado (modelo Sestak-Berggren)	126
4.9.3	Ecuación de Avrami	128
4.10	Pruebas de compatibilidad en mezclas de GASM-MC	134
4.10.1	Comportamiento térmico	134
4.10.2	Contenido de sólidos de las mezclas GASM-MC	136
4.11	Comportamiento de las mezclas ternarias GASM-MC-GAZM	138
4.11.1	Caracterización fisicoquímica de la GAZM	138
4.11.2	Perfiles de fusión de las mezclas GASM-MC-GAZM	139
4.11.3	Contenido de sólidos de MC, GASM y GAZM y sus mezclas	143
4.11.4	Conducta ternaria de fase de mezclas de MC, GASM y GAZM	145
5	Conclusiones	151
6	Referencias bibliográficas	155

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Resumen

En la presente investigación se analizaron propiedades importantes de grasas y aceites de procedencia no-tradicional, que contribuyeron a identificar vías para su aplicación. Se estudió la conducta térmica y de fases de la grasa de almendra de semilla de mango (*Mangifera indica*, L.), var. Manila (GASM), grasa que proviene de un residuo de una de las frutas de mayor producción e industrialización mundiales. Para ello, se caracterizó fisicoquímicamente la pulpa y la almendra del fruto y se analizaron las condiciones para la extracción y la composición y propiedades fisicoquímicas de la grasa (GASM). Después, se estudió el comportamiento de la GASM durante su fusión y cristalización y las formas polimórficas que presenta, mediante calorimetría diferencial de barrido y difracción de rayos X. Finalmente, se analizó el comportamiento térmico y la compatibilidad de esta grasa en el mezclado con manteca de cacao (MC) y con grasa de almendra de zapote mamey (*Pouteria sapota*) (GAZM) en sistemas binarios y ternarios. Los resultados mostraron que la pulpa de mango Manila maduro representa, en promedio, el 66.5% del fruto y contiene 90.2% de azúcares totales, 3% de ELN y 2.5% de cenizas, entre otros componentes. La almendra es, en promedio, el 5.5% del peso del fruto y contiene 9.3% de grasa, así como fibra cruda, proteínas, cenizas, carbohidratos complejos y taninos. El análisis de las condiciones de extracción de la GASM con el disolvente hexano mediante un modelo experimental compuesto, mostró que el rendimiento de grasa dependió del tiempo de contacto y de las relaciones peso/volumen de las fases sólida y líquida, así como del tamaño de partícula de la almendra deshidratada y molida. La GASM después de purificada tuvo un índice de refracción de 1.466 y valores de saponificación y de yodo de 189.0 y 47.7, respectivamente. Sus ácidos grasos (AG) predominantes son el esteárico (entre 39.0 y 42.6%), oleico (37.5 a 40.8%) y palmítico (9.2 a 9.9%) y en menores cantidades linoleico, araquídico, behénico y lignocérico, entre otros; con AG-saturados entre 51.9 y 55.7% y de AG-no-saturados entre 43.9 y 47.5%. Las curvas de fusión y solidificación de la GASM mostraron ser relativamente simples con intervalos de temperatura del orden de los 50 y 40°C y entalpías de 70.1 J/g y 56.1 J/g para fundir y cristalizar, respectivamente, en muestras sin estabilizar. Diferentes historias térmicas mostraron que la GASM presenta polimorfismo. Muestras estabilizadas presentaron curvas de fusión, intervalos de temperatura y calores de fusión diferentes. El análisis calorimétrico mostró la posible existencia de los polimorfos α , β , β_1 y β_2 . El análisis de difracción de rayos X mostró que la evolución de la forma α a la más estable β sucede en alrededor de 5 días, cuando las muestras se almacenaron a una temperatura de

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

22°C. El patrón de difracción de rayos X de las muestras estabilizadas mostró las señales características del polimorfo β . Este comportamiento térmico y de fases fue cercano al que presentaron muestras de MC preparadas y analizadas del mismo modo en forma paralela. El análisis de la cristalización isotérmica de la GASM a temperaturas entre 8 y 12°C en el marco del modelo de Avrami y de la ecuación modificada de Khanna y Taylor, mostró la posible existencia de sitios adicionales de nucleación durante la cristalización y una gran sensibilidad de la velocidad de la nucleación y crecimiento de los cristales de GASM con el grado de sobreenfriamiento a esos niveles de temperatura (Z de 0.0879 a 0.02904 min^{-1} al ir de 12 a 8°C). El estudio de las mezclas de GASM y MC mediante la construcción de diagramas de isoterias del contenido de grasa sólida, CGS (SFC, por sus siglas en inglés), hizo evidente una menor compatibilidad de la GASM que la que presentan otras buenas grasas equivalentes a la MC, como la *Coberina*; pero, un mejor comportamiento que la grasa de leche, las grasas láuricas o la grasa de aceite de algodón hidrogenado cuando se mezclan con la MC; sobre todo, cuando las mezclas de GASM-MC, se estabilizan. Las mezclas de GASM, MC y GAZM (grasa de almendra de zapote mamey) presentaron un comportamiento térmico más complicado y mostraron menores compatibilidades que el presentado por las mezclas binarias dado que, entre otros factores, la GAZM tiene una consistencia más blanda como resultado de su composición de ácidos grasos. Sin embargo, los perfiles de sólidos en función de la temperatura de las mezclas ternarias y los diagramas de fase ternarios a diferentes temperaturas, permiten analizar el comportamiento de fase de mezclas de diferentes composiciones con posible semejanza en consistencia al de las grasas utilizadas en confitería o para otros propósitos en las diferentes industrias que utilizan grasas de origen biológico. De acuerdo con esta investigación, la composición, las propiedades fisicoquímicas y el comportamiento térmico y de fases de la GASM permitieron demostrar que puede ser utilizable en diferentes ramas de la industria de procesamiento (alimentaria, de confitería, farmacéutica, cosmética).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Abstract

Important properties of non-traditional fats and oils, that contributed to identify applications in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries, were analyzed in this research. Thermal and phases behaviors of mango almond fat (*Mangifera indica*, L.), var. Manila (MAF) were studied. Mangos are one of the most widely processed tropical fruits in the world, and the fat that can be extracted from its seed almonds may become an important product. A physicochemical characterization from the pulp and the seed almond was carried out, considering the best extraction conditions for almond fat. MAF behavior during fusion and crystallization as well as a polymorphic study were performed using scanning differential calorimetry and X Ray diffraction. Finally, MAF thermal behavior and compatibility in mixtures with cocoa butter, CB, and with zapote mamey (*Pouteria sapota*) almond fat, ZMAF, a Mexican indigenous tropical fruit, in binary and ternary systems was carried out. Results showed that ripe Manila mango pulp represents, in average, 66.5 percent of the fruit and contains 90.2% total sugars, 3% nitrogen free extract, NFE, and 2.5% ashes, among other components. Almond is, in average, 5.5 percent of total fruit weight, and it contains 9.3% fat, besides crude fiber, proteins, ashes, complex carbohydrates and tannins. MAF best extraction conditions using hexane were obtained using a compound experimental model, that showed that MAF extraction yield depends upon contact time, dried ground almond:solvent weight:volume ratios, and dried ground almond particle size. Purified MAF had a refraction index of 1.466 and saponification and iodine indices of 189.0 and 47.7, respectively. Its predominant fatty acids (FA) are estearic (between 39.0 and 42.6%), oleic (37.5 to 40.8%), and palmitic (9.2 to 9.9%) acids, and in a lesser amount linoleic, arachidic, behenic, and lignoceric acids, among others; with an average of saturated fatty acids between 51.9 and 55.7% and non saturated FA between 43.98 and 47.5%. MAF fusion and solidification curves showed a relatively simple pattern with temperature ranges around of 50 and 40°C, and enthalpies of 70.12 and 56.06 J/g for fusion and crystallization, respectively, in non-stabilized samples. Different thermal histories showed that MAF presents polymorphism. Stabilized samples presented different fusion curves, temperature ranges, and fusion heats. Calorimetric analysis showed the possible existence of polymorphs α , β , β_1 , and β_2 . X Ray diffraction analysis demonstrated that α transform to more stable β form after roughly 5 days, when samples were stored at a temperature of 22°C. Stabilized samples X Ray diffraction pattern showed the characteristic signals of β polymorph. This thermal and phases behavior was similar to the one presented by cocoa butter, CB, prepared

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

and analyzed in a similar manner as MAF. Isothermal crystallization analysis of MAF between 8 and 12°C, within the frame of Avrami's model and its modification suggested by Khanna y Taylor, showed the possible existence of additional nucleation sites during crystallization and a great sensitivity to nucleation speed and MAF crystals growth with supercooling at these temperature levels (Z of 0.0879 to 0.02904 min^{-1} from 12 to 8°). The study of MAF-CB mixtures using isolines diagrams for solid fat contents, SFC, made evident a lesser compatibility of MAF than fats such as *Coberina*; but a much better behavior than milk butterfat, lauric fats, or hydrogenated cotton seed oil when mixed with CB; especially when stabilized mixtures of MAF-CB are used. Ternary mixtures of MAF, CB, and ZMAF (zapote mamey almond fat) presented a more complicated thermal behavior with less compatibilities than those presented with the binary mixtures. Among other factors, ZMAF has a softer consistency, due to its fatty acids composition. However, ternary mixtures solids profiles as a function of temperature, and the ternary phase mixtures diagrams at different temperatures, indicate that the mixtures behavior at different compositions have similar properties to those fats used for confectionery or other purposes in different industries that use biological origin fats. According to the results obtained in this research, MAF composition, physicochemical properties, and thermal and phase behavior demonstrated that it can be used by different branches of the process industry (food, confectionary, pharmaceutical, cosmetic, etc.).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Glosario

A_0	Factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius
AG	Ácido graso
AGMI	Ácidos grasos mono-insaturados
AGPI	Ácidos grasos poli-insaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
alfa	Distancia entre los puntos adicionales al punto central en el modelo experimental factorial compuesto dado como $[pN/ (4q^2)]^{1/4}$
AP-FM	Fracción de grasa intermedia de aceite de palma
$B_1, B_2, B_3, \dots, B_n$	Coefficientes de regresión
Bloom	Crecimiento de formas cristalinas no deseadas, en chocolates, que provoca una anormal suavidad del producto, decoloración, etc.
C	Fracción de grasa cristalizada del modelo autocatalizado
CB	Calorimetría diferencial de barrido
CGS	Contenido de grasa sólida (SFC por sus siglas en inglés)
CGS(T)	Contenido de grasa sólida en función de la temperatura
Coberina	Grasa comercial equivalente de la manteca de cacao rica en SOS, POS y POP
C_p	Capacidad calorífica a presión constante
dC/dt	Velocidad de cristalización
D_t	Valor dilatométrico
d_t	Diámetro de tamiz
DRX	Difracción de rayos X
E_a	Energía de activación para la cristalización
ELN	Extracto libre de nitrógeno
Enantiotropismo	Propiedad de las forma cristalinas que tiene un intervalo definido de estabilidad y donde cualquier modificación puede ser estable, su transformación puede ir en cualquier dirección dependiendo de la temperatura
F	Fracción cristalizada en la ecuación de Avrami
f	Factor numérico que depende de la geometría
G	Energía libre de Gibbs
ΔG^+	Energía libre de activación para la formación de núcleos
GASM	Grasa de almendra de semilla de mango (<i>Mangifera indica</i> , L.) var. Manila
GAZM	Grasa de almendra de zapote mamey (<i>Pouteria sapota</i>)
GL	Grasa de leche
GyA	Grasas y aceites vegetales
H	Entalpia
ΔH_c	Calor latente de cristalización
ΔH_f	Calor latente de fusión

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

ΔH_m	Entalpía molar de fusión
IGS	Índice de grasa sólida (SFI por sus siglas en inglés)
J	Velocidad de formación de núcleos cristalinos
k	Constante específica de velocidad de cristalización en el modelo autocatalizado
<i>k</i>	Constante de Boltzman
L	Fase líquida
LAD	Lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés, high density lipoproteins)
LBD	Lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés, low density lipoproteins)
LMBD	Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL, por sus siglas en inglés, very low density lipoproteins)
<i>m</i>	Orden de reacción independiente en el modelo autocatalizado
Monotropismo	Propiedad de las formas cristalinas en la que solo una es estable. La transformación puede suceder sólo en la dirección a la forma más estable
M//	Subcelda monoclinica
N	Número de observaciones del diseño factorial 2 ⁿ
<i>N</i>	Número de moléculas con posibilidad de cristalizar
<i>n</i>	Orden de reacción del modelo autocatalizado
<i>N_T</i>	Número total de observaciones del diseño experimental central compuesto
O.L	Subcelda ortorrómbica
OOP	1,2 dioleopalmitina
OPO	1,3 dioleopalmitina
P	Presión
Polimorfismo	Fenómeno que sufren los compuestos de cadena larga tales como los ácidos grasos y sus ésteres por el que pueden presentarse en diferentes formas cristalinas
POP	1,3-dipalmitoleína
POS	Palmito-oleoestearina
PPO	1,2 dipalmitoleína
PSP	1,3 dipalmitoestearina
q	Número de replicados
R	Coefficiente de correlación
<i>R</i>	Constante universal de los gases
<i>r</i>	Parámetro de la ecuación de Avrami
RMN	Resonancia magnética nuclear
S	Fase sólida
<i>S</i>	Entropía
Salatrim	Grasa sintética (Acrónimo de la frase en inglés Short and Large Acyl Triglyceride Molecules)
ΔS^+	Cambio de entropía debido a la incorporación de moléculas al cristal
SOO	1,2 dioleoestearina
SOS	1,3-diestearoleína

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

SSP	1,2 diestearopalmitina
T	Temperatura
T//	Subcelda triclinica
tf	Temperatura de fusión
TG	Triacilglicéridos
tg	Temperatura de transición vítrea
T_m	Temperatura de fusión del soluto puro
V	Volumen
X_1	Relación sólido/disolvente
X_2	Tiempo de contacto
X_3	Tamaño de partícula del material a extraer
Y_{m+}	Respuesta media para el nivel superior, (+)
Y_{m-}	Respuesta media para el nivel inferior, (-)
Y_{a1}	Respuesta del valor alto
Y_{b1}	Respuesta del valor bajo
Z	Parámetro de la ecuación de Avrami

Letras griegas

$\alpha, \gamma, \beta',$ $\beta_1', \beta_2',$ sub- β y β	Denominación de formas polimórficas en TG
γ	Energía libre interfacial entre el cristal y el líquido
ϕ	Coefficiente de expansión térmica
Φ	Volumen relativo de un núcleo
κ (kappa)	Compresibilidad
$\Delta\mu$	Diferencia en el potencial químico entre dos fases en equilibrio
ρ	Parámetro para el cálculo de alfa en el modelo experimental factorial compuesto dado como $[N_T^{1/2} - N^{1/2}]^2$
σ	Desviación estándar
τ	Tiempo de inducción para la formación de núcleos cristalinos

Índice de Figuras y Tablas

Figura		Pag.
2.1	Cambios de entalpía y capacidad calorífica en las transiciones de primero y segundo orden (Roos, 1995)	41
2.2	Estructura cristalina del β -tridecanoglicerol (Birker y Padley, 1987)	58
2.3	Comportamiento típico del índice de grasa sólida IGS (SFI) en productos usados para diferentes propósitos (O'Brien, 1998)	64
2.4	Diagramas de fase con base en valores de dilatación y de contenido de sólidos (Birker y Padley, 1987)	65
2.5	Diagramas de isosólidos para la compatibilidad de la manteca de cacao, MC, con otras grasas (Birker y Padley, 1987)	67
2.6	Formación de un compuesto POP/PPO en una mezcla de aceite de palma interesterificado con una fracción media de aceite de palma (Birker y Padley, 1987)	68
2.7	Diagrama de isolíneas de la entalpía parcial de fusión de la mezcla de manteca de cacao (MC), fracción media de aceite de palma (AP-FM) y grasa de leche (GL) (Md.Ali y Dimick, 1994a)	69
4.1	Comparación del porcentaje de cada porción en el total del peso de mangos Manila tiernos y maduros	98
4.2	Comparación de la composición de las pulpas de mangos tiernos y maduros	100
4.3	Comparación de la composición de las almendras de semilla de mango tierno y maduro	101
4.4	Efecto de la relación peso de la almendra/300 mL de disolvente y del tiempo de extracción en el rendimiento de la GASM	108
4.5	Efecto del peso de la almendra/300 mL de disolvente y del tamaño de partícula en el rendimiento de GASM	108
4.6	Efecto del tiempo de extracción y del peso de la almendra/300 mL de disolvente en el rendimiento de extracción de la GASM	109
4.7	Curvas de cristalización y de fusión de la GASM estabilizada	114
4.8	Curvas de cristalización y de fusión de la MC estabilizada	114
4.9	Curvas de fusión de la GASM y MC, sin estabilizar	115
4.10	Perfiles del contenido de grasa sólida de GASM y MC	118
4.11	Curvas de fusión de la GASM cristalizada mediante diferentes condiciones	120
4.12	Identificación de polimorfos de la GASM mediante CB (DSC)	121
4.13	Evolución de los patrones de difracción de la GASM (1)	122
4.14	Evolución de los patrones de difracción de la GASM (2)	123
4.15	Evolución de los patrones de difracción de la MC	123
4.16	Patrón de difracción de rayos X de la GASM estabilizada	124
4.17	Patrón de difracción de rayos X de la MC estabilizada	125
4.18	Curva de cristalización isotérmica de la GASM a 8, 10 y 12°C	126
4.19	Modelo de regresión para la determinación de parámetros cinéticos del modelo autocatalizado a 12°C	127
4.20	Estimación de la energía de activación en la cristalización autocatalizada de	

	la GASM. Gráfica de $1/T$ vs $\ln t_{max}$	128
4.21	Cinética de cristalización de la GASM para 8, 10 y 12°C	129
4.22	Graficas de $\ln t$ vs. $\ln[-\ln(1-F)]$ usando F entre 0.25 y 0.75 para la estimación de los parámetros de la ecuación de Avrami, para 8, 10 y 12°C	130
4.23	Curvas de fusión de mezclas de GASM-MC no estabilizadas en composiciones de 0.0 a 0.5	134
4.24	Curvas de fusión de mezclas de GASM-MC no estabilizadas en composiciones de 0.5 a 1.0	135
4.25	Curvas de fusión de las mezclas estabilizadas de GASM y MC	135
4.26	Diagrama de isosólidos de mezclas GASM y MC, sin estabilizar	137
4.27	Diagrama de isosólidos de GASM y MC en muestras estabilizadas	138
4.28	Curvas de fusión de GASM, MC y GAZM y de las mezclas A y B	140
4.29	Curvas de fusión de las mezclas C, D, E, F y G	141
4.30	Curvas de cristalización de MC, GASM y GAZM y las mezclas A y B	141
4.31	Curvas de cristalización de las mezclas C, D, E, F y G	142
4.32	Perfil de sólidos de MC, GASM y GAZM	142
4.33	Contenido de grasa sólida, CGS, de mezclas GASM, MC y GAZM	145
4.34	Diagrama de líneas de isosólidos a 10°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	147
4.35	Diagrama de líneas de isosólidos a 21.1°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	147
4.36	Diagrama de líneas de isosólidos a 26.7°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	148
4.37	Diagrama de líneas de isosólidos a 33.3°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	148
4.38	Diagrama de líneas de isosólidos a 37.8°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	149
4.39	Diagrama de líneas de isosólidos a 40°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM	149
Tabla		Pag.
2.1	Clasificación de los lípidos (Thomas, 1987; Nawar, 1993)	24
2.2	Fuentes no-convencionales de grasas y aceites (Hassan y col., 1995; Jiménez-Bermúdez y col., 1995; Kirschenbauer, 1964; Lakshminarayana y col., 1983; Morera, 1994; Salunkhe y col., 1985; Tatsumi y col., 1997; Thomas, 1987)	31
2.3	Composición y propiedades de algunas grasas vegetales equivalentes (Thomas, 1987)	38
2.4	Comparación de algunas grasas equivalentes comerciales con la manteca de cacao (Martin, 1987)	39
2.5	Temperatura de fusión de los AG más comunes (Thomas, 1987)	43
2.6	Características de fusión de TG polimórficos (Thomas, 1987)	59
2.7	Asignación y nomenclatura de polimorfos mediante difracción de rayos X (D'Souza y col., 1990)	61
2.8	Formas cristalinas dominantes en grasas y aceites comunes (Young, 1985)	62
2.9	Composición de ácidos grasos en la manteca de cacao, MC (Martin, 1987)	70

2.10	Formas cristalinas de la manteca de cacao (D'Souza y col., 1990)	74
3.1	Matriz de diseño experimental para la extracción de la GASM	82
3.2	Condiciones para el análisis de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido, CB	89
3.3	Condiciones para la investigación de polimorfos mediante difracción de rayos X, DRX	90
3.4	Matriz de diseño de las mezclas GASM-MC	93
3.5	Matriz de Diseño. Sistema GASM-MC-GAZM	95
4.1	Porciones constituyentes del mango Manila en estado tierno y maduro	97
4.2	Análisis químico de las pulpas de mangos Manila tierno y maduro	99
4.3	Composición química de las almendras de mangos Manila tierno y maduro	100
4.4	Análisis granulométrico de la almendra de semilla de mango molida	102
4.5	Cantidades de grasa extraída de la almendra de semilla de mango	103
4.6	Efectos principales y efecto de las interacciones	104
4.7	Coefficientes de determinación (R^2), correlación (R) y cuadrado medio residual (CMR) en el ajuste de los datos experimentales a diferentes modelos de regresión	105
4.8	Coefficientes estimados del modelo de regresión	105
4.9	Análisis de varianza, ANDEVA, de los coeficientes de regresión	106
4.10	Porcentaje de diferencia entre valores observados y predichos	106
4.11	Características fisicoquímicas de la GASM	110
4.12	Composición de ácidos grasos de la GASM y de la MC comercial	111
4.13	Temperaturas de los puntos de transición y entalpías de cristalización de la GASM y MC	116
4.14	Temperaturas de los puntos de transición y calores de fusión de la GASM y la MC	116
4.15	Contenido de sólidos de la GASM y MC estabilizada y no estabilizada	117
4.16	Características de los polimorfos de la GASM Identificados mediante CB (DSC)	120
4.17	Datos de DRX para la forma β de la MC y GASM	124
4.18	Tiempos de inducción y máximos exotérmicos durante la cristalización isotérmica de la GASM	126
4.19	Índice r y constante de velocidad global, Z , para la cristalización isotérmica de la GASM a 8, 10 y 12°C	131
4.20	Temperaturas para diferente porcentajes de sólidos de mezclas GASM-MC	136
4.21	Composición química de la GAZM	139
4.22	Comparación de las temperaturas de transición, para la cristalización y la fusión de las mezclas GASM-MC-GAZM	144

Introducción

La búsqueda de nuevas fuentes de materias primas para la elaboración de múltiples productos de consumo final es una constante hoy en día en muchas de las sociedades modernas. La identificación y aplicación de estos *nuevos* materiales es un proceso relativamente complejo que involucra a menudo a la investigación científica, a veces, desde un nivel fundamental y, otras, en la realización de estudios aplicados, tecnológicos y/o económicos. A este respecto, muchos materiales de la biosfera no incorporados al sistema productivo como mercancías y muchos otros materiales de origen biológico, algunos de ellos considerados como desechos de la producción mercantil o el consumo humano, tales como los residuos del procesamiento agroindustrial, son una reserva potencial para el sostén de las poblaciones crecientes del mundo y considerada como tal, por muchos investigadores. El conocimiento de las propiedades físicas, químicas, fisicoquímicas, etc., y, en algunos casos, el comportamiento de fase de los constituyentes de estos materiales, son aspectos básicos para identificar las posibles vías particulares de aprovechamiento y los modos de procesamiento industrial de muchos de ellos.

Las crecientes dificultades de producción del sector primario para satisfacer la demanda de materias primas así como el progresivo deterioro del ambiente en países que, como México, han estado históricamente especializados en la producción de materias primas, a menudo, orientan la atención hacia la identificación y uso de fuentes *no-convencionales* para la obtención de, entre otros materiales, grasas y aceites vegetales de uso industrial. Dentro de estas fuentes no tradicionales los residuos de la agroindustria representan un enorme potencial a considerar en el futuro.

Las grasas y los aceites vegetales (GyA) en su etapa intermedia de producción se utilizan en la elaboración de productos en industrias importantes del ramo alimentario, farmacéutico y químico y, tradicionalmente, se obtienen de semillas oleaginosas.

Algunas de las características funcionales deseables en productos elaborados con constituyentes grasos requieren que éstos presenten ciertas propiedades específicas que derivan, de entre otros

factores, de su composición química y de sus propiedades. Tales características pueden determinar, por ejemplo, las condiciones de procesamiento para la obtención de grasas y aceites de consumo final o la estabilidad y propiedades funcionales u organolépticas de productos elaborados. La conducta térmica y las transiciones sólido-líquido así como las transformaciones polimórficas de los triacilglicéridos y, por ende, de las grasas que ellos constituyen, son propiedades importantes a considerar durante el procesamiento industrial, el almacenamiento y el consumo de estos materiales. El polimorfismo de las grasas, está determinado por parámetros estructurales y por la distribución estereoespecífica de los acilglicéridos teniendo gran influencia en ello los ciclos y las velocidades de tratamiento térmico que haya experimentado la grasa o el producto que la contiene y es un aspecto fundamental en la explicación de muchos de los fenómenos que las involucran.

El uso de las GyA en los variados sectores de la industria dependen de sus propiedades; es por ello que, actualmente, hay un progresivo interés en encontrar, formular o elaborar grasas que, sin detrimento de sus características, por ejemplo, nutricias en el caso de los alimentos, tengan ciertas propiedades físicas muy específicas, dentro de las que destacan aquéllas que determinan su comportamiento térmico y de fase. En ese mismo sector industrial de los alimentos el proceso de hidrogenación de aceites vegetales mantuvo durante algunos años una solución al respecto, al lograr la modificación del comportamiento térmico, consistencia y estabilidad de los aceites vegetales en la producción de grasas y al convertirse en una alternativa para la producción y el consumo de las cuestionadas, por varias décadas, grasas saturadas animales y vegetales. No obstante, los conocimientos generados posteriormente sobre algunas características importantes, desde el punto de vista nutricional y médico, de productos grasos ultraprocesados térmicamente han llevado a la aparición de nuevas tendencias del consumo en sectores de la población mundial mejor informados al demandar, en general, productos comestibles menos procesados y naturales. Ello abre una perspectiva más amplia para el empleo de grasas naturales de origen no tradicional y a la utilización de procesamientos simples como el mezclado de aceites y grasas naturales, que requieren de un conocimiento más preciso de las propiedades fisicoquímicas de los constituyentes.

1.1 Hipótesis

La presente investigación plantea que, analizando algunas propiedades importantes de grasas y aceites de procedencia no-tradicional, podrá corroborarse que poseen propiedades

equivalentes a las de las grasas y aceites conocidos internacionalmente y de gran valor comercial, como la manteca de cacao, lo que permitirá darles un valor agregado.

Este trabajo estudia la grasa de almendra de semilla de mango (*Mangifera indica*, L.), var. Manila (GASM), grasa que ha sido motivo de interés en diversos ámbitos de investigación dado que proviene de un residuo de una de las frutas de mayor producción e industrialización mundiales y porque presenta algunas propiedades físicas y químicas que han sido estimadas ser, de gran semejanza a las que posee la manteca de cacao, grasa de amplio uso industrial en el mundo. Sin embargo la GASM, como otras muchas de fuentes no tradicionales, requiere se logre un conocimiento más amplio y profundo en relación con otras características importantes que no han sido aún abordadas, así como de la evaluación cuando ella es mezclada con otras grasas y/o aceites naturales en sistemas binarios y ternarios. Dichos aspectos importantes desde la óptica científica en la contribución al conocimiento y explicación de los fenómenos que suceden en sistemas grasos complejos, lo es también desde una perspectiva tecnológica para la elaboración de productos grasos diversos dentro un espectro amplio de características y aplicaciones.

1.2 Objetivo

El objetivo principal de este estudio fue analizar la conducta térmica y de fases de la grasa de almendra de semilla de mango.

1.3 Metas

Al ser ésta una grasa proveniente de una fuente no-convencional requirió el logro de otras metas colaterales y complementarias como las de:

- evaluar las condiciones para la extracción de estos lípidos de este importante residuo del procesamiento industrial
- estudiar la composición y propiedades fisicoquímicas de la grasa y,
- evaluar sus posibilidades de uso en términos de su compatibilidad en mezclas con otras grasas de uso industrial. Aparte de ello, como es común en estas

investigaciones se requirió caracterizar fisicoquímicamente el fruto con el fin de completar una panorámica más objetiva de la GASM y la fuente de donde proviene.

De acuerdo con lo anterior, se hace primero una revisión conceptual de los temas relativos a la importancia, composición, propiedades, fuentes, usos, etc., de las grasas y aceites de origen biológico, así como de los aspectos fundamentales que explican el polimorfismo y las transiciones de fase en los lípidos, los métodos de investigación de estos aspectos y las contribuciones más recientes halladas en la literatura relacionadas con la GASM y con las características que se le estudian. Enseguida, se describe la metodología empleada en términos de los métodos experimentales, técnicas analíticas y estadísticas, materiales y equipos utilizados. Finalmente se presentan y discuten los resultados, algunas veces en el contexto de otros estudios semejantes reportados en la literatura. Otros de estos resultados son contribuciones a lo que actualmente se sabe sobre las características de esta interesante grasa que permiten confirmar sus posibilidades como una alternativa de reciclamiento de la semilla del mango en su calidad de residuo. Algunas conclusiones permiten entrever las vertientes de utilización y de investigación ulterior de la GASM en el contexto de las diversas aplicaciones de las grasas y aceites en la industria.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las grasas y aceites de origen biológico

2.1 Importancia biológica y relevancia económica y social

Los lípidos son un grupo de compuestos biológicos, insolubles en agua que pueden extraerse de las células y los tejidos mediante disolventes no-polares. Estos compuestos desempeñan funciones biológicas importantes al ser constituyentes estructurales de las membranas, realizar el transporte y almacenamiento de combustible catabólico, ser integrante de las cubiertas protectoras en la superficie de muchos organismos y en las membranas celulares, participar en el reconocimiento de las células, la especificidad de especie y la inmunidad de los tejidos. Algunas sustancias clasificadas entre los lípidos poseen una alta actividad biológica como las vitaminas y hormonas (Lehninger, 1984; Gunstone y Hornwood, 1994).

Las membranas son un constituyente importante de la estructura celular. En algunas células eucarióticas, los diferentes sistemas de membranas pueden llegar a ser hasta el 80% de la masa celular seca total. La mayoría de éstas contienen alrededor de un 40% de lípido y un 60% de proteína. La membrana mitocondrial interna, por ejemplo, contiene entre un 20 y 25 % de lípidos, mientras que la membrana de mielina que rodea ciertos nervios puede contener hasta un 75% de lípidos polares (Lehninger, 1984).

Los lípidos neutros, desempeñan un papel sumamente importante en los animales superiores y en las plantas como combustibles ricos en energía, ya que pueden almacenarse en las células en cantidades grandes en forma de triacilglicéridos (TG). Éstos poseen un alto contenido energético (alrededor de 9 cal/g) y pueden acumularse en forma casi anhidra, como gotitas de grasa intracelular. En el hombre, con una dieta normal, los ácidos grasos cubren hasta el 40% de las necesidades energéticas totales.

La biosíntesis y almacenamiento de lípidos es un importante proceso metabólico en casi todos los organismos; lo es en los animales y en las semillas y frutos vegetales. Además de su indiscutible importancia biológica, las grasas y los aceites de origen vegetal tienen una relevancia creciente en las sociedades y economías mundiales.

En el ámbito industrial, tres tipos de productos de origen biológico constituyen la parte principal de los que se dirigen a las industrias de procesamiento químico. Las grasas animales, el almidón y los aceites vegetales son las mayores en cantidad. Para las dos décadas finales del siglo XX, se produjeron en el mundo anualmente cerca de 70 millones de toneladas de grasas y aceites de origen animal y vegetal, en promedio.

Alrededor del 72% de esta cantidad se dirigió a la industria alimentaria para la elaboración de diversos productos de consumo humano como margarinas, mantecas, aceites para ensaladas, mantequillas, etc.; alrededor del 6% fue consumido para la elaboración de jabones y, aproximadamente, el 22% se utilizó en la fabricación de diversos productos, finales e intermedios para las industrias de pinturas, detergentes, alimentos para animales, productos farmacéuticos y cosméticos (Austin, 1988).

Para los inicios del tercer milenio las estimaciones son de alrededor de 100 millones de toneladas de aceites y grasas, 79.5% vegetales y 20.5% de origen animal (Palmieri y Venturi, 1999).

Esto se da como resultado de factores socioculturales y económicos que han impactado tanto la oferta como el nivel y la estructura del consumo de aceites y grasas comestibles. Se aúnan, el crecimiento de la población, la franca tendencia hacia la preferencia de aceites y grasas vegetales, en detrimento de las de origen animal y las posibilidades de sustitución de algunas materias primas de fuentes no renovables, como el petróleo, por aceites vegetales en la fabricación de productos industriales como detergentes y agentes tensoactivos, lubricantes y fluidos hidráulicos, tintas y pinturas, fitoquímicos, etc. (Palmieri y Venturi, 1999; Patel y col., 1999).

Actualmente se sostiene que algunas de las razones que hacen promisoría la sustitución de derivados del petróleo por GyA de origen vegetal se deben a la naturaleza renovable de sus fuentes, a la capacidad de la agricultura para ampliar el rango de especies en producción, a la casi total biodegradabilidad de éstas, en oposición a la persistencia de los aceites minerales en el ambiente; a su baja ecotoxicidad, sus bajos riesgos durante el procesamiento a altas temperaturas y sus posibilidades de reciclamiento (Palmieri y Venturi, 1999).

La selección técnica de las GyA en los variados sectores de la industria dependen de sus propiedades que derivan, con mucho, de su composición química. Es bien conocido que los aceites comestibles como el de semilla de algodón, oliva, soya, maíz, etc, se emplean como aderezos para ensaladas y para otros usos de mesa y en la cocina, aplicaciones posibles por las particularidades físicas y nutricias que les proporcionan sus característicos patrones de ácidos grasos. Las grasas hidrogenadas para cocinar y hornear pueden involucrar una gran variedad de aceites vegetales como el de semilla de algodón, de palma y de soya, como materias primas y sus composiciones de ácidos grasos se ven modificadas durante el procesamiento.

Este proceso de hidrogenación de aceites ha generado una industria importante hoy en día, ya que mejora el color, sabor y olor del producto *crudo* original, así como algunas propiedades físicas y funcionales importantes y la estabilidad bioquímica. Poco menos de un tercio de las grasas y aceites de origen vegetal y animal se utilizan con fines no comestibles. En la industria jabonera se usan con más frecuencia el sebo, aceite de coco y aceite de palma y en la industria de las pinturas y barnices se utilizan los aceites de linaza, "tung", soya, ricino, colza y semilla de algodón como agentes de secado y plastificantes. Otras aplicaciones se realizan en industrias de encerado y linóleo, lubricantes de impresión y estañado, pulidores, cremas y emulsiones, agentes humectantes y detergentes.

La incorporación de nuevas GyA de origen biológico, desde fuentes no-convencionales en los procesos productivos industriales requiere el generar conocimiento, en ocasiones básico, en torno a esas fuentes, procesos de separación, composición y propiedades fisicoquímicas, toxicológicas y comportamiento de esas GyA en diversos sistemas. El conocimiento más preciso de todo ello, posibilita y hace eficiente, la identificación de aplicaciones y las evaluaciones económicas de su explotación.

2.2 Composición y propiedades químicas y físicas de las grasas y aceites (GyA)

2.2.1 Clasificación

Los lípidos son un grupo de compuestos que comprende una amplia variedad de productos naturales que incluyen a los ácidos grasos y sus derivados, esteroides, terpenos, carotenoides, etc., mismos que tienen en común su rápida solubilidad en solventes orgánicos; sin embargo, una definición más específica es aquella que restringe al grupo a los

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

derivados naturales y compuestos relacionados a los ácidos grasos. De acuerdo con esta última definición, pueden ser subdivididos en dos amplias clases: *simples*, los cuales pueden hidrolizarse para dar uno o dos tipos de diferentes productos y *complejos*, mismos que pueden dar más de dos productos durante la hidrólisis. La Tabla 2.1 presenta una de las clasificaciones de los lípidos, mayormente aceptada.

Las grasas y aceites de origen animal y vegetal comercialmente importantes consisten casi enteramente de triacilglicéridos (TG) que son, con mucho, la más abundante clase de lípidos *simples*. En los TG cada grupo hidroxil del alcohol trihidrico, glicerol, está esterificado a un ácido graso (AG). Si las dos posiciones primarias contienen diferentes ácidos grasos, se crea un centro de asimetría y, con ello, los triacilgliceridos pueden presentarse en diferentes formas enantioméricas (Thomas, 1987).

2.2.2 La composición de las grasas y los aceites vegetales

Las GyA naturales contienen alrededor de 97% de triacilgliceridos; el porcentaje restante se distribuye, en diacil y monoacil-gliceroles. Los AG que componen este tipo de grasas son predominantemente de un número par de átomos de carbono, cadenas lineales alifáticas de entre 4 y 24 átomos y monocarboxílicos. Los ácidos grasos no-saturados difieren en el número y posición de las dobles ligaduras y en su configuración geométrica, debido a esto último pueden ser *cis* o *trans* isómeros. Los AG *cis* predominan en las GyA naturales.

La composición de la mayoría de las GyA vegetales es relativamente simple, están constituidas principalmente por los ácidos palmítico, esteárico, oleico y linoleico; aunque algunas puedan contener un número importante de otros ácidos grasos saturados e insaturados en cantidades menores.

Los ácidos grasos de los animales terrestres son principalmente de cadenas con 16 y 18 átomos de carbono y los de los animales marinos tienen una alta proporción de poliinsaturados con longitudes de cadena entre 20 y 24 átomos. Trazas de AG con número impar de átomos de carbono y cadenas ramificadas pueden ser encontrados en la composición de algunas grasas animales. Las grasas de los animales son, en algunos casos, notoriamente más complejas que las vegetales, por ejemplo, la grasa de la leche de bovino tiene más de 80 AG diferentes y la manteca de cerdo más de 40, la mayoría de ellos en cantidades muy pequeñas (Applewhite, 1985).

Tabla 2.1 Clasificación de los lípidos (Thomas, 1987; Nawar, 1993)

<i>Tipo</i>	<i>Ejemplo</i>	<i>Características</i>	<i>Aspectos generales</i>
Lípido simples			
Grasas neutras	Triacilglicéridos (grasas y aceites)	Ésteres de tres ácidos grasos con una molécula de glicerol	Los más abundantes en la naturaleza
Ceras	Ceras, ésteres de colesterol	Ésteres de ácidos grasos con alcoholes de alto peso molecular	Usos industriales más que en nutrición humana. Se encuentran en las frutas
Lípidos complejos			
Fosfolípidos	Lecitina, cefalina, Lipositos	Un lípido neutro, ácido fosfórico y base nitrogenada	La lecitina es un ejemplo de fosfolípido
Glucolípidos	Cerebrósidos y Gangliósidos	Contienen carbohidratos, una molécula grasa y nitrógeno	El carbohidrato puede ser glucosa o galactosa. Se encuentran en los tejidos nerviosos y en la membrana celular
Lipoproteínas	Lipoproteínas de muy baja densidad (LMBD), de baja densidad (LBD) y de alta densidad (LAD)	Todas contienen proteínas, triacilglicéridos, fosfolípidos, y colesterol en diferentes cantidades	Se sintetizan en el hígado y son el principal medio de transporte de lípidos en la sangre
Lípidos derivados			
Ácidos grasos	Ácido palmítico, ácido oleico, ácido esteárico, ácido linoleico	Generalmente tienen un grupo ácido (COOH), puede ser saturados o insaturados con uno o más dobles enlaces	En grasas biológicas, por lo general tienen un número par de átomos de carbono
Esteroides	Colesterol, ácidos biliares, hormonas adrenocorticales, hormonas sexuales	Derivados de perhidro-ciclo-pentanofenantreno	Se hallan en tejidos vegetales y animales, levaduras y hongos, pero no en bacterias
Hidrocarburos	Terpenos	Compuestos de hidrógeno y carbono	Componentes odoríferos de las plantas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La composición de la grasa de un material vegetal, al igual que la de los animales, está determinada genéticamente aún cuando los factores ambientales puedan influir también en la composición. Por ejemplo, los aceites cártamo y girasol bajos en ácido linoleico y el aceite de colza bajo en ácido erúxico o el cambio en la relación de insaturados/saturados que se da por efecto de cambios en la temperatura ambiental. La grasa subcutánea de los animales marinos que viven en regiones muy frías tienen particularmente un alto contenido de ácidos grasos insaturados.

2.2.3 Propiedades químicas

Las GyA están constituidas por especies químicas reactivas. Las reacciones de hidrólisis, halogenación, hidrogenación y oxidación son importantes desde el punto de vista analítico y desde la perspectiva del procesamiento industrial.

La saponificación, donde uno de los productos de la hidrólisis es el jabón (de ordinario, de sales de sodio o potasio de los ácidos grasos) tiene una gran importancia industrial histórica y es también un método analítico útil para la determinación de una propiedad característica de los lípidos simples. El índice de saponificación de un lípido es el número de miligramos de hidróxido de potasio necesario para saponificar un gramo de grasa o aceite. Es un valor que representa la masa molar media de un lípido, si éste está formado por ácidos grasos de cadena larga tendrá un valor más bajo que el de otro que contenga ácidos grasos de cadena corta (Mehlenbacher, 1970).

La halogenación es el fundamento para el valor o índice de yodo. En general, un valor alto del índice de yodo indica un alto grado de insaturación. Las grasas naturales, que tienen una preponderancia de ácidos grasos saturados, poseen índices de yodo entre 10 y 15 aproximadamente; aquellas que contienen ácidos grasos poliinsaturados en abundancia, pueden presentar índices de yodo entre 120 y 150 (O'Brien, 1998).

La industria se ocupa del proceso de conversión de aceites a grasas por hidrogenación, gracias al rompimiento de las insaturaciones del AG para generar enlaces con el hidrógeno. A este proceso en ocasiones se le denomina endurecimiento, por el cambio de consistencia que provoca en los aceites vegetales. Un método clásico de hidrogenación de aceites consiste en burbujear hidrógeno gaseoso a presión (a alrededor de 172 kpa) en un tanque de aceite caliente (a 200°C) que contiene un catalizador de níquel finamente dispersado, como

cuando se hace la conversión de trioleína a triestearina (Kirschenbauer, 1964; O'Brien, 1998).

Este proceso de endurecimiento ha sido de gran importancia para la industria de grasas y aceites porque ha permitido diseñar grasas para aplicaciones muy específicas ya que si la reacción se regula en forma adecuada es posible preparar una grasa con una consistencia física controlada. Así, los aceites vegetales relativamente baratos y abundantes se convierten en oleomargarina y grasas para cocinar. No obstante esto y que la relación entre ciertas grasas saturadas y las enfermedades arteriales cambiaron, durante muchos años, el patrón de consumo de las GyA hacia la preferencia de los aceites vegetales (especialmente, aceite de las semillas de cártamo), nuevos datos en relación al papel de ciertos productos de reacción provocados durante el tratamientos térmico de los aceites, como los son los AG *trans*, cuestionan las bondades nutricias y seguridad en el consumo de estas grasas hidrogenadas (Doyle, 1997; Khosla y Sundram, 1996; Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa, 2001).

La capacidad de las GyA para hidrolizarse y oxidarse está relacionada con la ranciedad que experimentan. El término *rancio* se aplica a todo aceite o grasa que desarrolla un olor desagradable. En condiciones húmedas y calientes o en presencia de lipasas ocurre la hidrólisis de los enlaces éster, liberándose los ácidos volátiles. La rancidez oxidativa tiene lugar en TG que contienen ácidos grasos insaturados. La reacción es bastante compleja, pero se supone que la primera etapa involucra la formación de radicales libres, seguida por la producción de hidroperóxidos. Ocurren reacciones posteriores, en la cual, se rompen enlaces y se liberan ácidos carboxílicos de cadena corta y olor repulsivo. La estabilidad de las GyA está determinada por su velocidad de oxidación, misma que depende del grado de instauración de los AG. Así, el aceite de cártamo es más inestable que el de coco, teniendo una velocidad relativa de oxidación más de 30 veces mayor que la del aceite de coco (O'Brien, 1998).

La estabilidad de las GyA es de interés fundamental en la industria procesadora y en el ámbito de la investigación. Hay una constante búsqueda de nuevas y mejores sustancias que tengan actividad antioxidante. Dichos compuestos poseen una mayor afinidad por el oxígeno que por el lípido al que se añaden y, por tanto, su función es la de reducir preferentemente el suministro de oxígeno absorbido (Gutcho, 1979; Parmar y Sharma, 1986, 1990).

2.2.4 Propiedades físicas de las GyA

Las propiedades físicas de las GyA son de gran importancia para todos los procesos en los que están involucradas, tanto para el entendimiento en sí mismas, como de la forma en que deben utilizarse desde un punto de vista práctico. La investigación académica, hasta hace poco se dirigió, principalmente, al estudio de aspectos fundamentales de triacilgliceroles puros o de mezclas simples de composición conocida, mientras que la industria se había venido involucrando con el estudio de mezclas complejas de grasas en las que el objetivo primordial es el diseño de grasas con características y aplicaciones específicas. La necesidad de explicaciones teóricas de sistemas complejos, como lo son las GyA, para la solución de problemas prácticos ha llevado a abordar el estudio de las propiedades físicas de GyA en los diferentes ámbitos de investigación (D'Souza y col., 1990, Grall y Hartel, 1992; Hartel, 1996; Herrera, 1994; Herrera y Hartel, 2000).

Las características físicas de una grasa dependen de muchos factores entre los que se encuentran el material o fuente de donde provienen, su composición (esto es, el grado de insaturación, longitud de la cadena y las formas isoméricas de los ácidos grasos y la estructura molecular de los glicéridos que la constituyen) y el tipo de procesamiento a que estuvo sujeta.

Las propiedades físicas mayormente consideradas son el color, sabor, punto de fusión, plasticidad, acción lubricante, viscosidad, gravedad específica y solubilidad; sin embargo, un requerimiento esencial en el control del procesamiento industrial de las grasas y en las propiedades funcionales de los productos en que ellas intervienen, es el entendimiento de esas propiedades con relación a la conducta de fusión, cristalización y polimorfismo (Hernqvist, 1988; Herrera y Hartel, 2000; Roos, 1995; Walstra, 1987).

Estas propiedades han sido objetos de numerosas investigaciones para conocer aspectos fundamentales de los triacilglicéridos que las componen, de mezclas de composición conocida o de mezclas complejas en las que el interés estriba en analizar y explicar su comportamiento térmico y de fases en sistemas modelo, en aplicaciones específicas o para productos de consumo final (Arishima y Sato, 1989; Barra y Somma, 1996; Bracco, 1973; Deffense, 1993; Koyano y col., 1989; Rousset y Rappaz, 1996; Sato y col., 1989). Industrialmente, los procesos de fraccionamiento, endurecimiento, interesterificación, emulsificación, cristalización y mezclado, son la base en la elaboración de los productos de

consumo final como, margarina, mayonesas, cremas, chocolates, mantecas especiales y aceites de mesa, medicamentos, cosméticos, etc. En algunos de los casos y hasta hace pocos años la composición y características detalladas de la mezcla grasa no era del todo conocida y la manufactura de esos productos dependía de la manipulación adecuada de la grasa para alcanzar las propiedades funcionales deseadas y evitar con ello características indeseables en los productos como la granulosis en las margarina, el cambio de forma cristalina durante el almacenamiento o la manipulación de los chocolates; sin embargo, tales características y comportamiento van siendo explicadas y resueltas de mejor manera por la participación progresiva de la investigación científica en estos temas (deMan y col., 1993; Lausten, 1991).

2.3 La investigación de fuentes alternativas de grasas y aceites

En el ámbito de la producción industrial hay un progresivo interés en encontrar o elaborar grasas con propiedades físicas específicas (Ouba y col., 1994; Paulicka, 1981). En el caso de la fabricación de productos alimenticios, por ejemplo, los aspectos nutricios y funcionales, son básicos. Grasas que nutran o que permitan disminuir los niveles de riesgo a la salud por su consumo, a la par que presenten propiedades físicas específicas y que se logren dentro de estructuras de costos bajos se pretende puedan reemplazar a algunas de las existentes en muchas de sus aplicaciones.

Una de las objeciones más frecuentes con relación a los aspectos nutricios de las grasas de origen vegetal se refieren a sus relativamente altos contenidos de ácidos grasos saturados, láurico y mirístico, ya que su alto consumo se ha correlacionado con enfermedades cardiovasculares importantes. Los AG insaturados, por su parte, dada su alta inestabilidad oxidativa pueden ocasionar cambios en detrimento de las características organolépticas de los productos y la presencia de los ácidos grasos isomerizados en configuración *trans*, en los aceites vegetales parcialmente hidrogenados, que si bien permiten salvar los inconvenientes anteriores, progresivamente han sido objetados desde el punto de vista nutricio y de la salud humana.

Como se mencionó antes, existe un efecto lineal entre la ingestión de ácidos grasos *trans* y su proporción en la dieta y la elevación de los niveles plasmáticos de colesterol, principalmente, de las lipoproteínas de baja densidad, LBD (LDL, por sus siglas en inglés), que constituyen un factor independiente de riesgo coronario. Se ha encontrado que los *trans*-ácidos grasos aumentan, tanto los niveles sanguíneos de colesterol total como los de

las LBD pero, a diferencia de los ácidos grasos saturados, los trans isómeros tienden a disminuir, también, las lipoproteínas de alta densidad, LAD (HDL, por sus siglas en inglés) que tienen una función favorable en los mecanismos de transporte lipídico en la sangre (Khosla y Sundram 1996; Solís-Fuentes y Durán-de-Bazúa, 2001).

En consecuencia de lo anterior, en los países de mayor desarrollo industrial se evalúan científicamente los contenidos de trans-ácidos grasos en los productos elaborados de mayor consumo de la población (Enig y col., 1990; Van Erp-Baart y col., 1998) y, con base en otros factores de índole técnica y económica, en amplios sectores de la población mundial se están reorientando muchos esfuerzos hacia la preferencia de las grasas vegetales naturales mínimamente procesadas o hacia nuevas fuentes alternas de grasas, en las que las llamadas no-convencionales, van teniendo un interés creciente.

Las grasas tropicales, llamadas así por provenir de productos agrícolas obtenidos en regiones tropicales están siendo revaloradas para su uso ampliado; sin embargo, algunas como la de coco, mantienen inconvenientes bien conocidos en su composición química.

Otra vía de búsqueda para salvar tal problemática es el *diseño de grasas* a través de procesos de interesterificación (Chang y col., 1990) que ha permitido, en ocasiones, lograr el doble propósito de elaborar grasas de “bajo contenido calórico” y con proporciones mínimas de ácidos grasos saturados diseñándose TG con un ácido graso de cadena saturada larga y con dos de cadena media. Bertoli y col. (1995) reportan un procedimiento para la preparación de un sustituto de mantequilla vegetal mediante la interesterificación de aceite de cártamo, girasol o maíz, completamente hidrogenado, rico en ácido esteárico y con ácidos caproico, caprílico o cáprico. El producto conocido comercialmente como *Salatrim* (nombre genérico de una familia de grasas de calorías reducidas y acrónimo de la frase en inglés *Short and Large Acyl Tri-Glyceride Molecules*) tiene una estructura semejante a un ácido graso de cadena larga, generalmente esteárico y dos ácidos grasos de cadena corta, acético, propiónico o butírico. Estos productos tienen un aporte calórico de aproximadamente 5 cal/g y son, según se afirma, auténticas grasas de calorías reducidas que proporcionan el sabor y textura características de una grasa (Báez-Fernández, 1996; Smith y col., 1994).

2.3.1 Las fuentes no-convencionales de GyA

Las denominadas fuentes no-convencionales de GyA, en contraposición a las que incluyen a las bien conocidas, representadas por las semillas y granos oleaginosos (soya, canola, cártamo, palma, algodón, etc.) y por las de algunos animales terrestres y marinos (cerdo, res, carnero, ballena, pescado, etc.), están constituidas principalmente por plantas silvestres o de cultivo restringido, microorganismos y algunos residuos agroindustriales, algunas de ellas se citan en la Tabla 2.2.

La investigación de microorganismos capaces de acumular lípidos en proporciones altas (hasta de más de un 60%) en relación con su peso seco, es una línea de búsqueda de materiales biológicos que, gracias a la composición y características físicas de sus lípidos, pueden ser consideradas como fuentes no-convencionales de grasas. Microorganismos como *Endomyces vernalis*, *Rhodotorula gracillis*, *Rhodotorula glutinis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodospiridium toruloides*, *Lipomyces starkeyi* y *Lipomyces lipofer* son ejemplos apropiados.

En relación con algunos de estos microorganismos, Tatsumi y col. (1977) reportan un método para producir una grasa substituta de la manteca de cacao mediante el cultivo de éstos en condiciones aerobias y la posterior extracción de la grasa rica en TG 1,3 disaturados 2 monoinsaturado que, aunado a un procesamiento de fraccionamiento permite lograr grasas de composición más cercana a la de aquellas que se pretenden sustituir. De acuerdo con estos mismos autores, las células de *Rhodospiridium toruloides* tienen un contenido de grasas y aceites de 59.8% b.s. con valores de ácido, saponificación y de yodo de 1.98, 193.1 y 70.2, respectivamente; con una composición acilglicérida de: Trisaturados 2.5%, disaturados (sn2 insaturado) 47.9%, di-nosaturados (sn2 saturado) 39.0% y trinaturados 8%.

En este mismo orden de ideas está el caso de la levadura *Cryptococcus curvatus* que reproducida bajo condiciones bajas en nitrógeno sintetiza una grasa con un porcentaje de ácidos grasos saturados de alrededor del 44% semejante a los lípidos de muchas semillas oleaginosas y que puede ser base para la obtención de grasas equivalentes a ciertas grasas industriales como la manteca de cacao (Hassan y col., 1995).

Tabla 2.2 Fuentes no-convencionales de grasas y aceites
(Hassan y col., 1995; Jiménez-Bermúdez y col., 1995; Kirschenbauer, 1964; Lakshminarayana y col., 1983; Morera, 1994; Salunkhe y col., 1985; Tatsumi y col., 1997; Thomas, 1987)

	Tipo de aceite	Fuente	Rendimiento
Plantas silvestres o de cultivo restringido	Aceite de piñoncillo	<i>Euphorbia lathyris</i>	
	Sebo de Borneo	<i>Shorea stenoptera</i>	45-50%
	Grasa de Mowrah	<i>Madhuca latifolia</i>	
	Manteca de Shea	<i>Butyrospermum parkii</i>	45-55%
	Aceite de semilla de okra	<i>Hibiscus esculentus</i>	
Microorganismos		<i>Endomyces vernalis</i>	
		<i>Rhodotorula gracillis</i>	
		<i>Rhodotorula glutinis</i>	
		<i>Rhodosporidium toruloides</i>	>50%
		<i>Lipomyces starkeyi</i>	
Residuos Agroindustriales	Aceite de salvado de arroz	<i>Oryza sativa</i>	17-21%
	Aceite de semilla de mamey	<i>Pouteria sapota</i>	40-55%
	Aceite de semilla de mango	<i>Mangifera indica</i>	5-14%
	Aceite de semilla de aguacate	<i>Persea americana</i>	
	Aceite de semilla de durazno	<i>Prunus persica</i>	32-45%
	Semilla de uva	<i>Vitis vinifera</i>	6-21%
	Semillas de cáñamo	<i>Cannabis sativa</i>	30-35 %

2.3.2 La grasa de almendra de semilla de mango

Fuentes alternas de grasas potencialmente importantes son las constituidas por los llamados residuos de la agroindustria. La almendra de la semilla de mango (*Mangifera indica*, L.) y la almendra de la semilla de zapote mamey *Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn, son ejemplo de ellas.

Como es sabido, México es uno de los principales productores de mango del mundo, su participación oscila alrededor del 5% de la producción mundial, que es de aproximadamente 20 a 25 millones de toneladas. Ha ocupando como país productor durante muchos años el segundo lugar, después de la India, cuya aportación rebasa el 60% de la producción total (FAO, 2001). En México se producen un gran número de variedades de mango, destacando de entre las 20 variedades más importantes comercialmente en México, las denominadas: Ataúlfo, Canario, Diplomático, Esmeralda, Haden, Heidi, Irwin, Julie, Keitt, Kent, Manzana, Naranja, Oro, Paraíso, Piña, Sensation, Tabasco, Tommy Atkins y Zill y, principalmente, la variedad Manila, importante por la superficie cultivada, el mayor grado de aceptación y los volúmenes de producción que han llegado a ser en algunos años de alrededor del 35% del total (Saucedo-Veloz y Lakshminarayana, 1977).

El Estado de Veracruz es, junto con Oaxaca, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Guerrero, Chiapas y Michoacán, de las principales entidades productoras de mango en México; de hecho, en el Estado de Veracruz el mango se cosecha en casi la mitad de sus municipios, destacando por sus amplias superficies cultivadas las zonas de Chacaltianguis, Actopan y Los Tuxtlas, Jalcomulco y Medellín de Bravo, entre otras.

De las variedades cosechadas en México, el Manila es el más importante, por los volúmenes producidos y el mayor grado de aceptación en su consumo en fresco e industrial. En Veracruz, al igual que en la República Mexicana, la variedad preferida para su industrialización es la Manila, debido a sus características organolépticas, tamaño promedio y características de poca fibra en la pulpa. El consumo per cápita nacional de esta fruta oscila alrededor de los 10kg/persona/año y el que se dirige al procesamiento industrial está entre el 10 y 25% de la cosecha nacional, influyendo notablemente en ello las fluctuaciones regionales de producción, precios, cuotas de exportación, etc. (Solís-Fuentes, 1998). Como es sabido el mango es una fruta de alta producción y consumo mundiales y una buena parte de su producción se industrializa y se consume en una variedad de productos. Se procesa principalmente para la obtención de jugos, néctares y pulpas congeladas, rebanadas deshidratadas y en almibar, polvos, jaleas, mermeladas, etc.

Durante el proceso de industrialización de esta fruta se producen varios residuos, uno de los cuales es la semilla. Dependiendo de la variedad, representa entre el 3 y 25% del peso del fruto fresco. Las almendras contenidas en las semillas son, a su vez, entre el 54 y el 85% del peso de la misma (Lakshminarayana y col., 1983). Uno de los más importantes componentes de la almendra y que ha sido objeto de un buen número de estudios ha sido la grasa (Ali y col., 1985, Dhingra y

Kapoor, 1985; Jiménez-Bermúdez y col., 1995; Lakshminarayana y col., 1983; Narasimha-Char y col., 1977; Solís-Fuentes, 1998; Van Pee y col., 1980; entre otros). En estos reportes se resalta la importancia de este material, potencialmente utilizable como fuente de grasa de uso industrial, debido a algunas de sus características fisicoquímicas.

El rendimiento de extracción de la grasa en las almendras de la semilla del mango se ha encontrado que responde a variaciones varietales y puede ir desde un 3.7 hasta un 14% (b.s.). De entre las variedades cultivadas en México y estudiadas, las variedades Manila y Paraíso presentan rendimientos mayores al 10% b. s. (Jiménez-Bermúdez y col., 1995; Lakshminarayana y col., 1983).

Se sabe que la composición de las diferentes fracciones lipídicas de la grasa de la semilla de mango en las diversas variedades estudiadas está constituida por la fracción de hidrocarburos y esteroides esterificados que fluctúa entre un 0.3 y 0.7%, TG entre un 55.6 y 91.5%, glicéridos parciales entre un 2 y 4% y esteroides libres entre un 0.3 y 0.6%, además de ácidos grasos, glucolípidos y fosfolípidos en cantidades menores (Ali y col., 1985).

En algunos estudios se ha encontrado que los ácidos grasos de mayor abundancia en esta grasa son el oleico que, en muchas variedades, fluctúa entre un 38 y 55%, seguido del esteárico que va del 26 al 49% y el palmítico entre el 6 y el 14%. Otros ácidos grasos presentes que van más allá de un porcentaje traza son el linoleico, entre 2 y 12% y el araquídico, hasta un 2% (Lakshminarayana y col., 1983).

La configuración de los principales triacilglicéridos (TG) de la grasa de la almendra de semilla de mango que, en adelante, se denominará GASM, para algunas variedades de mango ha sido reportada por Van-Pee y col. (1980). Los ácidos grasos saturados, palmítico, esteárico y araquídico han sido hallados, al igual que en otros TG vegetales, casi exclusivamente en las posiciones 1 y 3. Sin embargo, el ácido araquídico se encontró asimétricamente distribuido entre las posiciones 1 y 3; el exceso está localizado en la posición 3. Una incorporación asimétrica similar de ácido araquídico ha sido encontrada en otras grasas como las de cacahuate y cacao. Los ácidos oleico y linoleico están principalmente situados en la posición 2, acorde con la conocida hipótesis de que los ácidos grasos saturados se distribuyen en las posiciones sn-1 y sn-3 y que los lugares restantes son proporcionalmente receptores de los ácidos oleico, linoleico y linoléico (Evans y col., 1969).

En el marco de esta investigación, en resultados previos, se encontraron pocas diferencias entre la MC y la GASM var Manila en las características fisicoquímicas y del índice de refracción y en los intervalos de fusión, cuestión importante en algunas de las aplicaciones de la MC. Igual situación presentan el índice de yodo y el índice de saponificación, indicando semejanzas en el peso molecular promedio de ambos materiales. Análisis estadísticos con base en éstas y otras propiedades físicas importantes han corroborado dicha semejanza (Jiménez-Bermúdez y col., 1995; Solís-Fuentes, 1998).

Hasta ahora, la GASM ha sido estudiada principalmente en su composición en un buen número de variedades cultivadas principalmente en Asia y comercializadas en el mundo. Muchos de estos estudios también han analizado algunas de sus propiedades físicas y químicas importantes; sin embargo, todavía son muy escasos los estudios referentes a sus características de dureza, formas polimórficas y comportamiento de fases que resultan útiles para definir las propiedades de utilización de esta fuente de ácidos grasos.

2.3.3 La grasa de almendra de semilla de mamey

Otro ejemplo de grasa de fuente no convencional con gran potencial es la que proviene de la almendra de la semilla del zapote mamey (Solís-Fuentes y col., 2001).

El mamey, uno de los nombres vernáculos dados al fruto de la planta *Pouteria sapota* en México y parte de Centroamérica, es un frutal de clima caliente originario de América, cuyo cultivo se ha difundido a amplias regiones tropicales de Norteamérica, Asia y África. *Pouteria sapota* (zapote mamey, zapote colorado, zapotillo, mamey sapote, mamme sapote, mammee apple o red sapote) produce frutos de forma redonda, ovoide o elíptica de entre 7.5 y 22.8 cm de largo y peso entre 0.227 y 2.3 kg, con una cáscara rugosa y firme de color café oscuro con apariencia de cuero o corteza. La pulpa del fruto es dulce con sabor parecido al de la calabaza y color entre rosa-salmón y rojo oscuro. El hueso es largo y liso en forma de huso, duro y de color café brillante. La almendra es grasosa, amarga y con olor característico a almendras (Morera, 1994).

El zapote mamey se consume en México y Centroamérica principalmente en fresco, aún cuando se usa para la elaboración de mermeladas, helados, salsas y otros productos alimenticios de ámbito regional. La pulpa cocida ha sido utilizada como un sustituto del puré de manzana, en productos elaborados de repostería.

No obstante ser una fruta altamente apreciada por su sabor, principalmente en las regiones productoras (cuestión aún limitada en el mercado mundial), son escasos los reportes en la literatura en relación con su composición química, propiedades físicas y características nutricias. Hay reportes sobre la composición de la pulpa del zapote mamey (Morera, 1994; Morton, 1987) pero son pocas las referencias bibliográficas que den cuenta de esas mismas características en la semilla. Sin embargo, se sabe que en algunas poblaciones de México y Centroamérica las almendras de la semilla se cuecen en agua, tuestan y se mezclan con el cacao para la elaboración de chocolate.

En Costa Rica, por ejemplo, éstas se muelen finamente para la elaboración de confituras especiales. La almendra de esta semilla ha servido también como fuente de esencias para perfumería. El aceite de semilla de mamey se ha usado en la fabricación de jabón, como ungüento para la piel, acondicionador para el cabello y como sedativo para padecimientos de los ojos y oídos. Algunos reportes sobre medicina tradicional le otorgan también, a la semilla, efectos en problemas coronarios, reumáticos y renales (Morera, 1994; Morton, 1987).

El rendimiento de la grasa de la semilla de mamey fluctúa entre 40 y 60%, cuestión que por sí misma le otorga una gran potencialidad como fuente alterna de grasas y aceites de origen vegetal (Solís-Fuentes y col., 2001).

No obstante las evidencias en relación con la potencialidad de estas dos grasas de origen no tradicional, se requiere de generar conocimiento básico adicional con respecto de algunas de sus características, físicas, químicas, nutricias, etc, propiedades polimórficas y comportamiento de fase, de sus lípidos, así como de los factores y condiciones que hagan posible su explotación y aplicación en las diferentes industrias. Ésta es la parte que confiere originalidad a esta investigación.

2.4 Intercambio y sustitución de GyA

El intercambio de las GyA en el ámbito industrial es el resultado de varios factores como la disponibilidad y costo de las materias primas, preferencias del mercado, legislación, etc. En algunos sectores de la producción, el interés por utilizar grasas substitutas y/o equivalentes de otras de amplia utilización doméstica e industrial es creciente (Young, 1985).

Un caso ejemplar es el de la MC en diversos ámbitos industriales. Sin embargo, la sustitución o asociación de la manteca de cacao con otras grasas no es un asunto de fácil solución. Cuando una grasa de diferente composición se añade a la manteca de cacao, la forma cristalina de ésta puede alterarse cambiando su perfil de fusión característico y, con ello, las propiedades funcionales de los productos elaborados. Se dice entonces que hay incompatibilidad y se observa en los productos la aparición de defectos. El grado de compatibilidad se relaciona con la proporción de la grasa que puede añadirse a la manteca de cacao sin que se produzcan efectos no deseados.

Por lo general, las grasas que han sido probadas como sustitutas de la MC son las grasas duras hidrogenadas. Dependiendo de cómo se usen estas grasas pueden denominarse extendedoras, cuando se añaden a la MC en proporciones que van de un 15 a un 50% o sustitutas cuando la mayor parte de la mezcla grasa está constituida por grasas duras. Minifie (1980) y Faulkner (1981) dividen esas grasas en sustitutas, cuando éstas no tienen la configuración acilglicérida simétrica y en equivalentes cuando la tienen. Algunas de las grasas que han sido identificadas como sustitutas o equivalentes de la MC son las grasas láuricas, las derivadas de aceites vegetales hidrogenados o fraccionados con disolventes y algunas grasas naturales de plantas de producciones regionales restringidas.

2.4.1 Grasas láuricas

Las grasas láuricas tienen un contenido sustancial de ácido láurico (más del 50% del total de los AG esterificados). Los demás ácidos son predominantemente de 6, 8, 10, 14, 16 y 18 átomos de carbono. Grasas láuricas son el aceite de semilla de palma, el aceite de coco y el aceite de almendra de babasú (*Orbignya speciosa*) y sus correspondientes, parcial o totalmente, formas hidrogenadas. La porción no-láurica de estas grasas contiene, por lo general, al menos, 30% de ácido palmítico.

Originalmente dirigidas a reemplazar a la MC, con el tiempo, han sido usadas en otras aplicaciones derivadas de sus características particulares. Los fabricantes de grasas láuricas han logrado obtener una variedad de características de fusión y consistencia mediante la hidrogenación parcial, la interesterificación y el fraccionamiento. Las grasas aptas para confitería se preparan mediante hidrogenación de la grasa láurica a un valor de yodo menor de 3.0 y cristalizando la grasa a una temperatura entre 32 y 43°C (Gooding, 1977).

TFCS CON
FALLA DE ORIGEN

Las grasas láuricas no son compatibles con la manteca de cacao. Muy pocas cantidades de esta grasa pueden añadirse sin provocar un efecto eutéctico que ha desestimulado su adición al chocolate; no obstante, se utilizan para la elaboración de rellenos y cremas debido precisamente al reblandecimiento que ocasiona la mezcla eutéctica de la grasa, pero más frecuentemente se ha utilizado para la manufactura de recubrimientos con sabor diferente al del chocolate (Gutcho, 1979; Ivengar y Gross, 1991).

2.4.2 Otras grasas substitutas

Paulicka (1981) ha descrito algunas grasas derivadas de aceites de soya, algodón, cacahuate, palma, colza y maíz, utilizables como extendedoras o substitutas. Las características físicas se logran mediante un incremento en los ácidos grasos *trans*. En estas grasas, la mayor parte del ácido de 18 carbonos es ácido eláidico y no oleico. Tales grasas se elaboran mediante hidrogenación seguida por fraccionamiento con disolventes. Cottier y Rossell (1977) indican que es posible la obtención de grasas para confitería mediante el mezclado de grasas no-palmiticas y grasas palmíticas (por lo menos dos tercios de los residuos de ácidos saturados son de ácido palmitico), de diferentes fuentes vegetales y selectivamente endurecidas. Las grasas de estas características tienen un intervalo de temperatura de fusión entre 30 y 45°C. Otros métodos para la preparación de grasas duras de aceite de palma con características apropiadas para reemplazar a la MC sin tendencia al *bloom* aún sin atemperado han sido descritos por Kanegae y col. (1977), entre otros.

2.4.3 Grasas equivalentes a la manteca de cacao

Las grasas con TG simétricos de procedencia diferente a la manteca de cacao se denominan equivalentes a la manteca de cacao. En sus inicios se elaboraron por fraccionamiento con acetona del aceite de palma (*Elacis guineenses*), para obtener altas proporciones de TG simétricos (palmitico-oleico-palmitico, POP, algunos palmitico-oleico-esteárico, POS y pocos esteárico-oleico-esteárico, SOS).

El sebo de Borneo se deriva de la planta *Shorea stenoptera* que crece en el este de la India y Malasia (con más de 100 diferentes especies que incluyen *S. gysbertsiana*, *S. palembassica* y *S. seminis*) es una de las grasas más cercanas en composición, a la manteca de cacao. Sus propiedades físicas son todavía más cercanas que cualquier otra grasa natural conocida y es usada en la preparación de equivalentes de la manteca de cacao.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La *manteca de Sal* de la planta *Shorea robusta* (conocida como el árbol de la sal) que crece en el norte y centro de la India; la grasa de Illipé planta *Madhuca longifolia* y la grasa de Mowrah cuya fuente es la *Madhuca latifolia* son también muy semejantes en composición y contienen suficientes ácidos grasos no-saturados para parecerse a la manteca de cacao o al sebo de Borneo y se usan para la preparación de grasas equivalentes y extendedores. Su principal limitante son sus pequeñas producciones (Thomas, 1987). La manteca de Shea también conocida como manteca de Karité o de Galam se obtiene a partir de las semillas de un árbol del oeste de África *Butyrospermum parkii*. Es también muy semejante a la manteca de cacao. Refinada ha sido usada como grasa comestible y su fracción de estearina se usa como sustituto de la manteca de cacao. La Tabla 2.3 presenta la composición de algunas de estas importantes grasas (Thomas, 1987).

Tabla 2.3 Composición y propiedades de algunas grasas equivalentes (Thomas, 1987)

Ácido graso y Propiedad	Manteca de Shea	Sebo de Borneo	Manteca de cacao	Manteca de Illipé	Manteca de Mowrah
Mirístico		15	Trazas		
Palmitico	5-6	18-22	23-30	28	16-27
Esteárico	36-42	39-44	32-37	14	20
Araquídico		1	<1		
Oleico	49-50	38-42	30-37	50	41-66
Linoleico	4-5	Trazas	2-4	8-9	9-14
I. de saponificación	178-196	189-200	190-200	186-200	187-195
I. de yodo	55-67	29-38	35-40	50-60	58-63
Punto fusión °C	32-42	34-39	28-36	25-29	23-31
I. de refracción	1.463-1.466	1.456	1.453-1.458	1.459-1.462	1.458-1.461

Hay otras plantas que producen los TG simétricos como los de la MC, Bracco (1973) presenta información de 14 de ellas. En todas las grasas equivalentes, sin embargo, la proporción final de esos TG nunca es igual a la manteca de cacao, ni siquiera lo es entre ellas, lo que proporciona diferentes niveles de calidad y compatibilidad. Los fabricantes proveen grasas de composición triacilglicérida diferentes. A manera de ejemplo, la Tabla 2.4 muestra la comparación de la manteca de cacao con dos de sus grasas equivalentes, en relación con sus composiciones triacilglicéridas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 2.4 Comparación de algunas grasas equivalentes comerciales con la manteca de cacao (Martin, 1987)

Tipo de grasa	POP (%)	POS (%)	SOS (%)
Manteca de cacao	16	40	27
Equivalente 1	34	15	35
Equivalente 2	42	12	22

POP: 1,3-Dipalmitolcina; POS: palmito-oleoestearina;
SOS: 1,3-Diestearolcina

2.5 Las transiciones de fase en las GyA

El tiempo, la temperatura y la composición (por lo general el contenido de agua) tienen un efecto considerable sobre el estado físico y la calidad de los productos y materiales de origen biológico. Tales materiales a menudo son meta-estables y sufren transiciones de estado y de fase durante su procesamiento y almacenamiento. El entendimiento de tales transiciones y de sus relaciones con la movilidad molecular y la estabilidad, son la base de las condiciones adecuadas para el control del procesamiento y el almacenamiento (Roos, 1995).

Los lípidos junto con los carbohidratos y las proteínas son muy importantes en diversos productos sólidos elaborados y, por tanto, en la estabilidad y la posibilidad de transición de fase de los sistemas en que participan; sin embargo, los lípidos como constituyentes de estos sistemas difieren significativamente, tanto de los carbohidratos como de las proteínas. Los lípidos son corrientemente insolubles en agua y pueden tener transiciones de fase que no son afectadas significativamente por su presencia.

Las principales transiciones de los lípidos en alimentos, en algunos fármacos y cosméticos, que afectan su comportamiento durante su procesamiento, almacenamiento y consumo, son transiciones entre los estados sólido y líquido. Tales transiciones incluyen principalmente su fusión o su cristalización en varias formas polimórficas (Roos, 1995; Sato, 1999).

2.5.1 Clasificación de las transiciones de fase

La tipificación de las transiciones de fase es un asunto importante en el establecimiento de los criterios y los factores que gobiernan los efectos de las transiciones en las propiedades de los materiales, que cambian a las temperaturas de transición. La energía libre de Gibbs o el potencial químico se usan para esta clasificación, pudiendo ser: Cambios de fase de primer orden, transiciones de segundo orden y de orden superior. Esta clasificación está basada en

la ocurrencia de discontinuidades de las funciones de estado a la temperatura de la transición.

2.5.2 Transiciones de fase de primer orden

Es sabido que en el estado de equilibrio termodinámico de fases, el potencial químico de cada una de ellas es el mismo y que un cambio en el potencial químico o en la energía libre de Gibbs a la temperatura de la transición cambia el estado de equilibrio hacia de una energía libre más baja. De acuerdo con esto, la primera derivada de la energía libre de Gibbs muestra una discontinuidad a la temperatura de la transición:

$$G = H - TS \quad (2-1)$$

$$\left(\frac{\partial G}{\partial p} \right)_T = V \quad (2-2)$$

$$\left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_p = -S \quad (2-3)$$

donde G es la energía libre de Gibbs, H la entalpía, T la temperatura, S la entropía, V el volumen y p la presión.

La mayoría de las transiciones de fase ocurren a presión constante. Las ecuaciones 2-1 a 2-3 definen las relaciones entre entalpía, entropía, energía libre de Gibbs y temperatura a presión constante. Es obvio que dos fases con la misma energía libre de Gibbs a una misma temperatura, por ejemplo fases sólida y líquida o líquida y gaseosa, tienen diferentes entalpías y, por tanto, diferentes entropías. Más aún, si las dos fases tienen diferentes entalpías, también tienen diferentes volúmenes. De este modo, cambios en entalpía, entropía y volumen son típicas de las transiciones de primer orden. Las técnicas comúnmente usadas en la determinación de temperaturas de transición de fase, tales como calorimetría y dilatometría están basadas en ello. Dado que la energía libre de Gibbs para las dos fases a la temperatura de la transición es la misma para ambas, la primera derivada de la energía libre de Gibbs muestra discontinuidades a la temperatura de transición. Así, H , S y V muestran un escalón de cambio a la temperatura de transición. La Figura 2.1 muestra el cambio en entalpía a la temperatura de transición de las fases S-L, a t_f .

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La capacidad calorífica se obtiene de la segunda derivada de G y tiene un valor infinito durante las transiciones de primer orden. Las transiciones de fase que se dan entre los tres estados físicos básicos son transiciones de primer orden.

2.5.3 Transiciones de segundo orden y orden superior

Las transiciones de fase de segundo orden son aquellas para las cuales la segunda derivada del potencial químico o de la energía libre de Gibbs muestran un cambio discontinuo a la temperatura de transición. En este tipo de transiciones las H , S y V de las dos fases son las mismas a la temperatura de transición (temperatura de transición vítrea, t_g por sus siglas en inglés, en la Figura 2.1). Así, una transición de fase de segundo orden no tiene un calor latente de transición de fase pero sí un cambio en la capacidad calorífica; ésta es diferente en las dos fases y no tiene un valor infinito a la temperatura de la transición.

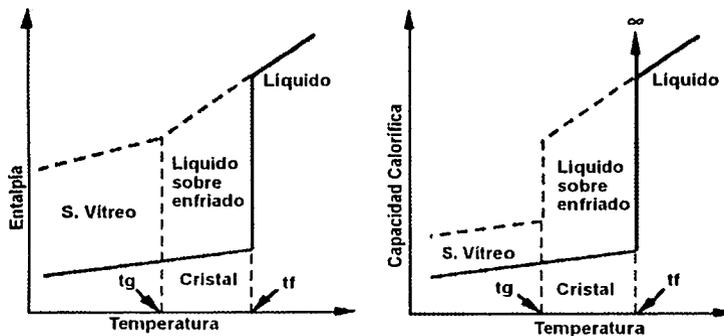


Figura 2.1 Cambios de entalpia y capacidad calorífica en las transiciones de primero y segundo orden (Roos, 1995)

La segunda derivada de la energía libre de Gibbs define las ecuaciones 2-4 a 2-6 y las propiedades como la capacidad calorífica a presión constante, C_p , el coeficiente de expansión térmica, α y la compresibilidad isotérmica κ .

$$\left(\frac{\delta^2 G}{\delta T^2} \right) = \frac{-C_p}{T} \quad (2-4)$$

$$\left(\frac{\delta^2 G}{\delta p \delta T}\right) = V\alpha \quad (2-5)$$

$$\left(\frac{\delta^2 G}{\delta p^2}\right) = -V\kappa \quad (2-6)$$

Estas ecuaciones sugieren que, a presión constante, una transición de segundo orden resulta en una discontinuidad en la capacidad calorífica, en el coeficiente de expansión térmica o en la compresibilidad isotérmica. Así la determinación experimental de tales propiedades puede ser usada en la identificación de temperaturas de transición de segundo orden.

Las transiciones de tercero o grado superior son aquéllas para las cuales la tercera o mayores derivadas del potencial químico presentan también discontinuidad. A una temperatura de transición de tercer orden, ambas fases tienen la misma capacidad de calor, pero el cambio en la capacidad calorífica como una función de la temperatura es diferente. Órdenes de transiciones de tercero o mayores no han sido reportados en materiales biológicos (Roos, 1995).

2.6 Fusión / Cristalización de grasas y aceites

2.6.1 Fusión

La conducta de fusión de las GyA está determinada mayormente por su composición (tipo, longitud de la cadena, insaturaciones, configuración isomérica de los AG) y por el polimorfismo de sus TG. Así, las grasas que son líquidas a temperatura ambiente son más insaturadas que las que se mantienen en estado sólido y, a medida que la longitud de la cadena es más grande, su temperatura de fusión también lo es. Los ácidos grasos saturados de cadena corta tienen más bajos puntos de fusión que los saturados de cadena más larga, aún de aquellos de cadena larga e insaturados. Es por ello que el aceite de coco es líquido a pesar de que casi el 90% de sus ácidos grasos son saturados, pero tiene una buena proporción de ácidos grasos de cadena corta. Lo que no sucede con la manteca de cerdo que conteniendo tan sólo 37% de saturados, la mayoría de ellos de cadena larga, es sólida a temperaturas ambientales de alrededor de 25°C. Para una cierta longitud de cadena, los ácidos grasos saturados tendrán mayores puntos de fusión que sus correspondientes

insaturados; sin embargo, los ácidos grasos insaturados pueden presentar configuraciones isoméricas que modifican tal comportamiento. El ácido oleico en configuración *cis* tiene un punto de fusión inferior a su isómero *trans* el ácido eláidico. Este último es sólido a temperaturas aún más altas que las ambientales y el primero es líquido a temperaturas más bajas de 25°C. El ácido eláidico es más lineal y permite con ello un mejor empaquetamiento cristalino y requiere mayores temperaturas para fundir. La Tabla 2.5 presenta los puntos de fusión de algunos de los AG más comunes.

Tabla 2.5 Temperatura de fusión de los AG más comunes (Thomas, 1987)

Ácido graso	Átomos de carbono	Insaturaciones	T°C
Butírico	4	0	-8.0
Caproico	6	0	-3.4
Caprílico	8	0	16.7
Cáprico	10	0	31.6
Láurico	12	0	44.2
Mirístico	14	0	54.4
Miristoleico	14	1 <i>cis</i>	18.5
Palmitico	16	0	62.9
Palmitoleico	16	1 <i>cis</i>	45.0
Margarico	17	0	61.3
Margaroleico	17	1 <i>cis</i>	57.5
Esteárico	18	0	69.6
Oleico	18	1 <i>cis</i>	16.0
	18	1 posicional	33.0
Eláidico	18	1 <i>trans</i>	44.0
Linoleico	18	2 <i>cis cis</i>	-7.0
Linolénico	18	3 <i>cis cis cis</i>	-13.0
Araquídico	20	0	75.3
Behénico	22	0	79.9
Erúxico	22	1	33.5
Lignocérico	24	0	84.2

Las GyA naturales son mezclas de diferentes triacilglicéridos (TG), así sus propiedades físicas están relacionadas con las propiedades de los TG que las constituyen. El tipo de TG, como ya se dijo, está determinado por la composición y la distribución de los AG en la molécula. La distribución de los ácidos grasos en la molécula individual de un triacilglicérido y la cantidad de cada uno de estos en la grasa dependerá de las proporciones de cada AG en la composición de la grasa. Un TG simple puede tener una temperatura de fusión puntual, mientras una mezcla de TG, como los son las grasas naturales, tiene una temperatura de fusión establecida dentro de un intervalo que puede ser amplio. Por lo general una mezcla

de varios TG tiene un punto de fusión más bajo que el promedio de los puntos de fusión de sus componentes y el intervalo de fusión será más largo que el de cualesquiera de sus componentes.

Por otro lado, la conducta de fusión se hace más compleja al considerar que las grasas presentan polimorfismo, esto es, los lípidos sólidos pueden existir en varias formas cristalinas, dependiendo de la manera en que sus moléculas se orientan en el estado sólido, proporcionando con ello una variabilidad adicional a su conducta de fusión.

La estructura cristalina o polimórfica puede variar de acuerdo con la composición, condiciones de procesamiento y almacenamiento de las grasas y es una de las propiedades físicas de mayor importancia e interés para muchas de sus aplicaciones.

Las grasas naturales tienen intervalos de fusión que pueden ir desde -40 a 72°C . Las grasas vegetales comprenden por lo menos un número de 10 AG diferentes y puede ser mucho mayor en grasas de otros orígenes. Si se toma como n el número de diferentes ácidos grasos presentes, el número posible de diferentes TG viene a ser del orden de n^3 , cantidad significativamente grande. En algunas grasas esto puede representar entre 5 y 500 TG diferentes, aunque en ciertas grasas animales naturales, como la de la leche, los TG más abundantes están en el orden de uno o dos moles por ciento de la mezcla.

El intervalo de fusión no es solamente una composición de los puntos de fusión de sus componentes TG. Esto es porque los componentes con mayores puntos de fusión se disuelven en la grasa líquida y el sistema funciona como una solución.

2.6.2 *Cristalización*

Según Walstra (1987), la cristalización de las grasas es un aspecto importante que puede afectar varias de las propiedades del sistema biológico del que son constituyentes. En los alimentos afecta la consistencia, la homogeneidad, la estabilidad y las propiedades del sistema. En una emulsión agua en aceite, como en una margarina, los cristales de grasa adheridos a las gotas de agua tienden a estabilizarla contra la coalescencia; las gotas pueden ser inmovilizadas en una red de cristales de grasa floculados. Los cristales de grasa en una emulsión de aceite en agua tienden a promover la coalescencia. En general, este fenómeno y

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

sus consecuencias está relacionado con la tecnología de extracción, purificación y modificación de la grasa y, con ello, con la manufactura de los productos.

A diferencia de los sistemas simples, las grasas, en un amplio intervalo de composiciones son propensas a formar cristales compuestos; más, a temperaturas más bajas. Una explicación de esta conducta es que para cualquiera de los numerosos constituyentes la supersaturación puede ser muy baja, pero no para un grupo de componentes semejantes que cristalizan en polimorfos inestables más persistentes. Durante la cristalización, algunos componentes forman cristales compuestos y, otros, diferentes formas polimórficas. Si la formación de cristales compuestos es extensa, el comportamiento térmico se caracteriza por, entre otras cosas, un acortamiento del intervalo de fusión de la grasa o el incremento del número de picos máximos en el termograma de fusión.

En un cristal compuesto o mezclado con más de dos componentes diferentes éstos pueden estar en todas proporciones, a manera de soluciones sólidas. Estos cristales tienen más posibilidad si las diferentes especies moleculares son más parecidas en forma, tamaño y propiedades. Así, las mezclas de TG fácilmente forman cristales compuestos en la forma molecular menos densa ya que hay algo de libertad para fijar, en la red cristalina, diferentes moléculas. Por las mismas razones, es más difícil que se formen los cristales mezclados en empaquetamiento más estables.

Los cristales compuestos tienden lentamente a re-arreglarse en cristales puros y a sufrir transformaciones polimórficas. Los cristales compuestos tienen una entalpía de fusión y una densidad más bajas que las de los cristales puros de la misma modificación.

2.6.3 Nucleación y velocidad de cristalización

La nucleación durante la cristalización de una grasa ocurre en la forma cristalina de más baja densidad y punto de fusión, a menudo como cristales compuestos. A temperaturas arriba del punto final de fusión de tal modificación puede ocurrir nucleación en otra forma polimórfica aunque a una velocidad más lenta. La nucleación homogénea se da a una velocidad apreciable sólo a temperaturas entre 20 y 25°C abajo del punto final de fusión. Pero la nucleación usualmente es heterogénea. Tan pronto como algunos cristales se forman actúan como impurezas catalíticas para cristales de grasa de otra composición (Walstra, 1987).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Por lo general, las grasas naturales contienen impurezas que catalizan la nucleación heterogénea. Los monoglicéridos actúan como tales y es por ello que la lipólisis incrementa la nucleación (Walstra, 1987; Ferrari y col., 1996).

Cinéticamente, la cristalización de las grasas es un proceso lento, entre otras razones, por la morfología de la molécula de TG, que posee tres cadenas largas y flexibles y que el fijarlas dentro de una red cristalina requiere de considerable tiempo. Lo anterior se ha demostrado cuando se miden las velocidades de crecimiento del cristal y de disolución bajo condiciones comparables (Walstra, 1987). En un sistema multicomponente donde la supersaturación de cada constituyente es necesariamente baja se presenta una especie de inhibición competitiva entre moléculas semejantes y diferentes para fijarse en un mismo cristal. Si no se formaran cristales compuestos, ello conduciría a una velocidad de cristalización todavía más lenta. Esta inhibición se da también por la presencia de otros compuestos, como diglicéridos y monoglicéridos. Tan pronto como se forman los cristales, la consistencia de una grasa viene a ser tal que obstaculiza la eficiente remoción del calor, incluyendo el calor de cristalización, mismo que generalmente es del orden de 100 y 200 kJ/kg de cristales (Walstra, 1987).

Naturalmente, la velocidad de cristalización isotérmica depende de la temperatura y, en un sistema multicomponente, según Walstra (1987), puede duplicarse cada vez que se bajen 5°C la temperatura, pero puede requerirse de un periodo más largo para que la cristalización sea más o menos completa. Los factores responsables del efecto de la temperatura sobre la velocidad de formación de la masa de cristales por unidad de tiempo son: el aumento en el área de superficie debido a la formación de un mayor número de cristales y el incremento en la sobresaturación de cada TG (en proporción al decremento de la temperatura). Sin embargo, a una temperatura demasiado baja, la existencia de una energía libre de activación para la cristalización (misma que es presumiblemente en su mayor parte para salvar la dificultad de fijar las moléculas de TG) puede hacer más lento el proceso.

En cierto sentido, la cristalización nunca es completa en un sistema multicomponente de grasas, porque difícilmente se alcanza el equilibrio termodinámico y continúa el intercalamiento de moléculas entre varios cristales. De hecho, esto ocurre desde el inicio de la cristalización, lo que explica el por qué las curvas del porcentaje cristalizado contra el tiempo presentan con frecuencia puntos de inflexión.

Los principales cambios durante la re-cristalización se deben a la presencia de los cristales compuestos que cambian de composición, separándose en agregados más puros. Esto ocurre

cuando la temperatura varía y los polimorfos inestables se transforman en formas más estables. Esto explica el que la mayoría de las transformaciones polimórficas procedan vía la fusión y el que los cristales grandes crezcan a expensas de los más pequeños, de acuerdo con el proceso de maduración isotérmica de Ostwald (Mersmann, 1995).

La velocidad de re-cristalización depende en mucho de la temperatura. Si la temperatura es tan baja que una considerable fracción (>0.7) de la grasa es cristalina, los cambios son lentos. Se puede decir que a una mayor temperatura toma poco tiempo llegar a una situación cercana al equilibrio, aún cuando la velocidad inicial de cristalización sea baja. Una elevación temporal de la temperatura puede acelerar la re-cristalización. La cantidad, composición y tamaño de cristales de una grasa multicomponente están altamente influenciados por su historia térmica.

2.6.4 Modelos cinéticos de cristalización

Aunque no hay límite estricto entre la cristalización desde una solución y desde un fundido, el tratamiento matemático de la cristalización ha sido abordado atendiendo principalmente a dos ópticas que obedecen a la naturaleza termodinámicas que impulsa a que un material cristalice: la sobresaturación y el sobreenfriamiento (Mersmann, 1995).

Por efecto de la sobresaturación, que es una expresión de la diferencia en el potencial químico de las fases sólida y líquida en equilibrio, la cristalización es provocada, principalmente en sistemas en solución, en virtud de que una mayor concentración ocasiona una mayor interacción de las moléculas que hace que éstas colisionen con más frecuencia y se acerquen lo suficientemente para enlazarse formando núcleos cristalinos energéticamente más favorables que los preexistentes en solución. Desde luego el proceso es sumamente complejo y tiene que ver con la composición del sistema, la variedad de estructuras, tamaños y movilidades moleculares que intervienen, las características estructurales superficiales de los cristales formados, etc.

Por efecto del sobreenfriamiento la cristalización se da preferentemente desde un material fundido. Termodinámicamente un líquido sobre-enfriado está en un estado lábil, consecuentemente, los componentes existentes en fase líquida con mayor energía libre se re-arreglan molecularmente para situarse en circunstancias energéticas más favorables en los niveles más bajos de energía libre. También aquí el fenómeno es de gran complejidad que

depende de la composición del sistema, de las propiedades de cada uno de ellos, las condiciones y restricciones de su micro ambiente, etc, ocurriendo simultánea o casi simultáneamente una gran variedad de eventos, proporcionando al sistema una continua evolución.

En contraste a la cristalización desde una solución, la composición del material fundido adyacente a la superficie de los cristales en crecimiento no cambia demasiado y por ellos es que a menudo, el progreso de la cristalización no está controlado por la difusión, pero si por la remoción del calor de cristalización.

Para la cristalización desde el material fundido, la sobresaturación, la nucleación y el crecimiento de los cristales son factores importantes.

La sobresaturación de TG en un aceite se logra mediante enfriamiento. Para un solo TG disuelto en una mezcla de TG, su solubilidad x_s puede determinarse por la ecuación Hildebrand (ecuación 2-7) misma que asume un comportamiento ideal y condiciones de equilibrio termodinámico, que pueden darse para un solo TG, pero que no es válido para grasas multi-componentes que presentan solidificaciones en cristales compuestos y comportamiento meta-estable.

$$\ln x_s = \frac{\Delta H_m}{R} \left(\frac{1}{T_m} - \frac{1}{T} \right) \quad (2-7)$$

En la ecuación 2-7 ΔH_m es la entalpía molar de fusión, R es la constante de los gases, T es la temperatura absoluta y T_m es la temperatura de fusión del soluto puro.

La clásica teoría de la nucleación establece que la velocidad J a la cual un núcleo se forma desde una solución o desde el material fundido conteniendo N moléculas que pueden cristalizar está dada por la ecuación (2-8).

$$J = N \frac{kT}{h} \exp\left(-\frac{\alpha \Delta S^+}{R}\right) \exp\left(-\frac{\Delta G^+}{kT}\right) \quad (2-8)$$

en la que N , T , R tienen el significado normal, k es la constante de Boltzman, α es la fracción de moléculas que han de ser incorporadas al núcleo, ΔS^+ es el decremento de entropía

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

debido a las moléculas incorporadas al cristal y ΔG^+ es la energía libre de activación para la formación de núcleos, dada por

$$\Delta G^+ = \frac{f\Phi\gamma^3V^2}{(\Delta\mu)^2} \quad (2-9)$$

$$\Delta\mu = \frac{\Delta H_m(T_m - T)}{T_m} \quad (2-10)$$

en las que f es un factor numérico que depende de la geometría del núcleo cristalino; γ es la energía libre interfacial entre el cristal y el líquido; V es el volumen molar del material cristalizado; Φ es el volumen relativo de un núcleo, igual a la unidad para la nucleación homogénea y menor que uno cuando la nucleación es heterogénea.

Aunque la ecuación (2-8) puede ser cuestionable cuando se aplica a sistemas reales de relativa complejidad, ha sido utilizada para la interpretación de la nucleación cristalina de grasas (Walstra, 2001).

Los modelos matemáticos usados para modelar reacciones cinéticas generalmente son de la forma $dC/dt = k(T)f(C)$ donde la velocidad es proporcional a la constante específica k y es también una función del nivel de conversión [$f(C)$]. La constante de velocidad es a su vez una función de la temperatura T , dependencia que es descrita comúnmente por la ecuación de Arrhenius (ecuación 2-11).

$$k = A_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \quad (2-11)$$

En la que A_0 es el factor pre-exponencial y E_a es la energía de activación.

Para muchas de las reacciones simples o de una sola etapa el modelo toma la forma $f(C) = (1-C)^n$ donde n es el orden de reacción.

Para procesos más complejos como las reacciones químicas autocatalizadas, cristalización de polímeros o de materiales de origen biológico, los modelos de orden n no son del todo satisfactorios dado que, como se ha visto, la cristalización es un proceso de por lo menos

dos etapas donde el crecimiento de los cristales toma lugar después de la aparición de los sitios de nucleación; los cuales son dependientes del tiempo y la temperatura. Modelos más apropiados para procesos reaccionantes más complejos y de crecimiento de cristales son el modelo auto-catalizado y la ecuación de Avrami.

Modelo auto-catalizado

Este modelo conocido también como de Sestak-Berggren se ha usado en el estudio de los materiales plásticos y sintéticos, como los sistemas epóxicos utilizados en la industria (Keenan y Ranschler, 1987; Prime, 1981). Está definido por la ecuación 2-12.

$$\frac{dC}{dt} = kC^m(1-C)^n \quad (2-12)$$

en la que C es la fracción de grasa cristalizada, dC/dt es la velocidad de cristalización, k es la constante específica de velocidad de cristalización, y m y n son números que representan el orden de reacción, siendo m un orden de reacción independiente. Los sistemas auto-catalizados se caracterizan por la formación de algunas especies intermedias, mismas que aceleran la reacción. La calorimetría diferencial de barrido (CB) proporciona algunos indicadores simples que permiten acercarse a determinar si un cierto comportamiento térmico, durante una reacción o durante la cristalización, corresponde a un modelo de orden n o a un modelo auto-catalizado. Uno de ellos consiste en analizar la ubicación del máximo exotérmico en la curva isotérmica. Si la cristalización se ajusta a un modelo de orden n , la curva de cristalización isotérmica muestra el máximo en las cercanías del tiempo cero (inicio del proceso isotérmico) y si se aproxima a un modelo auto-catalizado ese máximo de evolución del calor se da a los 30 o 40 % del total de la reacción, en este caso, de cristalización.

Sestak (1984), ha sugerido que la ecuación del modelo autocatalizado puede ser equivalente al modelo de Avrami, particularmente en el análisis de algunos polímeros plásticos, cuando menos en una primera aproximación. La relación entre los parámetros m , n del modelo Sestak-Berggren y el parámetro r de la ecuación de Avrami, definido más adelante, se da de acuerdo con los trabajos de Sestak, (1984) entre otros, mediante la ecuación 2-13.

$$r = 1/[1 + \ln(n) - \ln(n + m)] \quad (2-13)$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

lo que, para algunos materiales, podría permitir, la interpretación de la cristalización desde el modelo auto-catalizado mediante la estimación del índice r de Avrami. Foreman y Blaine (1998), presentan una comparación de los valores de r estimados a través de n y m del modelo auto-catalizado, con los reportados en la literatura para varios polímeros plásticos, evidenciándose un buen acuerdo entre ellos.

No obstante que la cristalización se ajusta un modelo autocatalizado en ciertos materiales sintéticos como algunos plásticos y el que en las grasas vegetales estén presentes en cantidades menores constiuyentes que, como los fosfolípidos, se sabe pueden actuar como plantilla para la nucleación catalítica durante la cristalización de algunas grasas (Walstra, 1987; Ferrari y col., 1996; Smith , 2000; Sato y Koyano, 2001), no hay reportes sobre la utilización del modelo Sestak-Berggren en el estudio del comportamiento estos materiales biológicos.

El modelo de Avrami

La ecuación de Avrami esta basada en la nucleación al azar tridimensional seguida por un crecimiento uniforme lineal de los núcleos. La ecuación 2-14 expresa forma original de la ecuación de Avrami.

$$1 - F = \exp(-Zt^r) \quad (2-14)$$

en la que F es la fracción cristalizada y, Z y r son parámetros importantes que permiten el diagnóstico y explicación de un buen número de fenómenos relacionados con el proceso de cristalización en algunos materiales. Según Avrami (Avrami, 1940) el valor de r depende de la forma del núcleo y la dimensionalidad de su crecimiento, así también como de la velocidad de su formación. Cuando los sitios de nucleación se forman instantáneamente, r tiene un valor de 1 para cristales en forma de aguja, 2 para placas y 3 para esferas (Foreman y Blaine, 1998). Pero más que de la forma de los núcleos, el parámetro, según algunos autores, es un valor que depende de la relación entre la nucleación y los factores de crecimiento de los cristales formados (Smith, 2001). Según Kawamura (1979) los valores que puede asumir el parámetro r , de acuerdo a ambos aspectos -para cristales en forma de esferulita- son de 1 cuando el crecimiento es unidimensional, 2 cuando éste es bidimensional a manera de placa y 3 cuando hay un crecimiento tridimensional de los núcleos cristalinos; esto cuando la nucleación está predeterminada. Si la nucleación es esporádica en el tiempo, esos modos de crecimiento del cristal están tipificado por valores de r de 2, 3 y 4; este último valor sería

indicativo de crecimiento poliédrico (en todas direcciones) de los núcleos. En polímeros plásticos valores de r entre 3 y 4 son comunes (Foreman y Blaine, 1998). Valores mayores han sido reportados durante la cristalización de TG trisaturados en aceites vegetales y sistemas grasos más complejos (Toro-Vazquez y col., 2000).

Dadas las limitaciones que ha presentado el uso de la ecuación original de Avrami en algunos materiales a los que se ha aplicado, se han propuesto algunas modificaciones como la ecuación de Avrami-Eurofeev (Ng y Oh, 1994) y las modificaciones hechas por Khanna y Taylor, en las que se pretende resolver el inconveniente de que la constante de velocidad de cristalización, Z esté fuertemente influida por el índice de cristalización r . Así la modificación propuesta por Khanna y Taylor (Khanna y Taylor, 1988) es la ecuación 2-15.

$$1 - F = \exp(-Zt)^r \quad (2-15)$$

La ecuación de Avrami, primero y algunas de sus modificaciones después, son utilizadas en los estudios de cristalización en áreas de la metalurgia y de polímeros y actualmente en otras áreas más (Avrami, 1940; Ng, 1990; Ng y Oh, 1994). En la cristalización de grasas y aceites, su aplicación se ha situado mayormente en el análisis cinético de la cristalización de TG individuales, en sistemas binarios o ternarios (en sistemas *modelo* desde un disolvente o un aceite). Su aplicación en sistemas más complejos como lo son las grasas naturales o sus mezclas, todavía es limitado. Walstra y col. (2001) enumeran algunos de los fenómenos que se presentan y lo intrincado que puede resultar el aplicar la teoría básica de la velocidad de cristalización en grasas y mezclas de grasas. Algunos autores han encontrado, adicionalmente, que en el estudio de algunos materiales lipídicos el valor de r se ve sensiblemente influenciado por el intervalo de F considerado. Kawamura (1979) en un estudio sobre la cristalización de aceite de palma, considera que los intervalos de F entre $0.1 \geq F \geq 0.9$ que representan el inicio y el final de la cristalización están fuertemente influenciados por factores externos y, por tanto, no deben considerarse para el cálculo del índice de Avrami. Por el contrario, según Walstra (2001) en éstos materiales, la ecuación original de Avrami sólo da razonables ajustes para valores de $F \ll 0.01$.

2.6.5 Tamaño y ordenamiento de cristales

Cuando una grasa se ha enfriado rápidamente, la mayor parte de los cristales son pequeños, particularmente, la propagación de la nucleación secundaria es la responsable del alto

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

número y del pequeño tamaño de los cristales. Muchos de éstos son demasiado pequeños para ser visibles con un microscopio ordinario. Hay, sin embargo, diferencias en cuanto forma y tamaño de los cristales entre las grasas, los factores que los determinan están poco entendidos, aun cuando ha sido estudiado el efecto de algunos agentes tensoactivos sobre la velocidad de crecimiento de las caras superficiales de ciertos cristales (Tempel, 1968).

Una vez que los cristales exceden un cierto tamaño, floculan debido al efecto neto entre ellos de las fuerzas de atracción de Van der Waals. A menos que la masa de cristales sea muy pequeña, los cristales floculados forman una red que se extiende a través del volumen entero, dando a la mezcla las propiedades de un sólido. Una cristalización de un 10% es más que suficiente para alcanzar esta condición y la grasa adquiere un módulo elástico que predomina sobre el módulo viscoso sólo a pequeñas deformaciones. A deformaciones mayores de 1% los enlaces de la red comienzan a romperse y la grasa a fluir. Este esfuerzo crítico es el valor de ablandamiento o esfuerzo de ablandamiento.

2.7 El polimorfismo de las grasas naturales y comerciales

Como ya se ha mencionado, los compuestos de cadena larga tales como los ácidos grasos y sus ésteres pueden presentarse en diferentes formas cristalinas, fenómeno conocido como polimorfismo. Este fenómeno de cristalización involucra diferentes fases sólidas que incluyen diferentes empaquetamientos moleculares. Estas formas polimórficas difieren en un buen número de propiedades, de entre las que destacan los puntos de fusión y la estabilidad. La morfología de las variadas formas cristalinas determina las propiedades reológicas de la grasa. Cada forma cristalina tiene sus propias propiedades físicas en cuanto a plasticidad, dureza, suavidad, textura, solubilidad, etc.

Varios factores determinan la forma polimórfica que asume un compuesto dado durante su cristalización. Éstos incluyen su pureza, la temperatura, la velocidad de enfriamiento, la presencia de núcleos cristalinos y el tipo de disolvente, cuando la cristalización es desde una disolución (Sato, 1988, 1999; Smith, 2000).

Dependiendo de sus estabilidades particulares, la transformación de una forma a otra puede efectuarse en el estado sólido sin pasar por la fase líquida. Se dice que dos formas cristalinas son monotrópicas si una es estable y la otra metaestable durante su existencia e indiferente al cambio de temperatura. La transformación puede suceder sólo en la dirección a la forma más

estable. Las formas cristalinas son enantiotrópicas cuando cada una tiene un intervalo definido de estabilidad, cualquier modificación puede ser la estable y la transformación en el estado sólido puede ir en cualquier dirección dependiendo de la temperatura. Las grasas naturales son invariablemente monotrópicas aún cuando algunos derivados de ácidos grasos presentan enantiotropismo.

2.7.1 Estructura cristalina de los lípidos simples

Todos los lípidos pueden formar estructuras cristalinas. Dependiendo de qué grupo funcional se trate, las moléculas pueden ordenarse de diferente forma. Para un arreglo molecular consistente de un grupo polar y una o dos cadenas de hidrocarburos el ordenamiento puede ser en bicapas, en cadenas verticales, inclinadas, con penetración estructural o formando dos regiones no-polares. En todos los casos, las moléculas están extendidas en la configuración isomérica *trans* con cadenas planares en zigzag, juntas y empacadas con los ejes paralelos. Cuando la temperatura se eleva hasta que las cadenas empacadas funden, se produce una fase líquida cristalina (Hernqvist, 1988).

Independientemente del grupo funcional que esté presente, todas las cadenas de hidrocarburos en compuestos cristalinos de cadena larga se empaquetan en unos cuantos modos, a excepción de una forma cristalina de jabones, que tienen ejes de cadena cruzados. El mejor método para describir el empaquetamiento de cadena es el uso del concepto de subcelda que corresponde a la unidad de repetición más pequeña dentro del empaque en la capa. El modo en el que una red cristalina se desglosa en celdillas unidad no es único. En cristalografía se elige la subcelda de acuerdo al menor volumen consistente con el máximo de simetría; el requerimiento de máxima simetría implica el máximo número de aristas perpendiculares en la celdilla unidad. En dos dimensiones una subcelda es un paralelogramo con lados de longitud a y b y un ángulo γ entre estos lados. En tres dimensiones una celdilla unidad es un paralelepípedo con aristas de longitud a , b , c y ángulos α , β y γ , donde α es el ángulo entre las aristas b y c , etc. Bravais demostró que hay 14 tipos diferentes de redes en tres dimensiones (Levine, 1978). Aquellas subceldas que tienen puntos de la red sólo en los vértices se llaman celdillas unitarias primitivas (o simples). De acuerdo con la clasificación de Bravais, siete tipos tienen celdillas unitarias primitivas (Levine, 1978).

Además de esta clasificación basada en las celdillas primitivas, también pueden tipificarse como celdillas centradas en el cuerpo (tiene un punto de la red dentro de la celdilla además

de cada vértice de la misma); red centrada en las caras (con un punto de la red en cada una de las seis caras) y centrada en los extremos. Mediante una repetición lateral de la subcelda se obtiene la estructura entera de la región de la cadena. Las subceldas se describen mediante una letra indicando la simetría (T para triclinico) seguida por una indicación para los planos en zigzag de las diferentes cadenas, paralelos (//) o perpendiculares (\perp).

Subcelda triclinica T//

En su forma estable los TG se empaquetan en subceldas triclinicas. Las dimensiones de la subcelda triclinica pueden variar considerablemente. Por ejemplo, para la trilaurina $a_s = 4.41$ Å; $b_s = 5.40$ Å; $c_s = 2.45$ Å ; $\alpha_s = 84.8^\circ$; $\beta_s = 108.5^\circ$ y $\gamma_s = 120.5^\circ$. La celdilla triclinica de un triacilglicérido contiene cuatro cadenas de hidrocarburos que están vistas a lo largo de ejes de cadena. La celda contiene dos grupos CH_2 . Todos los planos de las cadenas son paralelos. Para los TG éste es el empaquetamiento más compacto de los tres posibles; consecuentemente, esta forma presenta el más alto punto de fusión (Hernqvist, 1988).

Subcelda monoclinica M//

En este tipo de empaquetamiento todos los planos de las cadenas son también paralelos. Esta subcelda ha sido observada en ácidos grasos hidroxilados; en este tipo de compuestos las dimensiones son $a_s = 4.30$ Å; $b_s = 4.74$ Å; $c_s = 2.54$ Å y $\gamma_s = 110.9$ Å.

Ortorrómbica \perp

Existen dos empaquetamientos de cadena ortorrómbicos. Consisten de cadenas de hidrocarburos con dos orientaciones en sus planos. El $\text{O}\perp$ es común en polietileno, parafinas y ácidos grasos. La subcelda contiene 4 grupos CH_2 . Este ordenamiento junto con el triclinico es de los más compactos y los únicos que representan formas estables para los lípidos simples. La otra forma alternativa, la $\text{O}'\perp$, se ha encontrado en la cristalización de ácidos grasos ramificados y la principal diferencia se debe a una inversión de los ejes a y b .

Hexagonal

Cerca del punto de fusión de las formas cristalinas con empaquetamiento ortorrómbico, las dimensiones de la celdilla se aproximan a una subcelda ortohexagonal. De este modo, el eje a se mantiene casi constante o un poco más pequeño en longitud, mientras el eje b se

incrementa. Muchos lípidos y parafinas, n-alcoholes, ésteres simples y glicéridos solidifican desde el fundido en una forma cristalina hexagonal y cuando la temperatura se reduce, se presenta una transición hacia la forma ortorrómbica.

Otras formas cristalinas que han sido halladas son la celdilla ortorrómbica con planos de cadena paralelos $O//$ y $O'//$; éstas se presentan en algunos ácidos grasos ramificados y en una forma cristalina de bajo punto de fusión del ácido oleico. También suelen presentarse formas híbridas en algunos compuestos (en algunos diglicéridos) donde se encuentran simultáneamente estructuras de $O\perp$, $O'\perp$, $T//$ y $M//$ (Hernqvist, 1988).

Cada una de las formas cristalinas descritas anteriormente está caracterizada por un patrón único de líneas de difracción de rayos X en la región de ángulo ancho (también referido como espaciamento corto) entre 3.5 y 5.5 Å. Tales líneas corresponden a los diferentes planos cristalográficos de la subcelda.

El arreglo de cadena hexagonal exhibe una sola línea de difracción dominante en la región de espaciamento corto, en el intervalo de 4.12 a 4.20 Å. Las celdillas $O\perp$ y $O'\perp$ se caracterizan por dos líneas fuertes a 3.8 y 4.2 Å.

La celdilla triclinica da una serie de líneas relativamente débiles con una dominante a aproximadamente a 4.6 Å y varias líneas débiles alrededor de 3.8 y 5.4 Å.

2.7.2 Formas polimórficas en las grasas

Ha habido una amplia controversia con relación al polimorfismo de las grasas (D'Souza y col, 1990); sin embargo, es generalmente aceptado que los TG pueden cristalizar en por lo menos cuatro principales modificaciones.

La más estable de las modificaciones polimórficas, en TG puros, es la forma β , misma que ha sido ampliamente estudiada y cuya estructura para el tridecanoglicerol se muestra en la Figura 2.2 (Birker y Padley, 1987). Las otras formas ampliamente aceptadas son la α , β_1' y β_2' (estas últimas han sido consideradas como una sola β' por la rapidez de transición entre ellas).

La caracterización de los cristales de las diferentes formas polimórficas de los TG son: Los cristales α son los de más bajo punto de fusión, empaquetamiento frágil, en forma de rosetas transparentes de aproximadamente 5 micrómetros. Rápidamente se transforman a formas de punto de fusión más alto. Su empaquetamiento es hexagonal. Las formas β' están en forma de delgadas y delicadas agujas que rara vez crecen más de 1 micrómetro de longitud; pueden empacarse juntas en estructuras rígidas de redes tridimensionales capaces de inmovilizar grandes cantidades de aceite líquido, provocando plasticidad en productos sólidos. Su empaquetamiento es ortorrómbico. La forma β de punto de fusión más alto; forma placas estables largas; su tamaño promedio es de 25 a 50 micrómetros que pueden ser hasta de 100 en periodos largos de reposo. Los agregados cristalinos pueden ser de más de 1 mm de diámetro. Adoptan una forma triclinica. La principal diferencia entre las formas cristalinas es el empaquetamiento de cadena y son caracterizadas por sus patrones de difracción de rayos X (los espaciamientos cortos que representan la distancia entre las cadenas) y por espectroscopía infrarroja.

Es evidente que la densidad, entalpía de fusión y punto de fusión de los sólidos en estas formas cristalinas se incrementa en el orden α , β' y β . En la forma α , las cadenas tienen considerable libertad rotacional. Presumiblemente un TG líquido a temperaturas no muy abajo del punto de fusión de α exhibe un apreciable ordenamiento, en un intervalo corto con empaquetamientos de cadena entre tetragonal y hexagonal; consecuentemente, la transición desde el líquido a la forma α no es desde una forma completamente desordenada a un estado totalmente ordenado (Hernqvist, 1988).

Es posible encontrar varios empaquetamientos para cada una de las formas β' y β . Estos pueden ser dobles, triples y con diferentes inclinaciones de las cadenas. En esos términos puede existir un gran número de redes cristalinas, acorde con las longitudes de cadena e insaturaciones de los respectivos componentes ácidos grasos, aún cuando para muchos propósitos la tipificación dentro de α , β' y β suele ser suficiente.

El orden de transición en un triacilglicérido simple es: Líquido \leftrightarrow $\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow$ mezclado $\rightarrow \beta$; en mezclas de TG la rapidez de transición depende de la complejidad del sistema.

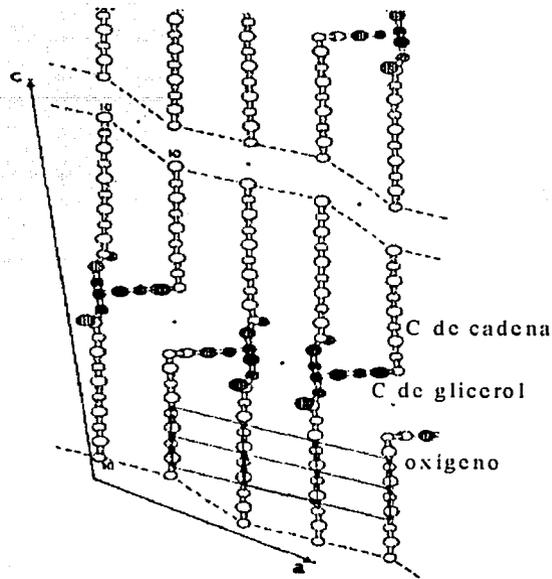


Figura 2.2 Estructura cristalina del β -tridecanoglicerol (Birker y Padley, 1987)

Los TG con ácidos grasos saturados tales como la 2-estearodipalmitina muestran una transición semejante a la que presentan los triglicéridos monoácidos de cadenas impar, esto es: $\alpha \rightarrow \beta_2' \rightarrow \beta_1'$. Los TG de arreglo molecular más complejo, que incluyen diferentes ácidos grasos y algunos de estos con insaturaciones, muestran una conducta más compleja. Hay ciertas restricciones en la longitud de la cadena para que diferentes TG asuman un empaquetamiento molecular β .

Tales restricciones están relacionadas con la necesidad de acumulación compacta de las bicapas en los planos de los grupos metilo terminales. La unidad de capa de la forma β consiste de tres cadenas de hidrocarburos. Para el caso de los TG que tienen un AG insaturado en la posición 2 como los que predominan en la MC, las cadenas saturadas e insaturadas se empaquetan mejor si éstas se localizan en capas separadas y posibilitan un arreglo de tres cadenas hidrocarbonadas, este mismo arreglo hace posible el empaquetamiento de TG que contienen subunidades de diferente longitud de cadena.

La Tabla 2.6 muestra las temperaturas de fusión de los TG más comúnmente encontrados en las grasas y aceites vegetales y animales. Como puede observarse, la temperatura de fusión

de éstos depende de su composición, la configuración geométrica de sus AG, su configuración estereoespecífica y la forma cristalina que adopta.

El polimorfismo es una propiedad deliberadamente manipulada en la manufactura de productos a base de grasa, como una manera de controlar la forma, tamaño e interacciones cristal-cristal en los productos.

Tabla 2.6 Características de fusión de TG polimórficos (Thomas, 1987)

TG	Polimorfo y temperatura de fusión °C		
	α	β'	β
Trilaurina	15.0	35.0	46.5
Tripalmitina	45.0	56.0	65.5
Triestearina	54.5	65.0	73.0
Trioleina	-32.0	-12.0	5.5
1-Laurodipalmitina	47.0	50.0	53.5
1,2-Dicaprioestearina	32.0	38.0	41.0
1,3 Dicaprioestearina	34.0	40.0	44.5
2-Palmitodiestearina	56.0	64.0	68.5
1,2-Dipalmitoleina	18.0	31.0	34.5
1,3-Dipalmitoleina	26.5	33.5	38.0
1,2-Diestearoleina	30.0	40.0	
1,3-Diestearoleina	37.0	41.5	44.0
1,3-Dipalmitoelaidina	40.0	53.0	54.0
1-Estearodibehenina	61.3	71.0	73.5
1-Palmito-3-estearo-2-oleina	18.2	33.0	38.0

Trabajos recientes han mostrado la existencia de otras formas polimórficas en las grasas (Gibon y Deronaine, 1986; Sato, 1988; Timms, 1984). Como ya se mencionó, la formación del polimorfo α es el primer paso en el proceso de ordenamiento molecular que dirige hacia el empaquetamiento molecular más efectivo. Las cadenas son verticales en las bicapas y se ordenan lateralmente de acuerdo a un empaquetamiento de cadenas hexagonal. Esta forma no muestra sobreenfriamiento y por ello se comporta como una estructura lamelar de los cristales líquidos. Si una forma α se enfría rápidamente puede formarse una forma reversible denominada sub α .

Estudios sobre los TG con cadenas de carbono impares han mostrado que hay, de hecho, dos formas β' . La transición desde la forma α parece efectuarse en dos pasos. Cuando las cadenas asumen un arreglo ortorrómbico se forma una estructura inclinada en el plano ac

permaneciendo las cadenas verticales en la otra dirección de proyección (forma β_2'). El siguiente paso es la transición $\beta_2' \rightarrow \beta_1'$ cuando se produce otra inclinación ahora en la otra dirección (Hernqvist, 1988).

Es importante enfatizar que las mismas formas polimórficas que se han observado en triacilglicéridos monoácidos saturados, se han hallado en triacilglicérols con diferentes ácidos grasos y en las grasas naturales.

La mayor parte de la información básica sobre el polimorfismo de compuestos de cadena larga ha sido logrado a partir del estudio de sustancias puras y simples. Las grasas naturales así como de las grasas comerciales, al ser mezclas multicomponentes, tienen una conducta polimórfica que no está aún del todo explicada.

2.7.3 La investigación de polimorfos en los lípidos

Los métodos comúnmente usados para el estudio del polimorfismo de los lípidos son la calorimetría diferencial de barrido (CB), la difracción de rayos X (DRX), el análisis térmico microscópico, la espectroscopía infrarroja a baja temperatura, entre otros.

Las curvas de CB proporcionan información sobre las temperaturas de transición y los calores de fusión y cristalización asociados. Comúnmente se utiliza en combinación con la difracción de rayos X cuando se requiere una mayor precisión en la tipificación cristalina, especialmente cuando se están estudiando mezclas de TG. En ocasiones, las curvas calorimétricas de grasas no son muy claras en el registro de las transiciones y aparecen traslapadas por efecto de la velocidad del barrido. En el caso de la DRX, algunas formas alotrópicas de vida corta pueden pasar desapercibidas, especialmente en experimentos que requieren tiempos largos de exposición.

En la DRX el patrón típico de las grasas exhibe dos grupos de líneas de difracción correspondientes a los llamados espaciamientos largos y espaciamientos cortos. Los primeros se observan a alrededor de $1-15^\circ$, 2θ ; mientras los espacios cortos se ven alrededor de la región 2θ de $16-25^\circ$. Los espacios largos corresponden a los planos formados por los grupos metilo y son dependientes de la longitud de la cadena y del ángulo de inclinación de los componentes ácidos grasos de las moléculas glicéridas. Los espaciamientos cortos se refieren a la sección transversal de empaquetamiento de las cadenas de hidrocarburos y son

independientes de su longitud. Estos espaciamientos cortos son los que se utilizan ampliamente para caracterizar las formas polimórficas. En los TG, la forma β' está asociada con TG asimétricos, esto es, cuando las posiciones contiguas (1 y 2 ó 2 y 3) de la molécula esterificada del glicerol están ocupadas por dos ácidos grasos saturados o dos ácidos grasos insaturados. Los cristales β son de TG simétricos.

La nomenclatura de las diferentes formas cristalinas en los lípidos, ha experimentado una buena cantidad de modificaciones en los últimos años. La Tabla 2.7 muestra un resumen de la nomenclatura más usada, basada en la propuesta de Larsson (1966) y la de otros autores (D'Souza y col., 1990; Sato y col., 1989), con la descripción de las características de cada polimorfo, de acuerdo a los espacios cortos que presentan, obtenidos mediante difracción de rayos X.

Tabla 2.7 Asignación y nomenclatura de polimorfos mediante difracción de rayos X, DRX
(D'Souza y col., 1990)

Polimorfo	Características (espacios cortos)
α	Un espacio corto simple en aproximadamente 4.15 Å
β'	Normalmente dos espacios cortos en 3.80 y 4.20 Å o tres espacios cortos a 4.27, 3.97 y 3.71 Å
β	Es una forma que no satisface el criterio para α o β' pero también tiene un fuerte espacio corto cerca de 4.60 Å
Sub-formas	
β' (sub- α)	Es una forma β' que normalmente funde abajo de una forma α con un espaciamiento largo indicando un inusual espacio largo d
Sub- β	Es una forma que no satisface el criterio de α o β' pero que muestra un fuerte espaciamiento corto a 4.74 Å y varios espaciamientos de longitud media en cerca de 4.54, 3.90 y 3.60 Å
γ	Es una forma que funde abajo de una forma α y muestra dos fuertes espaciamientos cortos a 4.72 y 3.88 Å
Pseudo- β	Es una forma que muestra cierta desviación de la forma ordinaria β con un fuerte espaciamiento corto a 3.96 junto con espaciamientos de intensidad media a 4.15, 4.27 y espaciamiento débil a 4.40 Å

Una buena cantidad de grasas y aceites de origen biológico que son sólidas y semisólidas a temperatura ambiente son de importancia industrial. Se ha estudiado la conducta polimórfica del sebo de res y de la manteca de cerdo, entre las grasas animales, por el amplio uso que tienen en la elaboración de diversos productos. El sebo de res cristaliza en la forma β' debido a la presencia de los TG, PSP y PSS y la manteca de cerdo en la forma β atribuida a

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

los compuestos POP y PPO (D'Souza y col., 1990). La manteca de cerdo contiene alrededor del 25% de ácido palmítico y exhibe espaciamentos a 3.7, 3.9, 4.6 y 5.3 Å que son característicos de la forma β .

La Tabla 2.8 muestra el polimorfo predominante en algunas grasas y aceites comunes (Young, 1985). La grasa de leche se presenta principalmente en la forma β' con trazas del polimorfo β . La presencia de este último se atribuye a la existencia de pequeñas cantidades de TG trisaturados. Woodrow y deMan (1968) investigaron la conducta polimórfica de la grasa de leche durante enfriamiento lento y rápido. El enfriamiento lento resultó en una mezcla de cristales β y β' . El enfriamiento rápido llevó a la formación de formas α eventualmente transformadas a formas β y β' después de su mantenimiento a 5°C.

Entre los aceites vegetales, el aceite de palma es importante debido a su amplio uso en una variedad de productos, desde el aceite para cocinar hasta el utilizado en confituras. Este aceite está compuesto de ácidos grasos palmítico y oleico, principalmente y ha sido reportado que su adición a margarinas y mantecas, tiene un efecto en la estabilidad polimórfica de estos productos, debido a que retrasa o previene la cristalización en la forma β . Tal efecto puede deberse a la mayor diversidad de longitudes de cadena de los ácidos grasos en esas mezclas. Como se sabe, en estos productos los sólidos deben consistir de cristales β' , que son responsables de su característica textura suave. De lo contrario los cristales β , más grandes en tamaño, causan un efecto de arenosidad en margarinas y mantecas; no obstante, este efecto es deseable en grasas para pastelería (deMan y col., 1993).

Tabla 2.8 Formas cristalinas dominantes en grasas y aceites comunes (Young, 1985)

Beta	Beta-prima
Aceite de canola	Aceite de algodón
Manteca de cacao	Mantequilla
Aceite de coco	Aceite de arenque
Aceite de maíz	Aceite de sábalo
Manteca de cerdo	Manteca de cerdo modificada
Aceite de oliva	Aceite de palma
Aceite de cacahuete	Aceite de colza
Aceite de semilla de palma	Cebo
Aceite de cártamo	Aceite de ballena
Aceite de soya	
Aceite de girasol	

Entre las grasas láuricas, el aceite de coco y el aceite de semilla de palma son los más importantes y su polimorfo más estable es el β . Los aceites de palma, algodón y soya con predominio de ácidos grasos de 16 y 18 carbonos, contienen un alto porcentaje de POP que, por hidrogenación, se convierte a PSP. Este último existe solo en la forma β' , mientras que los SPP y SSP exhiben tanto β' como β . El aceite de algodón hidrogenado se ha encontrado que presenta una mezcla de las formas α , β' y β (D'Souza y col., 1990).

Pueden encontrarse en la literatura numerosos trabajos relacionados con los efectos del mezclado e interesterificación en la textura y polimorfismo de grasas de uso industrial (de Man y col., 1993; Hicklin y col. 1986; Merker y col. 1958; Sabariah y col., 1998; Simoneau y col., 1994; Timms, 1984; Toro-Vazquez y col., 2000; Williams y col., 1997; entre otros).

2.8 Contenido de sólidos y diagramas de fase de las grasas naturales

Dado que las grasas naturales cambian de sólido a líquido en intervalos de temperatura amplios, a lo largo de ese intervalo coexisten compuestos en fase sólida y en fase líquida, con relaciones sólido/líquido dependientes de la temperatura. Las cantidades relativas de sólidos y líquido en una grasa se determinan por dilatometría, resonancia magnética nuclear (RMN) de banda ancha o de pulsos (*pulsed*), calorimetría diferencial de barrido (CB), densitometría o espectroscopia infrarroja (Lambelet y Raemy, 1983; Van de Voort y col., 1996; Walker y Bosin, 1971). Los métodos dilatométricos de medición del contenido de sólidos en grasas se fundamentan en la contracción del volumen ocurrido durante la cristalización y los de RMN en las diferencias de la movilidad molecular en las fases líquida y sólida de los triacilglicéridos. Las técnicas instrumentales como la CB y la RMN han venido reemplazando los laboriosos análisis dilatométricos.

En la dilatometría, la dilatación a cierta temperatura se relaciona con la diferencia en volumen entre la grasa completamente líquida y la grasa cristalizada estable a esa misma temperatura. Usualmente se expresa en $\text{mm}^3/25\text{g}$ de grasa. La solidificación completa corresponde con valores dilatométricos (D_i) en el intervalo de 2100 y 2500. El índice de grasa sólida, IGS (SFI por sus siglas en inglés) se usa con frecuencia para indicar el grado de cristalización de una grasa, calculado como $D_i/25$. Así, una grasa totalmente sólida tiene un IGS cercano a 100; sin embargo, este parámetro no es el porcentaje real de sólidos que puede medirse mediante RMN (Birker y Padley, 1987).

La Figura 2.3 muestra el comportamiento típico del IGS de diversas grasas en función de la temperatura, acorde con sus diferentes usos.

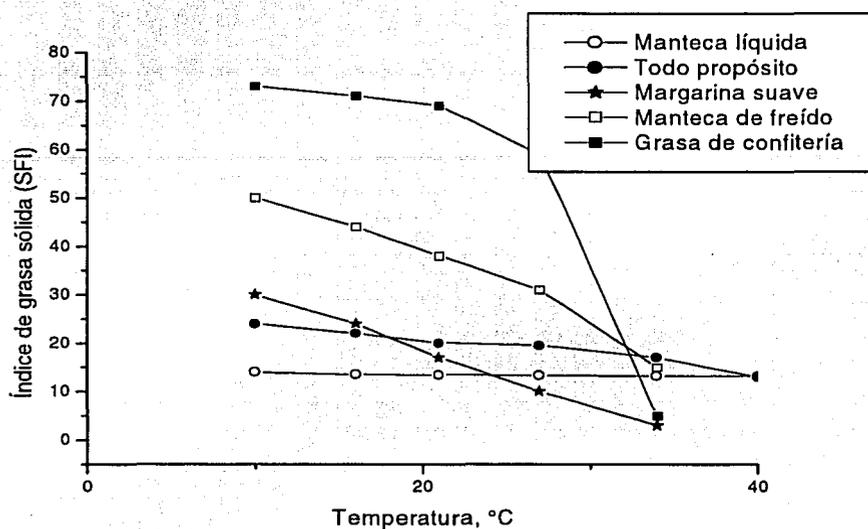


Figura 2.3 Comportamiento típico del índice de grasa sólida IGS (SFI) en productos usados para diferentes propósitos (O'Brien, 1998)

En las mediciones con RMN, el espectro de resonancia da información del estado agregado de los núcleos atómicos, lo que permite una estimación automatizada de la fracción sólida como contenido de grasa sólida CGS (SFC por sus siglas en inglés). Y, en el caso de la calorimetría, la cantidad de sólidos se correlaciona con el área parcial encerrada entre la curva de fusión y la línea base, misma que representa la entalpía de fusión necesaria para fundir los cristales existentes hasta la temperatura considerada y que se relaciona con el CGS a esa temperatura (Breitschuh y Windhab, 1996; Lambelet y Raemy, 1983).

El CGS es un parámetro muy importante en la evaluación de las propiedades físicas de las grasas; en particular, las propiedades mecánicas y reológicas importantes en su conducta durante el procesamiento, empaque y almacenamiento; así como en sus características de untabilidad y dureza y en las propiedades de fusión durante la ingestión bucal de productos grasos (Hoffman, 1989).

La conducta de fase de una grasa se representa en una gran variedad de diagramas de fase que relacionan el CGS con la temperatura o la composición. La Figura 2.4 muestra cómo los datos de RMN se pueden usar para graficar el contenido de sólidos en función de la temperatura o composición, cuando se estudian mezclas de grasas con diferentes características de fusión. Una alternativa para representar estos datos se muestra también en la Figura 2.4, donde se han trazado líneas de contenido constante de sólidos (isosólidos) o de dilatación constante (isodilatación) en diagramas de temperatura-composición. Estos últimos diagramas son adecuados para analizar cómo mezclas de dos TG o de dos grasas interactúan. Para estos diagramas binarios, las grasas compatibles en el mezclado mostrarían un conjunto de líneas de isosólidos casi paralelas y horizontales.

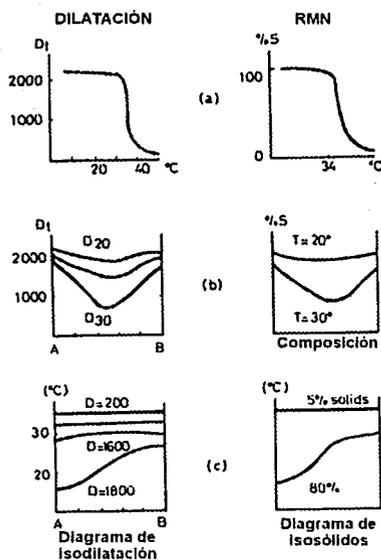


Figura 2.4 Diagramas de fase con base en valores de dilatación y de contenido de sólidos (Birker y Padley, 1987)

En otros casos, los diagramas de isosólidos presentan puntos mínimos o máximos que representan conductas eutécticas o la formación de compuestos. Estos diagramas son de mayor utilidad para la descripción de la conducta de fase que los diagramas de fase binarios que la describen en términos de líneas para las porciones sólida y líquida dentro de un diagrama de temperatura-composición. Tales diagramas deben, por definición, representar

situaciones de equilibrio termodinámico y por ello tan sólo usarse para combinaciones de TG puros en modificaciones estables.

Las solubilidades mutuas de los TG en la fase líquida en los diagramas binarios de fase convencionales son normalmente bien descritos por la ecuación de Hildebrand para las soluciones ideales (Birker y Padley, 1987). Birker y Padley (1987) han mostrado los efectos que provocan las impurezas y los procedimientos de estabilización en la calidad de los diagramas de fase resultantes aún en sistemas tan simples de TG puros tales como SSS/PPP.

La conducta de fase de sistemas constituidos por mezclas de grasas de diferentes orígenes es también importante en la obtención de grasas con perfiles de fusión, contenido de sólidos, consistencia, etc, deseados, y también ha sido ampliamente estudiada; sin embargo, no está tampoco, entendida del todo. Las interacciones eutécticas y diluyentes en mezclas de grasas se han investigado usando diagramas de fases a partir del CGS (SFC) (Bigalli, 1988; Bystrom y Hartel, 1994; Hogenbirk, 1990; Timms, 1980, 1984, 1985). A partir de esos diagramas es posible analizar la compatibilidad entre grasas diferentes.

Si dos grasas son perfectamente compatibles y exhiben una conducta de fusión semejante, las líneas de igual contenido de sólidos (líneas de isosólidos) son rectas, horizontales o que conectan las temperaturas de fusión de las grasas individuales. Las dos grasas pueden ser compatibles en conducta de fase pero presentar diferente conducta de fusión. En este caso las líneas de contenido sólido constante son también rectas y conectan puntos de las dos grasas puras pero decrecen en temperatura desde la grasa más dura hasta la grasa más blanda. En este caso ocurre un ablandamiento por dilución con la adición de la grasa más suave. En el caso extremo de incompatibilidad entre grasas, los efectos de la cristalización eutéctica causan una depresión significativa del contenido de sólidos en ambas grasas. En un diagrama de isosólidos esto se manifiesta como una compresión de las líneas y temperaturas de fusión abajo de cada una de las grasas individuales. Se ha visto que la conducta eutéctica se debe a imperfecciones de la red cristalina, al incremento de la movilidad molecular, a cambios en la estructura polimórfica y a cambios en la cinética de cristalización; sin embargo, el mecanismo real es difícil de determinar. De este modo los diagramas de isosólidos pueden servir para analizar la compatibilidad de dos grasas en el mezclado. A este respecto, Paulicka (1973) sostiene que en el caso de la mezcla de las denominadas mantecas duras con manteca de cacao, la completa compatibilidad requiere que éstas cumplan la condición de tener propiedades térmicas equivalentes, en términos de sus puntos de fusión, intervalos de fusión y solidificación y contenido de grasa sólida; similares

tamaños moleculares, formas y empaquetamiento cristalino y similar polimorfismo, ya sea en las mezclas o en los constituyentes. Su compatibilidad dependerá de que esas condiciones se satisfagan.

La Figura 2.5 muestra los diagramas de isosólidos de mezclas de manteca de cacao con *Coberina* (rica en SOS, POS y POP), con una grasa láurica, la estearina de semilla de palma, y con fracciones ricas en ácidos grasos saturados de aceite de algodón hidrogenado. En estos diagramas se aprecia la mayor compatibilidad de la manteca de cacao con la *Coberina* y la menor afinidad de la MC con las otras dos grasas mostradas.

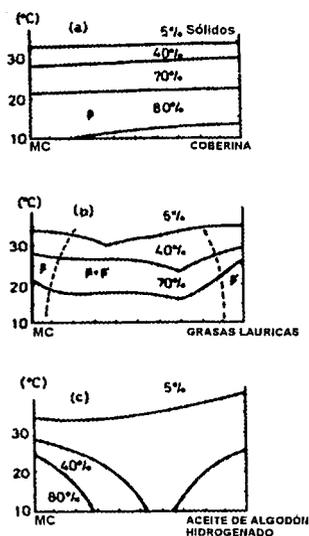


Figura 2.5 Diagramas de isosólidos para la compatibilidad de la manteca de cacao (MC) con otras grasas (Birker y Padley, 1987)

Se ha encontrado también que durante el mezclado de aceite de palma (30% de POP) y manteca de cerdo (50% de OPO), los diagramas de isosólidos muestran un máximo que representa la formación de un producto menos soluble que cualquiera de los componentes originales. Margarinas elaboradas con estas mezclas presentaron defectos en textura, percibidas durante su consumo como granulosis (Birker y Padley, 1987).

La Figura 2.6 muestra la formación de otro compuesto bien conocido (POP/PPO) que resulta en un máximo en los diagramas de iso-dilatación de la mezcla de una fracción de aceite de palma interesterificado (66% de PPO) y una fracción media de aceite de palma. Por lo general, estos diagramas han sido logrados mediante el uso de la calorimetría diferencial de barrido (CB). Lambelet y Raemy (1983) han apuntado que el análisis con CB podría proporcionar mayores valores de CGS (SFC) que los que se determinan mediante RMN.

Estos mismos autores observaron que las relaciones entre los valores SFC determinados por RMN y CB son lineales para la manteca de cacao, pero no lo son para mezclas de grasa de leche y manteca de cacao. Buening-Pfaue y Bartsch (1989) indican que las medidas de la diferencia entre las entalpías de cristalización determinadas mediante CB y aquellas calculadas para las mezclas termodinámicamente ideales, podrían estar reflejando el efecto de mezclado en la cristalización. Basándose en ello, corroboraron la compatibilidad de las grasas láuricas con la grasa de la leche y la incompatibilidad de la grasa láurica con la manteca de cacao.

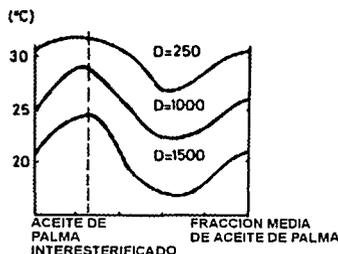


Figura 2.6 Formación de un compuesto POP/PPO en una mezcla de aceite de palma interesterificado con una fracción media de aceite de palma (Birker y Padley, 1987)

En esta línea, Md.Ali y Dimick (1994a,b) investigaron la interacción en sistemas ternarios de grasas. En uno de estos reportes analizan el sistema integrado por una fracción grasa intermedia de aceite de palma (AP-FM), grasa de leche (GL) y manteca de cacao. En estos experimentos se prepararon mezclas en diferentes proporciones de los tres constituyentes y se midieron sus características de fusión y cristalización mediante CB, las curvas de fusión se utilizaron para calcular tanto el CGS como las entalpías parciales de fusión. De acuerdo con

este estudio, la manteca de cacao tuvo la más alta entalpía de fusión (35.4 cal/g), seguida por la fracción de aceite de palma (29.5 cal/g) y la grasa de leche (17.4 cal/g).

Algunos efectos interactivos entre las grasas pudieron observarse a través de las gráficas de la entalpía parcial de fusión contra el CGS (SFC). En sus resultados sugieren que en algunos estudios de interacción entre grasas podría ser más apropiado convertir el área parcial en entalpía parcial en lugar de convertirlo a CGS. La Figura 2.7 muestra el diagrama de isolíneas de la entalpía parcial de fusión de acuerdo al trabajo de Md.Ali y Dimick (1994a); la entalpía parcial es la requerida para llevar las mezclas ternarias de grasa a una fusión completa desde una temperatura de 30°C, después de 40 horas de estabilización a 26°C.

El diagrama de isosólidos muestra que, a medida que se incrementa el contenido de grasa de leche anhidra (GL) desde el punto G al punto A, los valores para $\Delta H_{30^\circ\text{C}}$ decrecieron de 20.4 a 2.4 cal/g. El incremento de manteca de cacao (MC) en la mezcla aumentó el valor de la entalpía parcial de fusión (de K a E) y el aumento del aceite de palma (AP-FM), lo redujo. Sin embargo como lo muestra el diagrama, el efecto de este último es menos pronunciado con el efecto de las otras dos grasas.

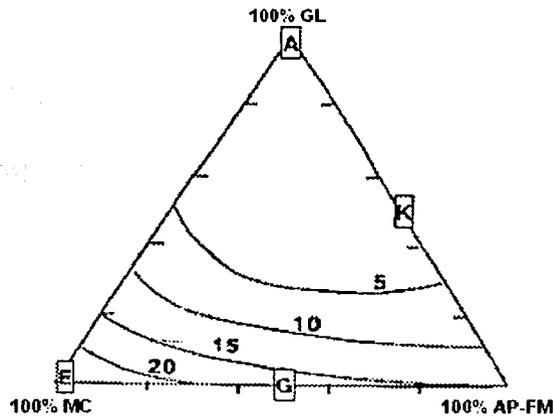


Figura 2.7 Diagrama de isolíneas de la entalpía parcial de fusión de la mezcla de manteca de cacao (MC), fracción media de aceite de palma (AP-FM) y grasa de leche (GL) (Md.Ali y Dimick, 1994a)

2.9 La manteca de cacao, un modelo de grasa industrial

De todas las grasas utilizadas en la industria, la manteca de cacao ha sido históricamente una de las más importantes, no sólo por ser el constituyente natural del chocolate, sino porque se ha convertido, por sus características, en un estándar a imitar desde hace muchos años. Tiene características de fusión muy peculiares. A temperatura ambiente (abajo de 26°C) es dura y quebradiza y funde rápida y casi completamente a la temperatura de la boca. Su intervalo plástico es también muy corto en comparación con otras grasas. Tales propiedades son determinantes en el juicio sensorial de los consumidores, como sucede durante la percepción de la calidad de los chocolates o en el uso de algunos medicamentos o productos tópicos.

La MC se obtiene mediante extracción por presión hidráulica o mecánica o con disolventes de la semilla de cacao (Martin, 1987).

La Tabla 2.9 presenta los intervalos promedio en la composición de la manteca de cacao reportados por Martin (1987). La variabilidad en la composición se debe a un conjunto de factores ecológicos y varietales que se dan durante el cultivo de las plantas. Los ácidos grasos palmítico, oleico y esteárico contribuyen con alrededor del 90% de todos los ácidos grasos de la manteca de cacao. Éstos tienen la tendencia a formar TG simétricos con el ácido oleico en la posición sn-2.

Tabla 2.9 Composición de ácidos grasos en la manteca de cacao, MC (Martin, 1987)

Acido graso		Porcentaje
Laúrico	C ₁₂	0-0.1
Mirístico	C ₁₄	0.1-0.2
Palmitico	C ₁₆	24.5-27.8
Palmitoleico	C _{16:1}	0.2-0.4
Esteárico	C ₁₈	32.1-35.6
Oleico	C _{18:1}	32.2-38.6
Linoleico	C _{18:2}	2.6-4.0
Linolénico	C _{18:3}	0.1-0.2
Araquídico	C ₂₀	0.5-1.1

La composición acilglicérida de la manteca de cacao ha sido ampliamente estudiada por Chaiserí y Dimick (1989), Chapman y col. (1957), Hilditch y Stainsby (1936) y Lutton (1957), entre otros. Las cifras promedio indican que esta grasa está compuesta en su mayor

parte por TG (alrededor del 94%), pequeñas cantidades de diacilglicéridos (4%) y monoglicéridos (menos del 0.5%). También están presentes algunos ácidos grasos libres (alrededor del 1.3%). Aproximadamente, el 37% de los TG están en la configuración de oleopalmitoestearina (POS); la configuración SOS en un 25% y la POP está en aproximadamente el 20%. Las cantidades exactas dependen de factores varietales y fenotípicos. La existencia de configuraciones POO y SOO en la manteca de cacao ocasiona efectos no deseables en la conducta de cristalización de la manteca (Martin, 1987). Otras investigaciones reportan la composición de triacilglicéridos con relación a la fracción de monosaturados simétricos: Kattenberg (1981), reporta un intervalo de 63.7-77.2 (POP: 16.3-16.5%; POS: 46.2-46.4%; SOS: 32.5-33.2% y otros: 4.4-4.8%) y Faulkner (1981) reporta un 82% de TG simétricos totales.

Chapman y col. (1971), Duck (1964), Loisel y col. (1998), Lovegren y col. (1976), Manning y Dimick (1985), Vaeck (1951, 1960) y Willie y Lutton (1966), entre otros, han identificado y estudiado las diferentes formas polimórficas de esta importante grasa industrial.

Lutton (1972) elaboró explicaciones con relación a la estructura cristalina y a la configuración de la molécula de grasa: Cuando los TG POP, POS y SOS están en estado puro se organizan sobreponiendo el ácido oleico en la segunda posición creando con ello un cristal estable. Si la cantidad de ácido oleico se incrementara en cantidades tan pequeñas como el 1%, el exceso ocuparía otra posición en el triacilglicérido alterando su estructura cristalina y disminuyendo el perfil de fusión de la grasa. Ésta es una de las causas de las llamadas grasas suaves.

Las características de fusión de la manteca de cacao la hacen ideal para las confituras, sin embargo presenta algunas dificultades durante la cristalización (*tempering*, en inglés) en el proceso de fabricación del chocolate. El crecimiento de formas cristalinas no deseables se manifiesta como una suavidad anormal del producto, decoloración en algunas partes de su superficie y otros defectos que en su conjunto se conocen con el nombre genérico de *bloom*.

El templado o temperado del chocolate, que ejemplifica la importancia del manejo del polimorfismo en las grasas durante la elaboración de productos, significa nuclear o desarrollar semillas de cristales mediante un control estricto de la temperatura y el mezclado (Beckett, 1995; Reade, 1980). El objetivo de esta nucleación primaria es situar la fase del producto homogéneamente con tamaños de cristales pequeños de modo que éste tenga

finalmente, el brillo, la dureza y velocidad de fusión, requeridas; además de evitar la tendencia al *bloom* (Minifie, 1980; Schlichter-Aronhime y Garti, 1988).

Si la MC de un chocolate es solidificada, uniforme y homogéneamente, en pequeños cristales β' o β (que tienen los niveles de energía más bajos), resultará apropiadamente estable y sufrirá cambios mínimos después de su solidificación inicial. Si esto no se cuida, el chocolate solidificará en una matriz cristalina con posteriores cambios dinámicos, resultando en una menor estabilidad.

Un producto bien atemperado, con cristales primarios β' o más estables β , normalmente tiene cristales menores a $1 \mu\text{m}$; mientras que, grasas mal atemperadas tienen más formas cristalinas menos estables γ , α y β'' y sus cristales pueden ser más grandes a 1 y $2 \mu\text{m}$. En el caso del chocolate, éste resulta opaco, vetado y de estructura cristalina heterogénea, con textura blanda, de menor resistencia al calor y con una elevada tendencia al *bloom*.

El *bloom* es un problema que ha recibido amplia atención debido a que además de ser un fenómeno no del todo explicado, su frecuencia y amplitud tiene consecuencias importantes y efectos económicos considerables (Hagemann y Rothfus, 1993; Schlichter-Aronhime y Garti, 1988). Hagemann y Rothfus (1993) han apuntado que el fenómeno se presenta cuando las grasas o algunos TG que las constituyen, se mantienen a temperaturas que promueven la transición de una forma cristalina a otra de mayor punto de fusión, durante un proceso cuya explicación, sin embargo, a niveles moleculares, aún permanece oscura por las limitaciones de los datos disponibles que no permiten correlacionar cambios dimensionales con la composición y condiciones del temperado.

Se especula que el *bloom* es impulsado por la tensión, en un ambiente anisotrópico de los TG solidificados; de tal modo que el sólido se expande más en una dirección que en cualquier otra y a través de la distorsión de las capas relativamente estables de moléculas, hacia otras adyacentes que están teniendo cambios conformacionales. La expansión durante la transición polimórfica, aparentemente ocurre, por cambios en el empaquetamiento lateral de los TG.

De acuerdo con datos experimentales hay tres elementos del polimorfismo de TG relacionados con el *bloom* de las grasas. El proceso es: a) impulsado termodinámicamente por la transformación del sólido inicial a una forma energéticamente favorable con mayor

densidad cristalina, b) procede vía una secuencia regulada cinéticamente y c) involucra dislocaciones dirigidas (Hagemann y Rothfus, 1993).

En un análisis mediante modelos computacionales de las transiciones de TG monoinsaturados, Hagemann y Rothfus (1993) sugieren que en las transformaciones a la forma β , el cambio conformacional requiere algo más que el rompimiento de la estructura cristalina previa y que, en modelos de grasas sólidas, un movimiento fuera de plano de la cadena podría contribuir a la expansión direccional del *bloom*, tales movimientos podrían permitir los ajustes en la red que producen las grandes transformaciones exotérmicas que se dan entre las formas α y β observadas mediante CB.

Desde un punto de vista estructural, el inicio de la cristalización es el desarrollo de una red tridimensional que solidifica la masa fluida y la provee de una área de superficie interna grande, sobre la cual, el líquido remanente es capaz de cristalizar. La más pura red de grasa está cristalizada con pequeños receptáculos de grasa líquida remanente. Esto es lo que limita a la grasa líquida remanente para solidificar en cristales grandes e inestables.

Vaeck (1960), caracterizó las formas polimórficas de la manteca de cacao asignándoles nombres con letras griegas y mostró que la forma más inestable es la γ , que funde a 17.8°C. Ésta tiene una duración de aproximadamente 1 minuto, para después cambiar espontáneamente, a la forma inestable más próxima, la α . La forma α funde a alrededor de 23.6°C. Si esta forma es mantenida durante aproximadamente una hora a una temperatura un poco abajo de su punto de fusión cambia a la siguiente forma alotrópica, β' , que tiene su punto de fusión en 28.1°C y que parece tener un tiempo de vida de alrededor de 1 mes para después cambiar a la forma cristalina β' . Esta última forma cristalina, funde a los 33.1°C y es la más inestable de las formas polimórficas de la manteca de cacao, sin embargo sus cristales tienen el mismo tamaño que los de la forma más estable β . La existencia real de la forma cristalina β' fue confirmada hasta 1964 mediante los trabajos de Duck (1964) a través de estudios de la viscosidad de grasa sólida en chocolate parcialmente solidificado y con análisis dilatométricos. Posteriormente, fue demostrado que las formas polimórficas descritas son el resultado, tanto de la conducta polimórfica de los componentes TG como de las conductas de fase de éstos en la manteca de cacao. La Tabla 2.10 muestra las diferentes formas cristalinas y sus denominaciones, reportadas por diferentes autores.

Tabla 2.10 Formas cristalinas de la manteca de cacao (D'Souza y col., 1990)

	Vaeck (1960)	Duck (1964)	Willie y Lutton (1966)	Riiner (1970)	Chapman y col. (1971)	Hicklin y col. (1986)	Davis y Dimick (1986)
Forma	γ	γ	I	$\beta'2$	I	I	I
P.F. *	17.0	18.0	17.3	---	---	17.9	17.60
Forma	α	α	II	---	II	II	II
P.F.	21-24	23.5	23.3	---	---	24.4	19.9
Forma	β'	β''	III	mezcla	III	III	III
P.F.	28.0	28.0	25.5	α y β	---	27.7	24.5
Forma	β	β'	IV	β'	IV	IV	IV
P.F.	34-35	33.0	27.3	---	25.6	28.4	27.9
Forma		β	V	β	V	V	V
P.F.		34.0	33.8	---	30.8	33.0	34.4
Forma			VI		VI	VI	VI
P.F.			36.3		32.2	34.6	34.1

*P.F. = Punto de fusión en °C

Materiales y métodos

3.1 Muestreo

Se obtuvieron lotes de mango (*Mangifera indica*) variedad Manila en los estados de pre-madurez (tierno) y de madurez fisiológica (maduro), de plantaciones ubicadas en las localidades de Actopan, municipio del mismo nombre (Latitud 19° 30'; Longitud 96° 37') y Plan del Rio, municipio de Emiliano Zapata (Latitud 19° 29'; Longitud 96° 48') de la región productora de mango en la parte central del Estado de Veracruz.

3.2 Caracterización del fruto

Dada la necesidad de caracterizar la fuente primaria de la GASM, se realizó un análisis comparativo tanto del tamaño de las porciones constitutivas del fruto, de sus principales componentes químicos, en la pulpa y en la almendra de los especímenes colectados.

3.2.1 *Peso y porcentaje de cada componente constitutivo de la fruta*

Se tomaron al azar de los lotes de mango colectados, tres frutas tiernas y tres maduras, las que se pesaron y se les removieron cada una de sus partes: Cáscara, pulpa, semilla y almendra. Las porciones se pesaron y se calculó el porcentaje promedio de cada una de ellas con respecto del peso total de la fruta. Dado el objetivo del presente estudio, las porciones del fruto que requirieron un estudio químico fueron la pulpa y la almendra de mango. La primera porque permite ubicar el estado de desarrollo fisiológico de la fruta y la segunda, porque es la que almacena la mayor cantidad de lípidos.

3.2.2 *Análisis químico de la pulpa de mango*

A las pulpas de los mangos, tanto tierno como maduro, se les determinó mediante las técnicas oficiales de análisis (AOAC, 1995; Horwitz, 1980): Humedad (por pérdida de peso), cenizas (por calcinación directa), acidez titulable (por neutralización con solución alcalina valorada), azúcares reductores, azúcares totales (método de Lane y Enyon), valor de

pH (método potenciométrico) y taninos (método de Folhin-Denis). La descripción más detallada del procedimiento seguido se da a continuación.

3.2.2.1 Humedad

Muestras de pulpa de mango se pesaron en crisoles de porcelana previamente tarados y puestos a peso constante, las muestras se mantuvieron a 70°C hasta el registro de peso constante (en alrededor de 6 h) en una estufa de laboratorio (Precision Scientific modelo 18EG) y se colocaron en desecador hasta que se equilibraron termicamente con la temperatura ambiente. Se calculó la humedad de acuerdo con pérdida de peso y expresada como porcentaje de la muestra original.

3.2.2.2 Cenizas

Muestras de pulpa de mango se colocaron en crisoles de porcelana (previamente puestos a peso constante), se pesaron y se mantuvieron en una estufa de laboratorio hasta la eliminación total de la humedad para después, en una mufla (Linderberg, modelo 51848) y a una temperatura de aproximadamente 525°C, calcinarlas completamente hasta la obtención de cenizas blancas. El porcentaje de cenizas se calculó, considerando el peso original y la pérdida de peso de las muestras.

3.2.2.3 Acidez titulable

Muestras de pulpa de mango previamente homogeneizadas se pesaron y se diluyeron con cerca de 250 mL de agua hervida neutra. Se tomaron 100 mL de esa solución y se titularon con una solución valorada de NaOH (Sigma®; Sigma-Aldrich Química, S.A. de C.V.; Toluca, México) 0.1N, utilizando por cada mL de la solución de la muestra 0.3 mL de solución de fenolftaleína (J. T. Baker®; Xalostoc, México) al 1% como indicador. Se utilizó, como referencia, el miliequivalente del ácido cítrico (0.070), para el cálculo de la acidez titulable, expresada como el porcentaje de la muestra original.

3.2.2.4 Azúcares

Método volumétrico de Lane-Eynon. Reductores directos. Una muestra de pulpa de mango, previamente homogeneizada se mezcló con agua caliente y el volumen total llevado a un aforo de 100 mL, dejándola reposar por 30 minutos. Se agregó acetato de zinc y ferrocianuro de potasio (J.T. Baker). Se tomó una alícuota de la solución y se valoró con las soluciones A y B de Fehling (Sigma), calculándose el porcentaje de azúcares

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

reductores considerando, el peso de la muestra y el que $(factor \times 100)/titulo = mg \text{ de azúcares en } 100 \text{ mL}$.

Azúcares totales. Una muestra previamente homogeneizada se mezcló con agua caliente y el volumen total llevado a 100 mL. Posterior a un reposo de 30 minutos se agregó acetato de zinc y ferrocianuro de potasio. Se tomó una alícuota de 50 mL y se agregaron 10 mL de HCl concentrado (Sigma) manteniendo la mezcla a 70°C por 15 minutos en un baño maría al término del cual, la mezcla se neutralizó con NaOH 1N y llevada a un nuevo aforo de 100 mL, valorándose con las soluciones A y B de Fehling. Se calculó el porcentaje de azúcares totales, considerando el factor de Fehling, el título, las diluciones efectuadas y el peso original de la muestra.

3.2.2.5 pH

Método potenciométrico. Se pesó una muestra de pulpa dentro de un matraz Erlenmeyer seco y se añadieron 100 mL de agua destilada neutra, la mezcla se agitó vigorosamente dejándola reposar por 20 minutos, al cabo de los cuales, se decantó el líquido sobrenadante en un vaso de precipitados para la determinación del pH en un potenciómetro Conductronic 20 calibrado con soluciones buffer de pH 4.5 (solución de acetato 0.2M, J. T. Baker) y pH 7.5 (solución 0.1M de fosfato de potasio; J. T. Baker) a 25°C.

3.2.2.6 Taninos

Método espectrofotométrico. Se prepararon las soluciones de Folin Denis con ácido fosfomolibdico (J. T. Baker), tungsato de sodio dihidratado (Técnica Química, S. A®; México, D. F.) y ácido fosfórico (J. T. Baker), solución saturada de carbonato de sodio (Técnica Química, S. A.) y una solución estándar de ácido tánico (Técnica Química, S.A.), de acuerdo con Horwitz (1980). Se elaboró una curva patrón de ácido tánico en base a una serie de diluciones conteniendo desde 0 hasta 2.4 mL de solución estándar de ácido tánico. Las muestras previamente taradas fueron objeto de extracción con agua (de 100 a 250 mL) calentando a ebullición durante 30 min. Después de filtrar, al extracto una vez frío, se añadieron de 1 a 3 mL de solución de Folin-Denis y se llevó el aforo al volumen más cercano. Las soluciones de ácido tánico y las muestras se analizaron en un espectrofotómetro Milton Roy a una absorbancia de 760 nm. El porcentaje de taninos en las muestras se calculó considerando, el valor indicado por la curva patrón, las diluciones y el peso de la muestra extraída.

3.2.3 Análisis químico de las almendras

A las almendras de las frutas despulpadas conforme a los puntos anteriores, en sus estados de desarrollo fisiológico indicados, se les determinó, de acuerdo con las técnicas oficiales de análisis (AOAC, 1995; Horwitz, 1980): Humedad, cenizas, grasa cruda (método Soxhlet), fibra cruda, proteínas (método Kjeldahl), taninos (Folhin-Denis) y cianuros (titulación alcalina).

3.2.3.1 Humedad

Se tomaron muestras de almendra de semilla de mango y se procedió como en 3.2.2.1.

3.2.3.2 Cenizas

Las muestras de almendras de semilla de mango se trataron como en 3.2.2.2

3.2.3.3 Grasa cruda

Método Soxhlet. El matraz del aparato Soxhlet se puso a peso constante y taró en una balanza analítica (Plus Ohaus). Las muestras de almendra de mango deshidratadas previamente y de humedad conocida, se colocaron dentro de un cartucho y en la cámara de extracción del aparato Soxhlet extrayéndose con eter anhidro (J. T. Baker) durante 8 horas. Al término, el disolvente se evaporó en un rotavapor (Büchi modelo R111). El matraz conteniendo el extracto libre de disolvente se pesó y se calculó el peso del extracto, reportándose como porcentaje de grasa cruda de la muestra original, en base húmeda y en base seca.

3.2.3.4 Fibra cruda

Se colocó una muestra de peso conocido de almendra de semilla de mango en un matraz Erlenmeyer y se agregaron 200 mL de solución caliente de ácido sulfúrico (Sigma) al 1.25%, con reflujo y con agitación frecuente durante 30 minutos. Al término, se filtró la mezcla en un embudo con papel filtro de peso conocido lavando el residuo con agua caliente. Se colocó la muestra nuevamente en el matraz para tratarla con 200 mL de una solución de NaOH al 1.25% y ebullición durante 30 minutos. Posterior a ello, la mezcla se filtró y lavó con solución de ácido sulfúrico, agua y etanol (J.T. Baker). El residuo y el papel filtro se transfirieron a un crisol de porcelana, previamente tarado y se secaron a 130°C durante 2 h, enfriaron en desecador y pesaron. Finalmente se calcinaron en mufla a 500°C hasta la

obtención de cenizas blancas. Se calculó el porcentaje de fibra cruda tomando en cuenta el peso de la muestra original, el peso del residuo y el peso de las cenizas.

3.2.3.5 Proteínas

Método de Kjeldahl. Esta determinación se realizó por el método de Kjeldahl, con un equipo completo, digestor y destilador, Büchi (Scrubber, modelo 94N42760). El destilado se tituló con HCl 1N usando como indicador azul de bromotimol (Técnica Química, S. A.). El porcentaje de proteína se calculó considerando el peso de la muestra original, el título, la concentración del ácido y el factor de 5.18.

3.2.3.6 Taninos

Las muestras de la almendra de semilla de mango fueron sujetas de extracción acuosa y determinación de taninos como en 3.2.2.6.

3.2.3.7 Cianuros

Método de titulación alcalina. Se pesaron entre 10 y 20 g de muestra en un matraz Kjeldahl al que se agregaron 200 mL de agua destilada para después destilar la mezcla de 2 a 4 h en un aparato de destilación. El destilado se recogió en 150 mL de una solución de NaOH al 2.5% (p/v). A una alícuota de 100 mL de esta última solución se añadieron 8 mL de NH_4OH (J. T. Baker) 6N y 2 mL de KI (Merck®; Merck-México, S. A., México, D.F.) al 5% titulándose, en micro-bureta, con una solución 0.02N de AgNO_3 (Técnica Química, S. A.) hasta el punto final (de apariencia turbia) especialmente reconocido en un fondo negro. El porcentaje de glucósidos cianogénicos se calculó considerando que 1 mL 0.02N de $\text{AgNO}_3 = 1.08$ mg de HCN [(Ag⁺ equivalen a 2CN⁻)].

3.3 Obtención de la grasa de almendra de semilla de mango (GASM)

3.3.1 Deshidratación y reducción de tamaño

Las almendras de la semilla libres de la cubierta del hueso se deshidrataron en una estufa de charolas a temperaturas de 60°C hasta una humedad de aproximadamente 10%. Las almendras se trituraron manualmente y se redujeron a un tamaño menor, cuando fue necesario, con ayuda de un molino de manivela (marca San-Bar de fabricación mexicana), guardándose en bolsas de polietileno bajo refrigeración a 5°C hasta su procesamiento.

Se utilizó un aparato para la clasificación del tamaño de partícula de la almendra de mango deshidratada y molida, marca Tyler (Ro-Tap modelo B) con tamices, marca Mont-Inox, números 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 20 y 30.

3.3.2 Extracción y purificación de la grasa

La grasa se extrajo en aparato Soxhlet utilizando hexano como disolvente. La extracción se realizó en series repetidas de 6 horas, hasta agotamiento total de la grasa en la harina. El disolvente se removió de la micela resultante bajo condiciones de presión reducida con ayuda de un evaporador rotatorio, al vacío, de laboratorio (Büchi RE 111) y los extractos de cada lote se juntaron. La grasa obtenida se guardó en un recipiente al abrigo de la luz y en refrigeración, hasta su procesamiento y/o análisis. La grasa obtenida se purificó en base al método de Wesson (Mehlenbacher, 1970). En este método la grasa cruda se disuelve en éter de petróleo en una proporción de 1:5 (peso/volumen) y se añade 1 mL de hidróxido de potasio al 14% por cada gramo de grasa disuelta con agitación vigorosa durante 3 minutos; posteriormente, se añade alcohol etílico al 50%, en una proporción de 1:2.5 (p/v) respecto al peso en g de la grasa, agitando y reposando hasta la separación de las fases. La capa etérea contiene la grasa neutra. La fase alcohólica jabonosa se reextrae con éter. Los extractos etéreos se procesaron en un rotavapor para la recuperación de la grasa purificada. La grasa así purificada se guardó bajo refrigeración (-5°C) y al abrigo de la luz hasta su procesamiento ulterior y/o análisis.

3.4 Rendimiento en la extracción de la GASM de almendras de mango maduro

Se analizó el rendimiento de grasa extraída de las almendras deshidratadas de mango manila maduro, en función de las principales variables durante la extracción por lotes. Se utilizó un sistema de flujo cruzado con etapas múltiples de contacto (Perry y Chilton, 1973; Toledo, 1991), en un aparato de extracción tipo Soxhlet y un modelo experimental factorial compuesto que permite analizar las condiciones operativas con la metodología de superficie de respuesta.

3.4.1 Diseño experimental

Se utilizó un modelo experimental compuesto de Box y Wilson (Box y col., 1989) con tres variables. Las variables se seleccionaron al considerar que, durante la extracción sólido

líquido el disolvente debe difundir al interior del sólido para disolver el soluto y después difundir nuevamente al exterior del sólido, hacia la fase líquida. El proceso es más complejo ya que involucra la difusión interna a través de poros capilares, membranas, etc. del material sólido de origen biológico y la difusión externa en la que se involucran resistencias externas a la transferencia de masa, donde la concentración del soluto en la fase líquida entre otras, es determinante (Toledo, 1991). De ahí que el tiempo, el área y las cantidades relativas de las fases en contacto sean teóricamente importantes en la eficiencia del proceso extractivo. Las variables consideradas fueron entonces: X_1 , relación sólido/disolvente; X_2 , tiempo de contacto y X_3 tamaño de partícula del material a extraer. El modelo experimental considera tres variables en dos niveles, más un punto experimental central y 6 puntos adicionales. Los niveles de las variables se establecieron con base en experimentos preliminares simples en los que se compararon las cantidades de grasa extraída en función de una sola variable manteniendo constantes las otras dos. De acuerdo al análisis granulométrico de la almendra de semilla de mango deshidratada y molida, el intervalo que mejores resultados y mejores posibilidades de su manejo práctico mostró, estuvo entre 1 y 1.41 mm de tamaño promedio de partícula. Las cantidades relativas de las fases estuvo acotada por el tamaño del aparato de extracción (300 mL de disolvente) y por los resultados de los ensayos preliminares donde se evidenció que cantidades grandes de material sólido provocaba una saturación del disolvente, obteniéndose bajos rendimientos de grasa extraída y, cantidades muy pequeñas presentaron dificultades prácticas en la medición experimental de los rendimientos. Los niveles extremos para esta variable fueron de 10 y 20 g material a extraer/300 mL de disolvente. Por último el intervalo de tiempo que resultó más interesante de analizar estuvo entre los 30 y 90 min para el contacto entre las fases sólida y líquida. Al diseño factorial 2^n se le agregaron suficientes puntos adicionales para poder ajustar los datos experimentales a un modelo de regresión de segundo orden. Resultaron así 15 puntos experimentales: 8 del modelo factorial 2^3 y 7 puntos adicionales (el punto central y 6 para valores de las variables a una distancia *alfa* unidades, de los valores centrales). El valor de *alfa* se calculó de acuerdo con la ecuación dada por Box y col. (1989):

$$alfa = [\rho N / (4q^2)]^{1/4} \quad (3-1)$$

donde:

$$\rho = [N_T^{1/2} - N^{1/2}]^2 \quad (3-2)$$

y N es el número de observaciones del diseño 2^n , q el número de replicados y N_T el número total de observaciones dado por $N + q(2n+1)$. Para el caso de las variables y niveles ya establecidos en esta investigación, resultó $\alpha = 1.215$ unidades de distancia del punto central. La matriz de diseño experimental se presenta en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Matriz de diseño experimental para la extracción de la GASM

Experimento	X_1^a	X_2 (min)	X_3 (mm)
1	10	30	1
2	20	30	1
3	10	90	1
4	20	90	1
5	10	30	1.41
6	20	30	1.41
7	10	90	1.41
8	20	90	1.41
9	15	60	1.205
10	21.077	60	1.205
11	8.923	60	1.205
12	15	96.462	1.205
13	15	23.538	1.205
14	15	60	1.454
15	15	60	0.955

a) En g de sólido/300 mL de disolvente

3.4.2 Análisis de efectos principales de las variables de extracción

Los experimentos proporcionan datos para realizar un análisis de los efectos principales, entendiéndose por “efecto de un factor” el cambio en la respuesta Y al ir del nivel inferior (-) al nivel superior (+) de ese factor; por ejemplo, del nivel bajo al alto, del tiempo de extracción. Los efectos principales miden el efecto medio de esa variable a todas las condiciones de las demás variables. También se realizó un cálculo de las interacciones entre dos factores, ya que éstos no se comportan necesariamente de manera aditiva, al igual que los efectos principales, las interacciones son una diferencia entre dos medias. El efecto principal para cada variable es la diferencia entre dos medias:

$$\text{Efecto principal} = Y_{m+} - Y_{m-} \quad (3-3)$$

donde Y_{m+} es la respuesta media para el nivel (+) de la variable e Y_{m-} es la respuesta media para el nivel (-), entonces:

$$\text{Efecto} = \frac{Ya1 + Ya2 + Ya3 + \dots + Yan}{n} - \frac{Yb1 + Yb2 + Yb3 + \dots + Ybn}{n} \quad (3-4)$$

donde $Ya1$ es la respuesta del valor alto y $Yb1$ es la respuesta del valor bajo dividido entre n que es el número de muestra que tienen esas respuestas es decir el valor +, pero con las mismas condiciones para X_1 , X_2 y X_3 (Montgomery, 1991). El cálculo de efectos principales se realizó mediante el programa STATISTICA (StatSoft, 1998).

3.4.3 Análisis de regresión y análisis de superficie de respuesta

Los datos experimentales se analizaron ajustándolos primero a un modelo de regresión de segundo orden, explorando luego los ajustes a modelos alternativos, lineal, lineal e interacciones o lineal mas efectos cuadráticos y analizando, mediante el coeficiente de determinación, R^2 , el porcentaje de explicación de la variabilidad del rendimiento de GASM. El modelo de regresión de segundo orden es :

$$Y = B_0 + B_1 X_1 + \dots + B_n X_n + B_{11} X_1^2 + \dots + B_{nn} X_n^2 + B_{12} X_1 X_2 + B_{n-1,n} X_{n-1} X_n + \varepsilon \quad (3-5)$$

Se caracterizó la superficie de respuesta para la exploración de condiciones óptimas globales mediante la realización de un análisis canónico (Box y col., 1989; Montgomery, 1991) y se elaboraron mapas de contorno y gráficas de superficie de respuesta que permiten el análisis de condiciones alternativas de extracción dentro del intervalo experimental de las variables. Se utilizó el paquete estadístico STATISTICA (StatSoft, 1998).

3.5 Propiedades fisicoquímicas de la GASM

Las propiedades fisicoquímicas de la grasa: índice de refracción, ácidos grasos libres, valor de yodo y valor de saponificación, se determinaron mediante las técnicas oficiales de análisis (Horwitz, 1980; AOAC, 1995).

3.5.1 Ácidos grasos libres

De acuerdo con esta técnica se pesaron 0.2 g de muestra a la que se le agregaron 5 mL de éter de petróleo (J. T. Baker) y 20 mL de alcohol etílico (J. T. Baker) neutralizado. La mezcla se tituló con NaOH 0.01N utilizando fenolftaleína (J. T. Baker) como indicador hasta la aparición de un color púrpura. Se calculó el porcentaje de ácidos grasos libres, como porcentaje de ácido oleico, considerando el título y el peso de la muestra.

3.5.2 Índice de yodo (Método de Wijs)

El valor de yodo denota el porcentaje en peso de halógeno, calculado como yodo, absorbido bajo las condiciones de la determinación. Para el procedimiento empleado, la muestra pesada se disolvió en 15 mL de tetracloruro de carbono dentro de un matraz Erlenmeyer. Se añadieron 25 mL de la solución de Wijs 0.2M (monocloruro de yodo en ácido acético glacial, Aldrich). El matraz se tapó, agitó y se dejó en reposo a 20°C durante 1h. Después, se añadieron 20 mL de solución acuosa de yoduro de potasio (Merck) al 10% y 150 mL de agua. La solución resultante se tituló con una solución valorada de tiosulfato de sodio (Sigma) 0.05M usando almidón como indicador. Se realiza un blanco de un modo paralelo a la determinación de las muestras.

3.5.3 Valor de saponificación

El valor de saponificación está relacionado a la masa molar de la grasa, indica el número de miligramos de hidróxido de potasio requeridos para saponificar un gramo de grasa. En esta determinación, se pesaron 4 g de grasa en un matraz de 250 mL provisto de un condensador de reflujo. Se añadieron 50 mL de solución etanólica de hidróxido de potasio (Sigma) 0.5M. La mezcla se calentó a ebullición y se agitó por 30 min. La solución jabonosa caliente resultante se tituló lentamente con una solución de HCl (Sigma) 0.5M utilizando fenolftaleína como indicador. Paralelamente a ello, se corrió un blanco.

3.5.4 Índice de refracción

Se determinó con un refractómetro Bausch and Lomb (modelo Abbe 3L; B & L Optical, Co.; Rochester, NY) a 40°C.

3.6 Patrón de ácidos grasos de la GASM

La composición de ácidos grasos presentes en la GASM se realizó mediante cromatografía gaseosa, acoplada a espectroscopia de masas, acorde con las metodologías descritas por

AOAC(1995), Bannon y col. (1982) y Hendrikse y col. (1994). En esta metodología, la grasa se convierte en los correspondientes ésteres metílicos de sus ácidos grasos, mismos que disueltos en heptano, se separan cromatográficamente en una columna empacada para, posteriormente, pasar a un espectrómetro de masas para su identificación por comparación de los espectros de estándares analizados con anterioridad.

3.6.1 Preparación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos

Aproximadamente 150 mg de la grasa seca se pesaron dentro de un matraz provisto de condensador de reflujo. Se agregaron a la muestra, 4 mL de solución metanólica de hidróxido de sodio (Sigma) 0.5M y la mezcla se hirvió con reflujo durante 5-10 min. A través del condensador se agregaron 5 mL de solución de trifluoruro de boro (Aldrich®; Sigma-Aldrich Química, S. A. de C. V., Toluca, México) y la ebullición se continuó durante otros 2 min. Posteriormente, se agregaron también por el condensador de 2 a 5 mL de heptano (grado HPLC, Sigma) y la mezcla se dejó en ebullición por 2 minutos más. Después de suspender el calentamiento se agregó una cantidad suficiente de solución saturada de cloruro de sodio para llevar el nivel del líquido al cuello del matraz. Aproximadamente 1 mL resultante de la capa de heptano se transfirió a un tubo de ensayo. La solución de ésteres metílicos de ácidos grasos en heptano se inyectó al cromatógrafo, registrándose el cromatograma y los espectros de masas correspondientes a cada ácido graso-metil-éster.

3.6.2 Cromatografía de gases-Espectroscopia de masas

El análisis de los ácidos grasos metil éster fue realizado en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard modelo 5890 serie II (Hewlett Packard, Co.; Palo Alto, CA; USA), acoplado a un espectrómetro de masas (JEOL modelo: SX-102 A) con un detector de ionización electrónica que permite la obtención de los espectros de masas de los compuestos. El sistema contó con una columna capilar AT Silar (Alltech Associates, Inc.; Deerfield, IL; USA) de 30 m de longitud por 0.32 mm de diámetro interno y con 0.25 µm de espesor de película. La identificación de los compuestos se llevó a cabo utilizando una base de datos Nist 75 que contiene alrededor de 75 000 compuestos, complementada con estándares internos de ácidos grasos metil-éster (Sigma). Se utilizó helio como gas acarreador a un flujo de 0.4 mL/min y a una presión a 50°C de 38 kPa, la temperatura del inyector fue de 250°C y la temperatura inicial del horno fue de 100°C. El programa de temperatura fue: 2 min a 100°C e incrementada, después, a 4°C/min hasta 180°C,

manteniéndola un tiempo final de 5 min. El analizador de masas funcionó en un intervalo de masa de 10:450 m/z.

3.7 Conducta térmica de la GASM: Fusión/cristalización

La calorimetría diferencial de barrido, CB (DSC, por sus siglas en inglés) es la técnica termoanalítica más empleada para grasas y aceites de origen biológico. Como se describió antes, esta técnica ha sido usada para estudiar varios fenómenos relacionados con el calor en diversos materiales mediante el seguimiento de cambios asociados a la entalpía; estos fenómenos en el estudio de las grasas y aceites son fundamentales para entender y dilucidar sus propiedades físicas y químicas, su comportamiento térmico y de transición sólido-líquido (McNaughton y Mortimer, 1975; Tan y Che-Man, 2000). Dada la necesidad de comparar la conducta térmica de la grasa de almendra de semilla de mango con otras grasas de origen vegetal mayormente conocidas y dado que resulta, a menudo difícil realizar comparaciones con datos de diversas fuentes por la escasa uniformidad de técnicas analíticas empleadas, para esta parte de la investigación, se efectuaron paralelamente varias pruebas experimentales para muestras de manteca de cacao, de procedencia comercial, dada la hipótesis de que la GASM mantiene gran semejanza en propiedades fisicoquímicas con la MC.

3.7.1 Perfiles de fusión y cristalización

Se utilizaron muestras de GASM, obtenidas y purificadas mediante el procedimiento descrito antes y muestras de manteca de cacao obtenidas de establecimientos comerciales. A estas últimas, se les realizó un análisis previo, también, de valores de yodo y de saponificación, y de composición de ácidos grasos.

Para analizar los perfiles de fusión y cristalización de las grasas, se utilizó la calorimetría diferencial de barrido; los equipos (DSC 910 y DSC 2910; TA Instruments, New Castle, DE; USA) estuvieron equipados con una estación de análisis térmico de datos (Thermal Analysis 2100). El gas de purga fue nitrógeno a una velocidad de flujo de 20 mL/min. El instrumento se calibró con indio (punto de fusión 156.6°C y ΔH_f de 28.45 J/g). Las muestras de entre 5 y 15 mg se pesaron en una termobalanza (TA Instruments, mod. 2950), en cápsulas de aluminio (TA Instruments, número de parte 900793.901 y 900794.901) con

exactitud de 0.1mg y selladas herméticamente. Una cápsula del mismo tipo vacía y sellada se usó como referencia. Para evidenciar el efecto de la historia térmica en los perfiles térmicos de las muestras, previo a las corridas experimentales, las muestras de GASM y MC, fueron objeto de un proceso de templado consistente en: Calentamiento a 90°C durante 5 min, enfriamiento a 24°C y mantenimiento a esa temperatura por 24 horas, almacenamiento por 15 días a 5°C. Este tratamiento se utilizó a lo largo de la investigación del comportamiento térmico, para la preparación de muestras estabilizadas de la GASM, MC o de sus mezclas. El programa de temperatura en el calorímetro fue:

- a) Enfriamiento a -60°C y calentamiento a 10°C/min hasta 90°C. Registro del perfil de fusión.
- b) Calentamiento a 90°C por 10 min y enfriamiento a 10°C/min hasta -60°C. Registro del perfil de cristalización.
- c) Calentamiento a 90°C, enfriamiento a -60°C por 10 min y calentamiento a 10°C/min hasta 90°C. Registro del perfil y entalpía de fusión.

Las entalpías de fusión necesarias para fundir los cristales de las muestras de grasas y las entalpías de cristalización necesarias para solidificarlas se calcularon mediante la integración del área comprendida entre la curva y la línea base de los termogramas respectivos. Los intervalos de temperatura de fusión y cristalización se determinaron con base en los termogramas, mediante la identificación, en las curvas, de las temperaturas de inicio (*onset*) y terminación (*offset*) de los cambios de fase.

3.7.2 Contenido de grasa sólida

La cantidad de sólidos de las grasas en función de la temperatura fue calculada con base en los experimentos realizados en el calorímetro, con ayuda del paquete de cómputo Origin (Microcal, 1999). Como es sabido el contenido de grasa sólida, CGS (SFC, por sus siglas en inglés) depende de la temperatura y, por tanto, estos valores se pueden expresar como una función de la temperatura. Esta función se calcula mediante una integración secuencial del termograma de fusión y mediante la normalización de los valores obtenidos, con el área total de la curva que comprende la entalpía total de fusión (Lambelet y Raemy, 1983), esto es:

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

$$CGS(T) = SFC(T) = \frac{\int_{T_0}^T H(T)dt}{\int_{T_0}^{T_1} H(T)dt} \quad (3-6)$$

Con esto, se calcularon las áreas parciales del termograma de fusión en función de la temperatura, para luego correlacionarlas con el porcentaje de sólidos, considerando que a -60°C, las muestras de grasa son 100% sólidas.

3.8 Polimorfismo de la GASM

Las formas y conducta polimórficas se analizaron mediante calorimetría diferencial de barrido y difracción de rayos X (medición de espacios cortos), mediante la incubación de las muestras de grasa a diferentes temperaturas y periodos de tiempo, como se describe más adelante, provocando con ello diferentes “historias térmicas” y favoreciendo la prevalencia de las diferentes formas cristalinas (D’Souza y col. 1990).

3.8.1 Investigación de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido

El estudio de las posibles formas cristalinas de la GASM fueron efectuadas tomando como base lo delineado por Talbot (1995) para el análisis de los polimorfos de la manteca de cacao mediante calorimetría diferencial de barrido. Las pruebas se realizaron para la GASM, adaptando, en lo general, las condiciones presentadas en la Tabla 3.2, descrita por Talbot (1995), para los seis polimorfos de la MC, tipificados por 1) Wille y Luton (1966) equivalentes a los descritos por 2) Larsson (1966). La diferencia en las conductas de fusión indica la existencia de formas cristalinas diferentes.

3.8.2 Patrón de difracción de Rayos X de la GASM

Para las pruebas de difracción de rayos X se utilizó un difractómetro de rayos X (Philips, PW1710, Cincinnati, OH) con radiación Cu-K α ($\lambda=1.5418\text{\AA}$) y equipado con un contador de cintilaciones. Los datos se colectaron de 1 a 40 $^{\circ}\theta$, con intervalos de 0.05 $^{\circ}$ y 5s operando a temperatura ambiente. El aparato estuvo dotado de un programa de cómputo que calcula la intensidad de absorción máxima y mínima y la amplitud de los picos en grados para cada una de las formas cristalinas y su contenido relativo. La fracción de cada forma se puede

calcular a partir por ejemplo de las intensidades de los espacios cortos de 3.8 y 4.2 Å, para la forma cristalina β' y de la intensidad de los espacios cortos a 4.6 Å para la forma β .

Tabla 3.2 Condiciones para el análisis de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido, CB

Polimorfo (1) ^a	Polimorfo (2) ^b	Condiciones
Forma I	Sub- α	Calentamiento a 100°C por 2 minutos antes de enfriar hasta 0°C. Calentamiento inmediato hasta fusión completa
Forma II	α	Igual que el anterior excepto que a 0°C se mantiene durante 15 minutos antes de calentar hasta la fusión de la muestra
Forma III	Mezclado o β_2'	Estabilización, de 100°C hasta 16°C manteniéndose ahí por 1h, llevar a 10°C por 15 minutos, antes de calentar hasta fusión
Forma IV	β_1'	Estabilización de 100°C hasta 5°C y mantenimiento a esta temperatura durante 16 h, después mantener a 0°C por 5 min y calentar hasta fusión a la misma velocidad
Forma V	β_2	Estabilización mediante incubación a 20°C por 11 días, después mantener a 18°C por 5 minutos, previo a su análisis en el calorímetro
Forma VI	β_1	Estabilización mediante incubación a 20°C por varios meses

a) Según la nomenclatura de Wille y Lutton (1966); b) Los subíndices 1 y 2 se usan para indicar las formas de más alto y más bajo punto de fusión con igual arreglo cristalino

Se investigó la evolución de los patrones de difracción de rayos X de la GASM y de la MC. Para ello, muestras de cada una de estas grasas se fundieron mediante calentamiento a 90°C, durante 10 minutos; se enfriaron a 0°C durante 15 minutos y se mantuvieron a 22°C durante 0, 1.5, y 24 h y 2, 5, 6, 12, 20 y 25 días, al término de cada uno de estos periodos se obtuvieron los patrones de difracción de cada grasa. Los espaciamentos cortos y las intensidades relativas de cada señal en los patrones de difracción resultantes, se compararon con las tipificaciones de cada polimorfo encontradas en la literatura (D'Souza y col., 1990).

Las formas cristalinas predominantes de la GASM mostradas en la exploración anterior, se investigaron ulteriormente de acuerdo con la Tabla 3.3 que proporciona las formas polimórficas esperadas de acuerdo a las condiciones de temperatura y tiempo de incubación, así como los espaciamentos cortos más intensos característicos de cada polimorfo.

Tabla 3.3 Condiciones para la investigación de polimorfos mediante difracción de rayos X, DRX

Polimorfo	Condiciones	Patrón de Difracción RX
α	Enfriamiento rápido después de la fusión hasta 0°C estabilizando a esa T por 15 min	Un espacio corto a 4.15 Å
β' o Mezclado	Fusión a 90°C, enfriamiento a 16°C, mantenimiento a esta T durante 1h, luego a 10°C por 15 min	Dos espacios cortos en 3.80 y 4.20 Å o tres espacios cortos a 4.27, 3.97 y 3.71 Å
β	Fusión a 90°C, enfriamiento a 0°C, incubación a 26°C por lo menos 40h	Tiene un fuerte espacio corto, intenso en cerca de 4.60 Å

3.9 Cinética de cristalización

La cinética de cristalización se estudió de acuerdo a la metodología delineada por Koyano y col. (1989) y se estudió isotérmicamente. Los experimentos se realizaron con ayuda de la calorimetría diferencial de barrido (CB). En condiciones isotérmicas las muestras a 80°C se enfriaron rápidamente a una temperatura preestablecida y se mantuvieron a esta temperatura, en el calorímetro, el tiempo suficiente para que la muestra cristalizara obteniéndose los termogramas isotérmicos correspondientes.

Las temperaturas se seleccionaron de acuerdo a lo delineado y recomendado por TA Instruments (1997) y después de realizar pruebas preliminares; puesto que, temperaturas demasiado bajas provocaron cristalizaciones demasiado rápidas y temperaturas muy altas produjeron tiempos de inducción demasiado largos. Se seleccionaron las temperaturas de 8, 10 y 12°C y se realizaron las corridas de cristalización isotérmica determinándose los tiempos de inducción para la cristalización así como la evolución de las fracciones de sólidos en función del tiempo a esas temperaturas. Se analizó la cristalización de la GASM en términos de los modelos de Sestak-Berggren y de Avrami (Sestak, 1984; Foreman y Blaine, 1998; Avrami, 1940; Khanna y Taylor, 1988).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.9.1 Modelos de cristalización isotérmica

3.9.1.1 Modelo Sestak-Berggren

Con ayuda del *software* Thermal Solutions (TA Instruments, 1997) se probó el ajuste de los datos experimentales obtenidos de las corridas de cristalización isotérmica, al modelo auto-catalizado conocido como modelo Sestak-Berggren, mismo que está definido por la ecuación 2-12. Esto es,

$$\frac{dC}{dt} = kC^m(1-C)^n$$

en la que C es la fracción de grasa cristalizada, dC/dt es la velocidad de cristalización, k es la constante específica de velocidad de cristalización, y m y n son números que representan el orden de reacción, siendo m un orden de reacción independiente. La adecuación del modelo se juzgó por el grado de cercanía de los datos experimentales a la línea de regresión en un gráfico de $\text{Log}(dC/dt)$ vs $\text{Log}[(1-C)C^{(m/n)}]$. Si la coincidencia es estricta el modelo es pertinente, en caso contrario debe considerarse otro modelo (TA Instruments, 1997).

Se estimó la energía de activación en el contexto del modelo auto-catalizado de acuerdo con la metodología descrita por Sichina (1998) en la que la pendiente de la recta de regresión en un gráfico de $1/T$ contra $\ln t$, proporciona el valor de E_a/R , donde t es el tiempo del máximo exotérmico durante la cristalización isotérmica.

3.9.1.2 Modelo de Avrami

Las fracciones de sólidos en función del tiempo durante la cristalización isotérmica de la GASM, $F = f(t)$, se ajustaron, mediante regresión, al modelo original de Avrami, de acuerdo con la ecuación 2-14 ya vista. Esto es,

$$1 - F = \exp(-Zt^r)$$

En un gráfico de $\ln t$ vs $\ln[-\ln(1-F)]$ y usando F entre 0.25 y 0.75 (Avrami, 1940). El parámetro r se estimó por la pendiente de la línea de regresión y Z del intersepto ($\ln Z$).

De igual modo, las fracciones de sólidos en función del tiempo $F = f(t)$, se ajustaron, mediante regresión, al modelo modificado por Khanna y Taylor, representado por la ecuación 2-15. Esto es,

$$1 - F = \exp(-Zt)^r$$

Se construyeron gráficos $\ln t$ vs $\ln[-\ln(1-F)]$ y usando F entre 0.25 y 0.75 para cada una de las temperaturas de cristalización (Khanna y Taylor, 1988). El parámetro r se calculó en términos de la pendiente de la línea de regresión y Z del intersepto ($r \ln Z$). La dependencia de Z respecto de la temperatura de cristalización se analizó mediante la ecuación de Arrhenius (ecuación 2-11), calculándose la energía de activación (E_a) y el factor pre-exponencial (A_0) de la ecuación.

3.10 Análisis de mezclas GASM-MC

Se realizó un análisis de la compatibilidad de la GASM en mezclas con grasas de uso industrial como la manteca de cacao, mediante la elaboración de diagramas de fase binarios y ternarios.

3.10.1 Comportamiento térmico de mezclas GASM y MC

Se produjo una matriz de 10 muestras de mezclas de grasa de almendra de semilla de mango y manteca de cacao. Cada muestra se preparó por duplicado. Los perfiles de fusión se estudiaron mediante calorimetría diferencial de barrido, con el equipo descrito antes en 3.7.1. Las muestras se corrieron unas sin estabilización y otras, previa estabilización. En el primer caso, los termogramas de fusión se registraron después de haber calentado cada muestra a 90°C, y enfriado a 0°C durante 10 minutos. El programa de temperatura en el calorímetro fue: Calentamiento a 10°C/min hasta 90°C, mantenimiento a esta temperatura durante 10 minutos, enfriamiento a -60°C y registro del termograma de fusión a una velocidad de 10°C/min. Las muestras estabilizadas, primero se enfriaron hasta -60°C para después registrar su comportamiento de fusión durante el calentamiento a 10°C/min. La Tabla 3.4 muestra las composiciones, en fracción en peso de cada constituyente de las mezclas estudiadas.

3.10.2 Contenido de sólidos de las mezclas binarias de GASM y MC

Cada una de las mezclas resultantes fue investigada en cuanto al comportamiento de las relaciones entre las fases sólida y líquida, mediante el cálculo del CGS en función de la temperatura, de acuerdo con la metodología descrita antes en 3.7.2.

Tabla 3.4 Matriz de diseño de las mezclas GASM-MC

Corrida	Fracción en peso, GASM	Fracción en peso, MC
1	1.00	0
2	0	1.00
3	0.10	0.90
4	0.25	0.75
5	0.40	0.60
6	0.50	0.50
7	0.50	0.50
8	0.60	0.40
9	0.75	0.25
10	0.90	0.10

3.10.3 Diagramas de fase de las mezclas binarias GASM-MC

La compatibilidad en el mezclado de la GASM y MC se analizó mediante la elaboración de diagramas de fase binarios que muestran líneas de isosólidos en función de la composición de las mezclas y de la temperatura. Estos diagramas se construyeron de acuerdo con la metodología descrita por Lambelet y Raemy (1983) y con los paquetes de cómputo Origin (Microcal, 1999) y Statistica (StatSoft, 1998).

3.11 Análisis de mezclas GASM-MC-GAZM

En esta parte de la investigación, se analizó el comportamiento térmico de las mezclas de GASM, MC y la grasa de almendra de zapote mamey (*Pouteria sapota*), GAZM, mediante calorimetría diferencial de barrido, se analizó la conducta térmica de estas mezclas mediante la estimación de sus contenidos de sólidos en función de la temperatura y su comportamiento ternario de fase mediante la construcción de diagramas ternarios de isosólidos.

3.11.1 Obtención y caracterización de la GAZM

La GAZM se obtuvo y se purificó de un modo semejante a la GASM (apartado 3.3.2). Se utilizaron almendras de frutos maduros de zapote mamey (*Pouteria sapota*) y la extracción se realizó en aparato Soxhlet utilizando disolvente hexano. Las almendras fueron previamente deshidratadas hasta un porcentaje de humedad entre 10 y 14%.

La GAZM se caracterizó en cuanto a sus propiedades físicas más relevantes y a su composición en ácidos grasos. Se siguió la metodología apuntada en 3.5 y 3.6.

3.11.2 Preparación de las mezclas ternarias de GASM, MC y GAZM

Se produjo una matriz de los constituyentes y sus mezclas en diferentes proporciones de acuerdo a un modelo experimental de red simple, aumentada con puntos interiores y centroide (StatSoft, 1998) que permite el ajuste a un polinomio de segundo orden y orden superior. La Tabla 3.5 muestra la matriz de diseño.

3.11.3 Perfiles de fusión y cristalización de las mezclas ternarias

Las características de fusión y solidificación de las mezclas se estudiaron mediante calorimetría diferencial de barrido, siguiendo la metodología delineada para las mezclas binarias, reportada antes.

Cada mezcla especificada en la matriz de diseño, fue preparada por duplicado. Todas las muestras fueron estabilizadas de la siguiente forma: Calentamiento hasta fusión a 90°C por 10 minutos, enfriamiento a 0°C durante 30 minutos, incubación a 5°C durante 24 horas y aproximadamente a 26°C por lo menos durante 40h. Previo al programa de temperatura en el calorímetro, enfriamiento a -40°C, calentamiento a 10°C/min hasta 90°C, manteniendo la muestra a esta temperatura durante 10 minutos y enfriamiento hasta su cristalización a una velocidad de 10°C/min. Se obtuvieron los termogramas de fusión y cristalización de cada una de las mezclas especificadas en el diseño experimental.

3.11.4 Contenido de sólidos de las mezclas ternarias

El contenido de sólidos de las muestras en función de la temperatura se calculó conforme a la metodología delineada en el inciso 3.7.2.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

3.11.5 Perfil del contenido de grasa sólida

Se graficó el contenido de grasa sólida en función de la temperatura de cada mezcla para el intervalo que comprende las temperaturas a las que usualmente se mide el contenido de sólidos en las grasas 10.0, 21.1, 26.7, 33.3, 37.8 y 40.0°C que generalmente relacionan las características físicas del producto graso dentro del rango de temperatura en que se usa; por ejemplo 10°C, en el caso de las margarinas, evalúa su característica untable a la temperatura de refrigeración; a 21.1°C su resistencia a liberar aceite a la temperatura ambiente y a 33.3°C y 37.8°C su comportamiento de fusión a la temperatura de la boca y temperaturas próximas a la temperatura corporal de los humanos (O'Brien, 1998).

Tabla 3.5 Matriz de diseño. Sistema GASM-MC-GAZM

Muestra	Fracción en peso		
	GASM	MC	GAZM
GASM	1.000	0.000	0.000
MC	0.000	1.000	0.000
GAZM	0.000	0.000	1.000
Mezcla A	0.500	0.500	0.000
Mezcla B	0.500	0.000	0.500
Mezcla C	0.000	0.500	0.500
Mezcla D	0.667	0.167	0.167
Mezcla E	0.167	0.667	0.167
Mezcla F	0.167	0.167	0.667
Mezcla G	0.333	0.333	0.333

GASM=Grasa de almendra de semilla de mango, MC=Manteca de cacao,
GAZM=Grasa de almendra de semilla de zapote mamey

3.11.6 Diagramas ternarios de fase

Se construyeron diagramas ternarios de fase que muestran las composiciones de las mezclas de GASM, MC y GAZM a las cuales el contenido de sólido de una mezcla es equivalente para diferentes temperaturas. Esto se realizó mediante el ajuste de los datos experimentales a un modelo de regresión de segundo orden con ayuda del paquete estadístico Statistica (StatSoft, 1998).

Resultados y discusión

4.1 Caracterización fisicoquímica de frutos de mango var. Manila

Los frutos en sus dos versiones, tiernos y maduros, se caracterizaron de una manera subjetiva por su apariencia y de un modo objetivo, mediante análisis físicos y químicos. Los especímenes tiernos con una forma elongada y longitud de entre 8 y 15 cm fueron de color verde fuerte. Los especímenes maduros por su parte fueron también de la misma forma elongada, con longitudes que fluctuaron entre los 9 y 17 cm y colores desde el verde tierno hasta el amarillo claro. Algunas observaciones importantes respecto las partes constitutivas de los frutos fueron que, mientras el mango tierno tuvo una pulpa amarillo pálido, sabor agridulce y consistencia muy firme, un hueso o semilla de consistencia blanda y una almendra sin tegumento y también notablemente blanda, los frutos maduros presentaron un color amarillo más fuerte, sabor más dulce y consistencia más suave que los tiernos, una semilla más definida y dura con una almendra bien formada, cubierta de un tegumento de color café claro.

4.1.1 *Peso y porcentaje de cada porción constitutiva de la fruta*

El peso promedio de los mangos tiernos fue de 270.3 g y de los maduros de 298.0 g como se consigna en la Tabla 4.1. En ella puede observarse que, en promedio, los individuos maduros tuvieron porciones de pulpa, cáscara y semilla más grandes en términos absolutos, en términos de porcentaje, la pulpa y la cáscara, tuvieron un tamaño relativo menor, debido principalmente al completo desarrollo de la semilla y principalmente de la almendra de los mangos maduros. En general, las cifras coinciden con otros datos reportados, tanto para algunas variedades de mango importantes en México, como para otras variedades importantes en el mundo. En éstos se reportan porcentajes para especímenes maduros donde la pulpa es entre 60 y 73% y la semilla (almendra más cubierta) entre 10 y 18% del peso total del fruto; de esta última, la almendra de algunas variedades de interés comercial en México (Tabasco, Paraíso, Manila, Heidi y Oro) puede representar desde un 5 hasta un 8% (Singh, 1960; Dhingra y Kapoor, 1985; Jiménez-Bermúdez y col., 1995).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las pequeñas diferencias encontradas entre las porciones constituyentes de los mangos *tiernos* y *maduros* son características de la diferencia entre los estados fisiológicos considerados, donde el estado *tierno* mantiene todavía células con paredes delgadas y protoplasma y núcleos grandes propias del estado embrionario y tejidos vacuolizados en proceso de definición y diferenciación, propios del estado juvenil y, el estado de madurez, con tejidos ya bien diferenciados, supone un equilibrio entre las tasas metabólicas sintéticas y degradativas que, en el caso de las semillas del fruto, puede dirigir al denominado estado de letargo, necesario para la reproducción.

La Figura 4.1 presenta, mediante una gráfica de barras, una comparación del peso relativo de cada porción de los frutos tiernos y maduros. En ella puede observarse que no hay una diferencia clara en cuanto a la contribución del peso de cada porción al total del fruto. No obstante, según se observó, anteriormente los mangos maduros tuvieron un tegumento y una almendra bien constituida y, proporcionalmente, de mayor peso que los mangos tiernos.

Tabla 4.1 Porciones constituyentes del mango Manila en estado tierno y maduro

Partes de la fruta	Tierno			Maduro		
	Promedio ^a (g)	Desviación estándar	%	Promedio ^a (g)	Desviación estándar	%
Pieza Completa	270.33	23.33	100	298.08	22.210	100
Pulpa	183.66	9.19	67.93	198.26	12.891	66.51
Cáscara	43.46	14.01	16.07	48.05	2.869	16.11
Hueso	30.33	3.623	11.21	34.85	4.803	11.69
Tegumento	--	--	--	0.012	.002	0.004
Almendra	12.40	2.364	4.58	16.66	2.678	5.58

a) Valores promedio de 3 muestras

4.1.2 Composición química de la pulpa de mango Manila

En general, hay una complejidad de cambios químicos en los componentes de las frutas durante su desarrollo, de los cuales algunos propician diferencias organolépticas claras y otras quedan para ser analizadas fisicoquímicamente por otras vías. Por ejemplo en las frutas como el mango, donde la porción comestible es la pulpa, las características de ésta han sido el indicador para determinar su estado de desarrollo fisiológico. Tripathi (1980), Morga y col. (1979), De-León y De-Lima (1968), Shashirekha y Patwardhan (1976), entre otros, han estudiado algunos cambios fisicoquímicos de mangos de diferentes variedades durante su maduración. Es sabido, por ejemplo, que el sabor de la fruta está basado en el

balance entre azúcares y ácidos orgánicos y de numerosos compuestos componentes del aroma. Se ha demostrado que durante la maduración el mango muestra un decremento en la acidez a la par de un incremento en los azúcares. La acidez por lo general se asigna mediante el pH o mediante la acidez titulable, habiendo poca información disponible sobre el metabolismo individual de los ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos predominantes son el ácido cítrico y en menores cantidades el succínico, el málico y el tartárico (Medlicott y Thompson, 1985).

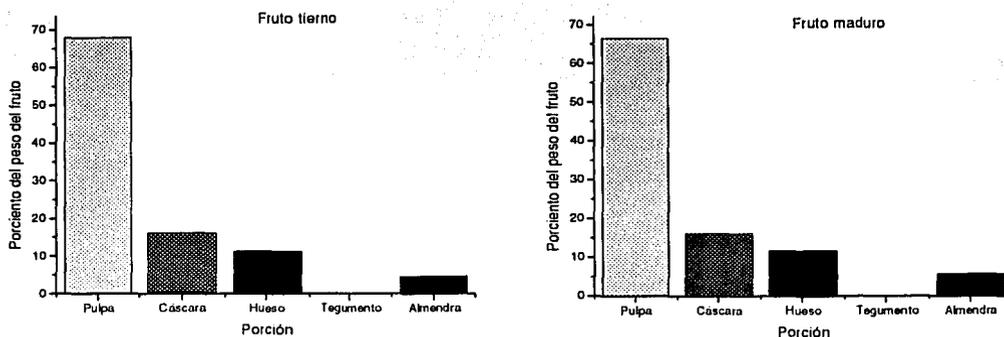


Figura 4.1 Comparación del porcentaje de cada porción en el total del peso de mangos Manila tiernos y maduros

El contenido de azúcares del mango usualmente ha sido asignado mediante los sólidos solubles o mediante los azúcares reductores y no reductores. Los azúcares predominantes en el mango maduro son la glucosa, la fructosa y la sacarosa (Medlicott y Thompson, 1985). Morga y col. (1979) han mostrado que los niveles de almidón en los mangos no maduros, que es considerablemente elevado en este estadio del desarrollo de la fruta (del orden de 11.4 g/100g de pulpa fresca), cae a un nivel de cero en los frutos maduros. La Tabla 4.2 Muestra el resultado del análisis químico de las pulpas de mangos tiernos y de mangos maduros. Las primeras, tuvieron en promedio una humedad de 74.57% y un valor de pH de 3.40. El porcentaje en b.s. de azúcares fue de 24.5%, extracto libre de nitrógeno de 66.73%, cenizas 1.11%, acidez titulable 7.55% y taninos 0.089%. Las pulpas de mangos maduros tuvieron una humedad de 85.07%, en promedio, un valor de pH de 4.51 y una acidez titulable de 4.10% b.s. Los azúcares totales llegaron a un 90.2% b.s. y el ELN de sólo 3.02%; las cenizas 2.59% y los taninos de 0.018% b.s.

La Figura 4.2 muestra la comparación de los resultados de la composición de las pulpas de mangos Manila tiernos y maduros. En ella se observa que, a diferencia de la semejanza en el peso relativo de cada porción, hay una evidente diferencia entre las composiciones de ambos estados de desarrollo fisiológico, en el contenido total de azúcares, ácidos orgánicos y de carbohidratos complejos englobados en el extracto libre de nitrógeno.

Tabla 4.2 Análisis químico de las pulpas de mangos Manila tierno y maduro

Determinación	Tierno		Maduro	
	Promedio ^a	Desviación estándar	Promedio*	Desviación estándar
Humedad, %	74.57	0.26	85.07	0.06
Valor de pH	3.40	0.23	4.51	0.09
% base seca				
Cenizas	1.11	0.22	2.59	0.08
Azúcares totales	24.50	1.05	90.25	0.62
Acidez titulable	7.55	0.25	4.10	0.29
Taninos	0.089	0.008	0.018	0.0011
E.L.N. ^b	66.7382	1.04	3.02	0.25

a) Valores promedio de 3 determinaciones

b) Extracto libre de nitrógeno

De los resultados señalados se hace evidente la diferencia en las características químicas de las pulpas de los mangos tiernos y los maduros. Éstos, coinciden, en general, con algunos reportados durante estudios de maduración de mangos de otras variedades importantes (Medlicott y Thompson, 1985; Morga y col., 1979; Tripathi, 1980).

4.1.3. Composición de las almendras de mango Manila

La Tabla 4.3 presenta los resultados de los análisis químicos realizados a la almendra de los frutos del mango Manila en los estados fisiológicos tierno y maduro. La humedad promedio de las almendras tiernas fue de 32.98%. Los contenidos promedio b.s. de cenizas, grasa, fibra cruda, proteínas y ELN fueron de 1.45, 5.28, 1.24, 1.80 y 90.14% respectivamente. Los taninos estuvieron presentes en un 0.05% y los cianuros en un 0.01% b.s.

La Figura 4.3 presenta gráficamente la comparación de las composiciones de las almendras de mango en los dos estados de desarrollo fisiológico estudiados. Se hacen evidentes las diferencias en cuanto a los mayores contenidos de grasa, fibra cruda y proteínas de las almendras plenamente desarrolladas y el menor porcentaje del ELN. En términos del presente estudio, los análisis muestran la posibilidad de obtener mayores rendimientos de

grasa durante la extracción de almendras de mangos en estado de madurez fisiológica. Las almendras de semilla de mango en el estado de desarrollo fisiológico maduro tuvieron una humedad promedio de 19.80% y la presencia de cenizas, grasas, fibra cruda, proteínas y ELN fue de 2.08, 9.36, 7.58, 4.6 y 69.25% b.s.; mientras que los taninos y los cianuros alcanzaron las cifras de 1.60 y 0.006% b.s., respectivamente. Estos resultados están dentro de los valores encontrados por otros autores en almendras de mangos de otras variedades importantes (Lakshminarayana y col., 1983; Lasztity y col., 1988; Maurya y Chawdhary, 1977). En otros trabajos, Dhingra y Kapoor (1985) y Jiménez-Bermúdez y col. (1995) encontraron para frutos en estado de madurez fisiológica valores de contenido de lípidos de la almendra de mango de 7.82% y 6.97% para las variedades Chausa y Dusheri, respectivamente, y de 7.56, 7.58, 12.00, 12.67 y 13.61% b.s. para las variedades Oro, Tabasco, Heidi, Paraíso y Manila, respectivamente.

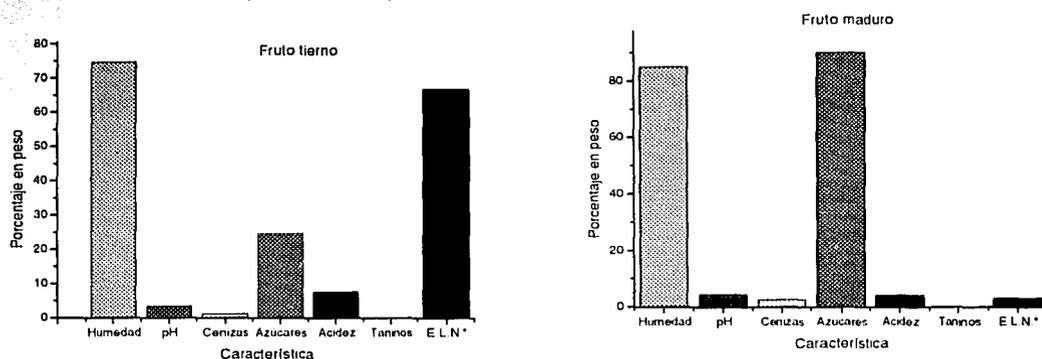


Figura 4.2 Comparación de la composición de la pulpa de mangos tiernos y maduros

Tabla 4.3 Composición química de las almendras de mangos Manila tierno y maduro

Determinación	<i>Tierno</i>		<i>Maduro</i>	
	Promedio ^a	Desviación estándar	Promedio ^a	Desviación estándar
Humedad, %	32.98	1.63	19.80	1.17
Cenizas	1.45	0.012	2.08	0.036
Grasa	5.28	1.13	9.36	1.87
Fibra cruda	1.24	0.06	7.58	0.32
Proteínas	1.80	0.02	4.62	0.13
Taninos	0.04	0.004	1.60	0.034
Cianuros	0.01	0.0007	0.006	0.0010
E.L.N. ^b	90.14	0.86	69.25	6.18

a) Valores promedio de 3 determinaciones; b) Extracto libre de nitrógeno

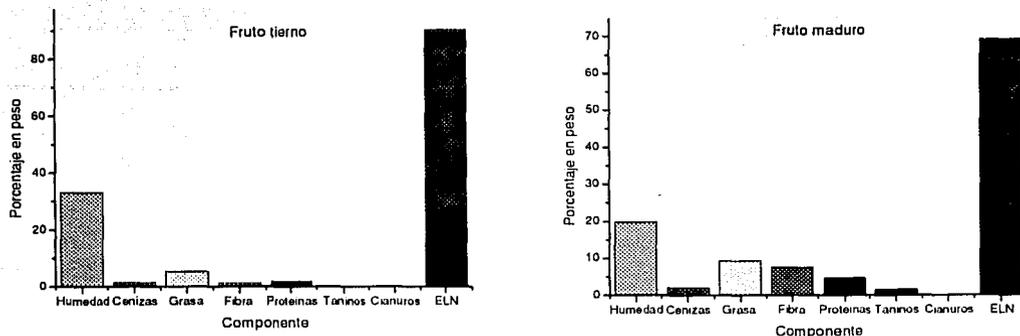


Figura 4.3 Comparación de la composición de las almendras de semilla de mango tierno y maduro

4.2 Obtención de la grasa de las almendras de mango Manila maduro (GASM)

4.2.1 Extracción y purificación de la grasa

La extracción de la grasa de la almendra de mango se realizó, primero, para obtener la GASM en cantidad y calidad suficiente y tenerla disponible para los diferentes estudios y análisis ulteriores, dado el carácter estacional de producción de la fruta y, segundo, con el fin de analizar los rendimientos de la grasa durante la extracción, a nivel laboratorio y considerar el efecto de las variables más obvias dentro del proceso extractivo mediante percolación de las almendras con el disolvente hexano. En el primer caso, la GASM se extrajo con hexano a partir de semillas molidas, previamente deshidratadas hasta una humedad de 10-14% y en aparato Soxhlet, hasta el agotamiento de las harinas. La micela resultante se trató mediante el método de purificación ya descrito, rindiendo una grasa con consistencia sólida a una temperatura ambiente de 20-22°C, de color blanco-crema y olor característico.

4.2.2 Análisis del proceso de extracción

4.2.2.1 Deshidratación y reducción de tamaño

La deshidratación de las almendras de semilla de mango hasta una humedad de 10-14% requirió entre 8 y 10 horas en estufa a temperatura de 70°C. La reducción de tamaño

produjo una mezcla de partículas de almendra de diferentes tamaños, cuya clasificación se muestra en la Tabla 4.4. En ella se puede observar que 73.24 g de muestra por cada 100 g de muestra molida tuvo partículas cuyo tamaño fluctuó entre 0.842 mm y 4.76 mm; el 26.76% restante tuvo tamaños superiores a este último valor. Las fracciones clasificadas se utilizaron para la preparación de las muestras sujetas a extracción, con los tamaños promedio de partícula indicados por el diseño experimental.

Tabla 4.4 Análisis granulométrico de la almendra de semilla de mango molida

Malla	d_i^a	X_i^b	ΣX_i^c	$1-\Sigma X_i^d$
4	4.76	0.2676	0.2676	0.7324
8	2.38	0.1816	0.4492	0.5508
10	1.68	0.1144	0.5636	0.4364
12	1.41	0.0788	0.6424	0.3576
14	1.19	0.1087	0.7511	0.2489
16	1	0.0528	0.8093	0.1907
20	0.841	0.1904	1	0

a) d_i = Diámetro del tamiz, mm; b) X_i = Fracción de peso retenida en cada tamiz;

c) ΣX_i = Total acumulado de retenidos hasta cada tamiz; d) $1-\Sigma X_i$ = Total que pasó hasta cada tamiz

4.2.2.2 Rendimientos de extracción

La Tabla 4.5 muestra los resultados en término del peso del extracto y el porcentaje de lípidos extraídos, en base seca, de la almendra de semilla de mango deshidratada, en aparato Soxhlet con hexano, de acuerdo al diseño experimental. La humedad de las muestras sujetas a extracción fue en lo general, de 12.8%, en promedio, salvo donde se indica otro porcentaje.

De acuerdo con los resultados mostrados en la Tabla 4.5, se pudo obtener un mínimo de 4.69 y un máximo de 8.0 g de grasa/100g de almendras secas, bajo las condiciones experimentales estudiadas. Es importante indicar que los resultados que muestra la tabla corresponden a los niveles indicados por el diseño experimental que, para el caso del tiempo, el valor máximo correspondió a 96.46 minutos. El contenido de grasa determinado en 4.1.3 con eter anhidro durante un tiempo más prolongado de extracción fue de $9.36 \pm 1.87\%$ b.s.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.5 Cantidades de grasa extraída de la almendra de semilla de mango^a

Experimento	Variables			Grasa extraída		
	X ₁ ^b	X ₂ (min)	X ₃ (mm)	Peso (g)	% b.h.	% b. s.
1	10	30	1	0.59	5.92	6.79
2	20	30	1	1.22	6.13	7.03
3	10	90	1	0.69	6.97	8.00
4	20	90	1	1.18	5.90	6.77
5	10	30	1.41	0.46	4.60	5.27
6	20	30	1.41	0.81	4.09	4.69
7	10	90	1.41	0.55	5.54	6.37
8	20	90	1.41	0.94	4.72	5.42
9	15	60	1.205	0.80	5.34	6.13
10	21.077	60	1.205	1.09	5.26	6.04
11	8.923	60	1.205	0.49	5.54	6.35
12	15	96.462	1.205	0.97	6.51	7.46
13 ^c	15	23.538	1.205	0.76	5.08	5.85
14	15	60	1.454	0.61	4.13	4.73
15	15	60	0.955	0.87	5.82	6.67

a) a una humedad de 12.8%

b) g de sólido/300 mL de disolvente

c) A una humedad de 13.2%

4.2.3 Efecto de la relación S-L, tamaño de partícula y tiempo de extracción en los rendimientos

La Tabla 4.6 muestra los valores estimados de los efectos principales de las variables durante la extracción de la GASM con hexano. Las probabilidades asignadas indican que son significativos, el efecto promedio así como la cantidad (lineal), el tiempo (lineal y cuadrático) y el tamaño (lineal). Como se hace evidente, la variable que más contribuyó al rendimiento de grasa extraída, es el tiempo, puesto que al ir de un tiempo (en sus efectos lineal y cuadrático) de 30 a 90 minutos incrementa en un 1.62% la cantidad de GASM extraída. En el caso del tamaño de partícula de la almendra, un cambio hacia un mayor tamaño dentro de los intervalos estudiados ocasiona, durante la extracción, una disminución en el rendimiento, lo que está explicado por los requerimientos del proceso de transferencia de masa, en el sentido de que un tamaño grande resulta en menores áreas de contacto entre las fases.

El efecto de la cantidad también está representado por un valor negativo, dado que, en lo general, la cantidad de disolvente de 300 mL hace que cualquier aumento en la cantidad, se traduzca en mayores relaciones sólido/disolvente con lo que la saturación de este último por

el soluto extraído es más rápida y con ello la velocidad de transferencia y, por tanto, los rendimientos son menores. El valor absoluto del efecto de la relación S-L, muestra la influencia que tiene sobre los rendimientos, la saturación del disolvente por el soluto extraído. La Tabla 4.6 también está mostrando el efecto que ocasionan las interacciones de las variables, dentro de los valores experimentales ensayados.

Tabla 4.6 Efectos principales y efecto de las interacciones

Efecto	Estimado	D.E	p
Promedio	6.10	0.19	0.000*
X ₁ (Cantidad, lineal)	-0.53	0.18	0.033*
X ₁ ² (Cantidad, cuadrático)	0.14	0.28	0.647
X ₂ (Tiempo, lineal)	0.86	0.18	0.005*
X ₂ ² (Tiempo, cuadrático)	0.76	0.28	0.045*
X ₃ (Tamaño, lineal)	-1.68	0.18	0.000*
X ₃ ² (Tamaño, cuadrático)	-0.52	0.28	0.129
X ₁ X ₂	-0.45	0.21	0.084
X ₁ X ₃	-0.13	0.21	0.554
X ₂ X ₃	0.21	0.21	0.352

*Significativos a un 0.05

4.2.4 Análisis de regresión

La Tabla 4.7 muestra el coeficiente de determinación R², el coeficiente de correlación R y el cuadrado medio residual (CMR) proporcionados por el ajuste de los datos experimentales a diferentes modelos de regresión (lineal, lineal + interacciones, lineal + cuadrático, etc.) y al que resulta de incluir sólo los factores que resultaron con efectos significativos (p<0.05). De acuerdo con estos valores, el modelo que mejor explica, con un 96.3%, la variabilidad de el porcentaje de extracción de la GASM es el que incluye los efectos lineal, cuadrático y las interacciones de los factores (ecuación 3-5).

El ajuste de los datos experimentales a la ecuación 3-5 de segundo orden resulto en los valores estimados de los parámetros B_i, mostrados en la Tabla 4.8. que resulta en la ecuación de acuerdo con el modelo de segundo orden:

$$Y = 2.79115 + 0.03344X_1 - 0.03509X_2 + 10.87279X_3 + 0.00281X_1^2 + 0.00042X_2^2 - 6.24475 X_3^2 - 0.00153X_1X_2 - 0.06590X_1X_3 + 0.01776 X_2 X_3$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.7 Coeficientes de determinación (R^2), correlación (R) y cuadrado medio residual (CMR) del ajuste de los datos experimentales a diferentes modelos de regresión

Modelo	R^2	R	CMR
Lineal	0.8430	0.9181	0.1787
Lineal + interacciones	0.8869	0.9417	0.1769
Lineal + cuadrático	0.9196	0.9589	0.1258
Lineal + cuadrático + interacciones	0.9636	0.9816	0.0911
Solo los términos significativos	0.8939	0.9454	0.1328

Tabla 4.8 Coeficientes estimados del modelo de regresión de segundo orden

Coefficiente	Valor estimado	Coefficiente	Valor estimado
B_0	2.79115	B_5	0.00042
B_1	0.03344	B_6	-6.24475
B_2	-0.03509	B_7	-0.00153
B_3	10.87279	B_8	-0.06590
B_4	0.00281	B_9	0.01776

La Tabla 4.9 presenta el análisis de varianza (ANDEVA) de los coeficientes de la regresión. En ella se puede observar que las variables tiempo (X_2) y tamaño de partícula (X_3) tienen valores asignados de probabilidad más pequeños, con lo que son los más significativos, aún cuando también son significativos la cantidad (X_1) y el efecto cuadrático del tiempo (X_2^2) indicando que estos términos, en conjunto, son los que mayormente explican la variabilidad de la respuesta Y o rendimiento de grasa extraída, lo cual está en concordancia con lo analizado mediante los efectos principales. En función de ello, la ecuación que involucra sólo los coeficientes significativos es, la ecuación 4-1.

$$Y = 2.79115 + 0.03344X_1 - 0.03509X_2 + 10.87279X_3 + 0.00042X_2^2 \quad (4-1)$$

La Tabla 4.10 presenta una comparación entre los rendimientos observados acorde con las combinaciones indicadas en el modelo experimental y los rendimientos predichos por el modelo de regresión de segundo orden.

Tabla 4.9 Análisis de varianza, ANDEVA, de los coeficientes de regresión

Factor	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	P
X ₁	0.77512	1	0.775120	8.50686	0.033142*
X ₁ ²	0.02154	1	0.021541	0.23641	0.647370
X ₂	2.04798	1	2.047984	22.47640	0.005146*
X ₂ ²	0.63808	1	0.638079	7.00285	0.045630*
X ₃	7.73766	1	7.737656	84.91992	0.000253*
X ₃ ²	0.30058	1	0.300581	3.29884	0.129027
X ₁ X ₂	0.41897	1	0.418974	4.59819	0.084850
X ₁ X ₃	0.03650	1	0.036503	0.40061	0.554586
X ₂ X ₃	0.09548	1	0.095482	1.04791	0.352939
Error	0.45559	5	0.091117		
Total Suma de cuadrados	12.52749	14			

Tabla 4.10 Porcentaje de diferencia entre los valores observados y los predichos^a

Experimento	Observados	Predichos	Desviación %
1	6.79	6.78	0.26
2	7.03	6.84	2.74
3	8.00	7.88	1.52
4	6.77	7.02	-3.74
5	5.27	5.01	4.90
6	4.69	4.80	-2.43
7	6.37	6.55	-2.90
8	5.42	5.43	-0.18
9	6.13	6.10	0.46
10	6.04	5.88	2.54
11	6.35	6.53	-2.75
12	7.46	7.18	3.6
13	5.85	6.14	-4.95
14	4.73	4.69	0.88
15	6.67	6.73	-0.92

a) % b. s.

4.2.5 Caracterización de la superficie de respuesta

El análisis canónico de la regresión permitió caracterizar la superficie de respuesta. El valor del determinante de la matriz de los efectos de segundo orden (-0.000040) indica que la superficie de respuesta es cercanamente plana en por lo menos una dirección y la ecuación canónica 4-2 permite identificar su forma y orientación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

$$Y = 6.6929 + 0.003220W_1^2 + 0.000202W_2^2 - 6.24494W_3^2 \quad (4-2)$$

La ecuación 4-2 muestra la inexistencia de un único valor óptimo, dado que los valores de λ_i (*eigenvalues* que son los coeficientes de las variables transformadas, W_i) son de signos diferentes, sugiriendo un modelo de superficie de respuesta en forma de silla de montar en el intervalo experimental estudiado de las tres variables (Montgomery, 1991).

4.2.6 Mapas de contorno y superficie de respuesta

Las Figuras 4.4 a la 4.6 muestran las gráficas de contorno de la superficie de respuesta durante la extracción de la grasa de la semilla de mango deshidratada, en aparato Soxhlet con el disolvente hexano. En ella pueden analizarse diferentes condiciones, mediante la combinación de diferentes valores, por pares de las variables consideradas, para la obtención de rendimientos alternativos de GASM durante la extracción.

Por ejemplo, en la Figura 4.4 se muestra que el proceso extractivo, en lo general, se hace más eficiente a medida que disminuye la relación S-L, sobre todo para los rendimientos más altos de grasa extraída. Para valores más grandes de la relación S-L, porcentajes altos de extracto requieren de mayores tiempos de contacto.

La Figura 4.5 muestra el efecto de las variables relación S-L contra el tamaño de partícula. Para este caso, relaciones S-L pequeñas y tamaños de partícula pequeños ocasionan rendimientos de grasa mayores, acorde con las condiciones más favorables para el proceso de transferencia de masa, sin embargo y dado que el efecto de la relación S-L es menos pronunciado, el efecto simultáneo de estas dos variables no redundan en cambios pronunciados en el porcentaje de grasa extraída.

En la Figura 4.6 se observa un efecto más complicado debido a los cambios en el tiempo de extracción y el tamaño de partícula, debido a la significativa participación de un efecto cuadrático del tiempo de contacto entre las fases; no obstante es posible apreciar que, en lo general, tamaños de partícula pequeños con tiempos prolongados de contacto conducen a un proceso de extracción de la GASM más eficiente, pero se muestra que, por ejemplo, para tamaños de partícula mayores a 1.1 mm, lograr los rendimientos más altos posibles, dentro de los límites experimentales estudiados, requiere de tiempos mayores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

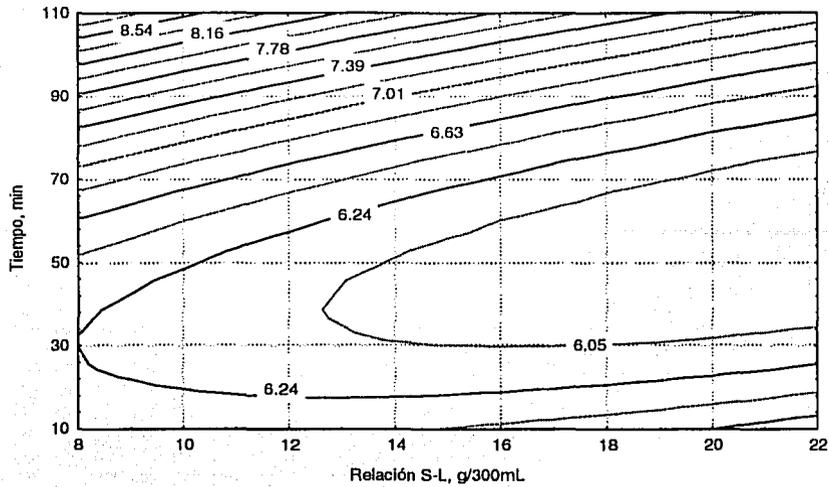


Figura 4.4 Efecto de la relación peso de la almendra/300 mL de disolvente y del tiempo de extracción en el rendimiento de la GASM

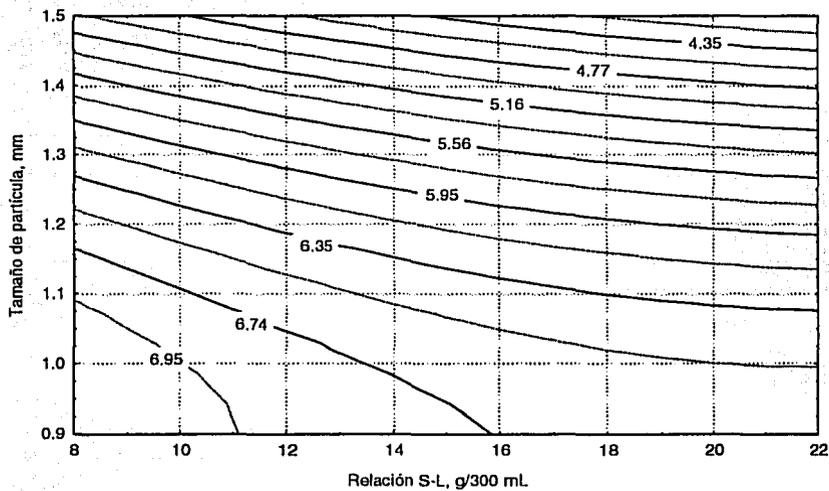


Figura 4.5 Efecto del peso de la almendra/300 mL de disolvente y del tamaño de partícula en el rendimiento de GASM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

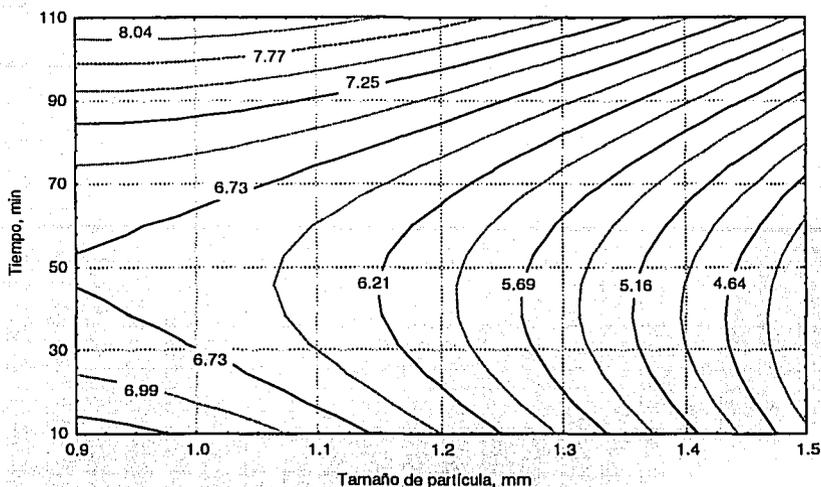


Figura 4.6 Efecto del tiempo de extracción y del peso de la almendra/300 mL de disolvente en el rendimiento de extracción de la GASM

4.3 Características químicas y físicas de la GASM

La Tabla 4.11 contiene los resultados de las determinaciones de las propiedades físicas y químicas de la grasa de almendra de semilla de mango de frutos maduros, tanto en muestras de grasa cruda como en aquellas que fueron sujetas de purificación en laboratorio.

La Tabla 4.11 muestra que la GASM tiene un índice de refracción de 1.466, un índice de saponificación de 189.0 y un índice de yodo de 47.7. Tales valores son cercanos a algunos reportados para grasas de almendras de otras variedades de mango. Por ejemplo, Narashima-Char y col. (1977) reportan características promedio de la grasa en mangos de importancia en la India: Índice de refracción 1.457, valor de saponificación 190 y valor de yodo de 50; Dhingra y Kapoor (1985), obtuvieron valores de 34 a 45 para el valor de yodo y 202 a 213 para el de saponificación, en las variedades que investigaron.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.11 Características fisicoquímicas de la GASM^a

Característica	Cruda	Purificada
Índice de refracción ^b	1.465	1.466
Ácidos grasos libres ^c	0.80	0.60
Índice de saponificación ^d	190.6	189.0
Índice de yodo ^e	50.7	47.7

a) Valores promedio de dos determinaciones; b) Determinado a 40°C; c) porcentaje como ácido oleico; d) En mg de KOH/g de grasa; e) g de I₂/100g

4.4 Composición y propiedades fisicoquímicas de la MC

Como se dijo antes la MC es una grasa de amplio uso industrial que ha sido objeto de una amplia investigación debido a que, no obstante la variabilidad natural en su composición, por factores ecológicos, varietales, de procesamiento, etc., algunas de sus propiedades presentan un comportamiento casi único dentro de las grasas naturales. Las muestras de MC se analizaron en cuanto a su composición mediante cromatografía gaseosa de acuerdo con lo delineado en 3.6 y en cuanto a su comportamiento térmico durante la fusión, descrito en 3.7. De acuerdo con ello, las muestras de MC tuvieron como principales AG el esteárico, palmítico y oleico y con menores participaciones de linoleico, linolénico y araquídico, mostrando cierta variabilidad en los porcentajes de participación. Una de las muestras tuvo 35.1% de esteárico, 24.27% de palmítico, 36.47 de oleico, 2.85 de linoleico, 0.30 de linolénico y 1.01 de araquídico. La composición de la otra muestra de MC se presenta en la Tabla 4.12 para facilitar la comparación con la composición de AG de la GASM.

La MC tuvo un valor promedio en el índice de refracción de 1.463. Los valores determinados de saponificación y de yodo fueron de 188.3 y 43.8, respectivamente.

4.5 Composición de ácidos grasos de la GASM

Por su naturaleza biológica, la grasa de almendra de mango también tiene una composición variable que, como se dijo antes, responde a circunstancias varietales y fenotípicas, además de la influencia, dentro de una misma variedad y un mismo ambiente ecológico, del estado de desarrollo fisiológico del fruto de donde proviene y es de esperarse aún, de las circunstancias microclimáticas regionales y temporales. Así muestras de GASM provenientes de frutos de la misma región, pero de sitios diferentes y cosechados en años productivos diferentes mostraron alguna variabilidad en el contenido porcentual de los AG-metil ester que la constituyen.

La Tabla 4.12 muestra la composición típica de ésteres metílicos de la manteca de cacao comercial y de la GASM extraída con el disolvente hexano de almendras de frutos maduros de dos de los sitios productores de la región señalada en 3.1. En la Tabla 4.12 se observa que los perfiles de ácidos grasos de estas grasas están principalmente constituidos por oleico, esteárico y palmítico. Para el caso de la MC, estos tres ácidos grasos constituyen alrededor del 95% de sus ácidos grasos y le proporcionan una composición acilglicérida relativamente simple; en muchas de las mantecas de cacao de diferentes regiones del mundo, tres triacilglicéridos comprenden más del 80% del total, estos son POP, POS y SOS (P=palmítico, O=oleico y S= esteárico), mismos que le dan un conjunto de características fisicoquímicas únicas, determinantes en su conducta térmica y de fase (Talbot, 1995).

Tabla 4.12 Composición de ácidos grasos de la GASM y de la MC comercial

AG		MC		GASM	
		Media ^a	Lote 1 ^b	Lote 2 ^c	Media±D.E. ^d
Palmítico	C16	27.88	9.95	9.29	9.62±0.47
Palmitoleico	C16:1	0.31	--	--	--
Margarico	C17	--	Trazas	Trazas	--
Estearico	C18	35.57	42.6	39.07	40.83±2.40
Oleico	C18:1	31.12	37.5	40.81	39.55±2.30
Linoleico	C18:2	3.51	5.62	6.06	5.84±0.31
Linolénico	C18:3	0.17	0.69	0.64	0.66±0.030
Araquídico	C20	1.04	2.35	2.48	2.41±0.09
Gondoico	C20:1	--	0.17	Trazas	--
Behénico	C22	0.16	0.43	0.64	0.53±0.14
Lignocérico	C24	--	0.28	0.49	0.38±0.14
No identificados		0.41	0.41	0.52	--
AGS ^e		64.9	55.61	51.97	53.7±2.57
AGMI ^f		31.43	37.67	40.81	39.2±2.20
AGPI ^g		3.51	6.31	6.70	6.5±0.27

a) %Área, promedio de dos determinaciones; b) % Área, promedio de tres determinaciones; c) % Área, promedio de tres determinaciones; d) Promedio de Lote 1 y Lote 2, más desviación estándar; e) AGS: % Ácidos grasos saturados; f) AGMI: % Ácidos grasos monoinsaturados; g) AGPI: % Ácidos grasos poliinsaturados

Como se consigna en la Tabla la MC tiene un poco menos del 65% de ácidos grasos saturados, mientras que en la GASM éstos están presentes entre un 51.9 y 55.6%; la relación entre AG-saturados/AG no-saturados es para MC de 1.85 y para la GASM de entre 1.09 y 1.26. Estas cifras están dentro de los valores reportados para la composición de

ácidos grasos de las grasas de almendra de semilla de otras variedades de mango (Md.Ali y col., 1985, Solís-Fuentes, 1998).

En cuanto a la composición triacilglicérida de la grasa de mango, Van-Pee y col. (1980) encontraron, después de un estudio de la distribución de los ácidos grasos en las diferentes posiciones de la molécula de glicerol de la grasa de la almendra de diez variedades de mango cultivadas en Zaire, que el contenido de ácidos grasos dependió de la variedad (32.4-44.0% de esteárico, 43.7-54.5% de oleico, 5.9-9.1% de palmitico y de 3.6-6.7% de linoleico) y que los ácidos grasos saturados palmitico, esteárico y araquídico están, como ha sido encontrado para triacilglicéridos de otras plantas, casi exclusivamente incorporados en los sitios externos (posiciones *sn*-1 y *sn*-3) de la molécula de triglicérido. En el caso del ácido araquídico encontraron que estuvo distribuido asimétricamente entre las posiciones 1 y 3 con un exceso hacia la posición 3. Los ácidos grasos no-saturados como el oleico y el linoleico se ubican principalmente en la posición *sn*-2, concordando estos resultados con la hipótesis de Evans (Evans y col., 1969) en el sentido de que los ácidos grasos saturados se distribuyen de manera igual entre las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 y que los lugares remanentes son proporcionalmente ocupados por los ácidos no-saturados oleico, linoleico y linolénico (Van-Pee y col., 1980).

No obstante que este patrón de distribución ha sido encontrado en grasas y aceites vegetales de otros orígenes, como en el cacahuate y el cacao, de la Roche y col. (1971), entre otros, describieron la distribución de la posición de los AG dentro de los TG de aceites de diferentes variedades de maíz y soya, reportando la existencia de algunas variedades que se desvían del patrón general de distribución.

El estudio de distribución de los AG en los TG de la GASM, no obstante se pueda suponer que tal distribución se comporta conforme al patrón de distribución antes mencionado, estaría por realizarse como un complemento de la presente investigación, para un entendimiento más completo de la relación de ésta con sus propiedades físicas, y comportamientos térmico y polimórfico.

4.6 Comportamiento térmico de la GASM y de la MC

La Figura 4.7 muestra los termogramas de fusión de la GASM estabilizada y el termograma de solidificación de la misma grasa después de haber sido calentada hasta fusión completa y

su mantenimiento a 90°C durante 10 minutos. Como puede verse, los perfiles de cambio de fase sólido-líquido y viceversa, son relativamente simples lo cual tiene una correspondencia estrecha con la también relativamente simple composición en ácidos grasos. Se muestran durante la fusión, una fracción de bajo punto de fusión con un máximo a los 5.3°C y una fracción con un punto de fusión más alto, con un pico menos abierto que inicia a 26.2°C y presenta un máximo a los 40.0°C, completándose el cambio a la fase líquida a alrededor de los 50°C. El cambio de entalpia de este proceso de fusión fue de 115.7 J/g. El proceso de enfriamiento de la grasa fundida produce la solidificación que da inicio a los 14.6°C y termina a los -24.3°C, presentando un máximo de cristalización a los 10.4°C y un pequeño hombro a los -9.9°C, que se supone corresponde a la solidificación de la fracción de bajo punto de fusión de la grasa, constituida de TG con ácidos grasos mono y poliinsaturados. El ΔH_c para este proceso de solidificación fue de 56.1 J/g.

La Figura 4.8 muestra el perfil de fusión de la MC estabilizada bajo las mismas condiciones que la GASM; esta misma figura contiene el perfil de cristalización de la MC, después de haber sido fundida completamente y mantenida a 90°C durante 10 minutos. En este caso también se observan perfiles de fusión y cristalización relativamente sencillos con una gran semejanza a los correspondientes de la GASM. La MC también presentó dos máximos de fusión, el primero correspondiente a una fracción de bajo punto de fusión con un valor máximo a la temperatura de 11.6°C y el segundo que corresponde a los triacilglicéridos de mayor punto de fusión con un valor máximo a 36.5°C. La ΔH_f para la MC analizada fue de 128.2 J/g.

En lo que respecta a la cristalización, ésta comienza en 12.7°C con un máximo a 6.4°C y una ΔH_c de 56.9 J/g. Las Tablas 4.13 y 4.14 presentan las temperaturas de transición más representativas de tales termogramas, permitiendo la comparación de los datos correspondientes.

La semejanza en el comportamiento térmico de la GASM y la MC, se hace también evidente en la Figura 4.9 que muestra los perfiles de fusión de ambas grasas sin estabilización, esto es, sujetas a calentamiento inmediatamente después de haber sido solidificadas mediante enfriamiento rápido. La Tabla 4.14 presenta las temperaturas de los principales puntos de transición para cada una de ellas y los calores de fusión correspondientes.

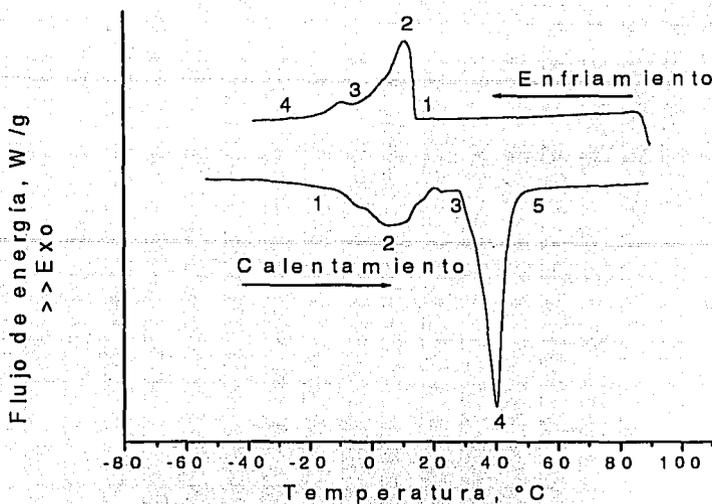


Figura 4.7 Curvas de cristalización y de fusión de la GASM estabilizada
(Ver Tablas 4.13 y 4.14 para las temperaturas de transición 1, 2, 3,..., 5)

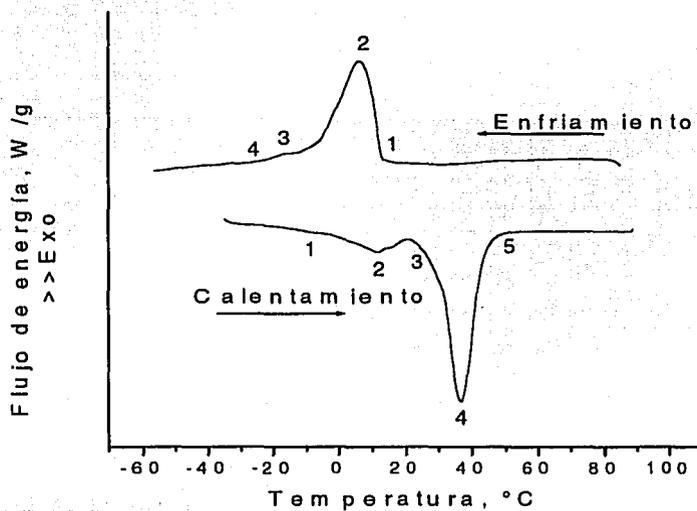


Figura 4.8 Curvas de cristalización y de fusión de la MC estabilizada
(Ver Tablas 4.13 y 4.14 para las temperaturas de transición 1, 2, 3,..., 5)

Como se recordará y de acuerdo con Gutcho (1979), Hagemann (1988) y Walstra (1987) los lípidos vegetales (ácidos grasos, acilglicéridos y grasas y aceites) presentan polimorfismo y, en general, y con mayor frecuencia, solidifican en tres formas cristalinas diferentes: α , β' y β mismas que, en el mismo orden presentan temperaturas de fusión cada vez más elevadas. El polimorfo α , de menor punto de fusión, se presenta generalmente después de un proceso de enfriamiento rápido de la grasa fundida; la forma β' , con mayor punto de fusión que la anterior, se genera mediante la solidificación de la grasa bajo ciertas condiciones de temperatura o por transición desde la forma α y el polimorfo β , que es la forma cristalina más estable, se produce a partir de las dos anteriores mediante incubación a temperaturas un poco mayores a la temperatura de fusión de la forma α . Como se mencionó antes, el polimorfismo de la MC ha sido ampliamente estudiado (Loisel et al., 1998; Lutton, 1957; Paulicka, 1973; Schlichter-Aronhime y Garti, 1988) y aún hay controversia con relación al número y tipificación de las formas diferentes en que cristaliza. Una de las propuestas más aceptadas es de que pueden lograrse 6 polimorfos diferentes (Talbot, 1995). De acuerdo con esto último, los termogramas de fusión de la MC de las Figuras 4.9 y 4.10 corresponden a la forma β_2 y α , respectivamente, de acuerdo con la tipificación de Larsson o a las formas V y II, en función de los estudios de Wille y Lutton (Talbot, 1995).

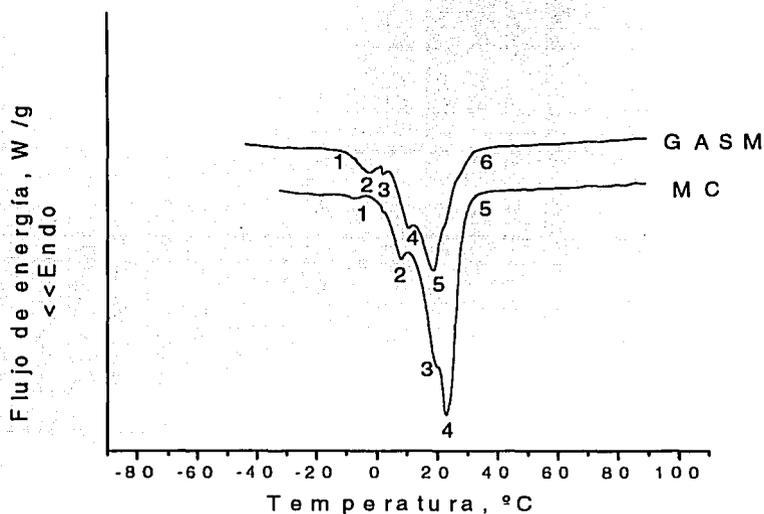


Figura 4.9 Curvas de fusión de la GAS M y de la MC sin estabilizar (Ver Tabla 4.14 para las temperaturas de transición 1, 2, 3,..., 6)

Tabla 4.13 Temperaturas de los puntos de transición y entalpías de cristalización de la GASM y de la MC

Muestra	ΔH_c (J/g)	Temperatura de transición °C			
		1	2	3	4
GASM	56.1	14.6	10.4	-9.9	-24.3
MC	56.9	12.7	6.4	-15.2	-26.2

El comportamiento térmico de la GASM mostrado en las Figuras 4.8 y 4.10 indica que ésta cristalizó en dos formas polimórficas diferentes, con perfiles de fusión dependientes de su historial térmico. La semejanza de estas conductas térmicas con las que presentó la MC, hace suponer que sea una grasa β -estable, a diferencia de las que provienen de la hidrogenación de los aceites de palma, soya o de colza o de las denominadas grasas láuricas, de semilla de palma y de coco que son β' -estables

Tabla 4.14 Temperaturas de los puntos de transición y calores de fusión de la GASM y de la MC

Muestra	ΔH_f (J/g)	Temperatura de los puntos de transición, °C					
		1	2	3	4	5	6
GASM estabilizada	115.7	-10.2	5.3	26.2	40.0	48.5	n.d.
GASM no-estabilizada	70.1	-10.9	-2.3	2.0	10.6	18.5	42.3
MC estabilizada	128.2	-3.0	11.6	22.8	36.5	47.5	n.d.
MC no-estabilizada	80.0	-3.5	8.1	19.7	23.1	40.1	n.d.

n.d., no determinada

4.7 Perfil de sólidos de la GASM y de la MC

La Tabla 4.15 compara los contenidos de grasa sólida a temperaturas seleccionadas de las muestras estudiadas en sus formas no-estabilizadas y estabilizadas. De acuerdo con ella, la GASM sin estabilizar es una grasa más blanda que la MC, puesto que a las temperaturas mostradas tiene menores porcentajes de sólidos. El polimorfo resultante cuando la grasa solidifica por enfriamiento rápido desde la fase líquida fundida es una forma cristalina de bajo punto de fusión. Sin embargo, en la forma cristalina lograda mediante un tratamiento de estabilización, durante un tiempo suficiente para propiciar los reacomodos cristalinos, aún teniendo un porcentaje menor de sólidos a 10°C, la desaparición de la fase sólida por efecto de la temperatura tiene un perfil menos pronunciado que el de la MC. Esta última pasa de 64.8 a 12.1% de sólidos de 33.3°C a 40°C, mientras que la GASM lo hace de 62.3 a 25.5% durante el mismo intervalo de temperatura.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para una mejor comparación de los comportamientos de sus contenidos de sólidos, la Figura 4.10 muestra, conjuntamente, los perfiles de sólidos de muestras de GASM y MC, estabilizadas y sin estabilizar. En ellas se hace evidente la mayor semejanza en el comportamiento de las fases, por efecto de la temperatura.

En su forma cristalina estable, la GASM es más blanda a temperaturas bajas que la correspondiente MC, pero presenta una mayor consistencia a temperaturas más altas, conservando más porcentaje de sólidos que la MC. Ello es resultado de las diferencias en la composición de AG y de las relaciones saturados/insaturados. La GASM presentó mayor contenido de ácido oleico y linoleico, que además del efecto directo de las instauraciones en los puntos de fusión de los TG mixtos al ser más abundantes tienen más probabilidad de conformar especies acilglicéridas de menores puntos de fusión teniendo un efecto de dilución de los acilglicéridos de ácidos grasos saturados, incidiendo en sus solubilidades y puntos de fusión.

Tabla 4.15 Contenido de sólidos de la GASM y MC estabilizada y no estabilizada

T °C	Contenido de sólidos (%)			
	GASM estabilizada	GASM no-estabilizada	MC estabilizada	MC no-estabilizada
10.0	76.1	74.2	91.7	88.4
21.1	69.2	22.0	88.7	44.9
26.7	68.7	5.7	83.8	7.6
33.3	62.3	0.7	64.8	2.6
37.8	43.0	0.2	26.5	1.7
40.0	25.5	0.2	12.1	1.7

Por otra parte la GASM contiene más ácidos grasos saturados de cadena larga como araquídico, behénico y lignocérico, mismos que conforman especies moleculares con requerimientos mayores de temperatura para su fusión completa.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

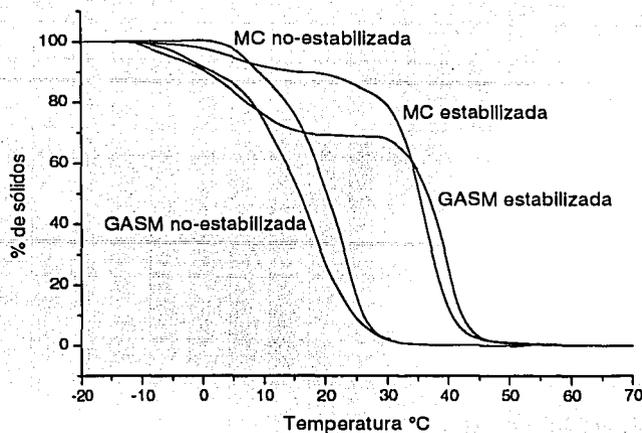


Figura 4.10 Perfiles del contenido de grasa sólida de GASM y MC

4.8 Polimorfismo de la GASM

El diferente comportamiento de la GASM y de MC, antes y después de la estabilización, evidenció la existencia de polimorfismo. En lo que respecta a la MC, tal fenómeno, aunque no del todo establecido, es ampliamente conocido. En cuanto a la GASM si bien indica la existencia de por lo menos dos arreglos cristalinos diferentes su corroboración y tipificación, así como la exploración de otras formas posibles requirió del análisis con CB y DRX, bajo diferentes ciclos térmicos y condiciones de estabilización.

4.8.1 Identificación de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido, CB

La Figura 4.11 presenta una comparación de las curvas de fusión de la GASM sujeta a diferentes condiciones de solidificación (T1 a T4).

El tratamiento T1 provocó la solidificación de la GASM a partir de un enfriamiento rápido de entre 15 y 20°C/minuto desde la grasa fundida calentada hasta 90°C y mantenida a esa temperatura durante 15 minutos con el fin de destruir todos los núcleos cristalinos anteriores. Bajo esas condiciones, la fusión del sólido resultante se dio durante un intervalo de 51.4°C, la curva de fusión mostró un endoterma con un valor máximo a los 18.5°C y una

temperatura de fusión, considerada como el punto de inicio de la fusión (*onset*) en el termograma, de 9.3°C. El calor de fusión estimado, ΔH_f , fue de 70 J/g.

En T2, la grasa fundida y libre de cristales previos se enfrió a hasta 16°C, mantenida a esta temperatura por 1 h y luego enfriada a 10°C, manteniéndose a esta temperatura durante 5 minutos y, finalmente, ser enfriada hasta la temperatura de -30°C, con calentamiento inmediato a 10°C/min. La fusión comprendió un intervalo de aproximadamente 31°C con la presencia de máximo de fusión a los 29.4°C y una temperatura de inicio de 18.5°C, con un ΔH_f de 87.6 J/g.

El tratamiento T3 consistió de un enfriamiento hasta 5°C de la muestra fundida y sin historial térmico con el mantenimiento de la muestra a esa temperatura durante 24 horas. El análisis en el calorímetro condujo a un perfil de fusión constituido por dos máximos de fusión, uno alrededor de 10.6°C y otro mas grande a 35.2°C. La amplitud del intervalo de fusión fue de aproximadamente de 50°C. El inicio de la fusión de la fracción más abundante y temperatura de transición más elevada se dio los 27°C con un ΔH_f global de 83 J/g.

La forma en que se propició la solidificación de la GASM mediante el tratamiento T4 consistió en el enfriamiento del fundido, libre de núcleos cristalinos previos, hasta 24°C, su mantenimiento a esa temperatura por 24 horas y almacenamiento posterior de las muestras a 5°C por 15 días. El perfil de fusión de la GASM así estabilizada presentó un intervalo para la transición del sólido al líquido de más de 65°C, dos valores máximo de energía, a 7.6 y 40°C, y un punto de fusión, para la fracción de más alto punto de fusión de 31.9°C. El ΔH_f fue de 115.7 J/g.

Los tratamientos para explorar las formas sub α y β_1 , de acuerdo con lo apuntado en la Tabla 3.2 del Capítulo 3, resultaron en curvas semejantes a las de los tratamientos T1 y T4, respectivamente, por lo que se consideraron inexistentes bajo las condiciones de los tratamientos.

La Figura 4.12 compara, de mejor manera gráfica, los perfiles de fusión de las muestras de GASM descritas, con la ubicación de los polimorfos α y β y la posible existencia de los polimorfos β_1' y β_2' . La Tabla 4.16 resume el análisis térmico (las temperaturas de inicio, las temperaturas de los picos máximos y las entalpías de fusión) de cada uno de los arreglos cristalinos identificados.

Tabla 4.16 Características de los polimorfos de la GASM identificados mediante CB (DSC)

Forma	T de inicio (°C)	Máximo (°C)	ΔH_f (J/g)
α	9.3	18.5	70.1
β_1'	18.5	29.4	87.6
β_2'	27.0	35.2	83.0
β	31.9	40.0	115.7

Los polimorfos β' , de acuerdo con Hernqvist (1988), son formas cristalinas comúnmente estables en TG con AG de número de carbonos impar, pero en los TG de AG con carbonos pares, de hecho los principales constituyentes de las grasas naturales, son por lo general menos estables que las formas β , aún cuando se sabe que las grasas naturales tienen un comportamiento mucho más complejo, en cuanto a la estabilidad polimórfica, que los TG puros (DeMan y col., 1993). Es posible que los termogramas respectivos de las formas β_1' y β_2' de la Figura 4.13 correspondan, en realidad, a una mezcla de cristales β_1' , β_2' y β .

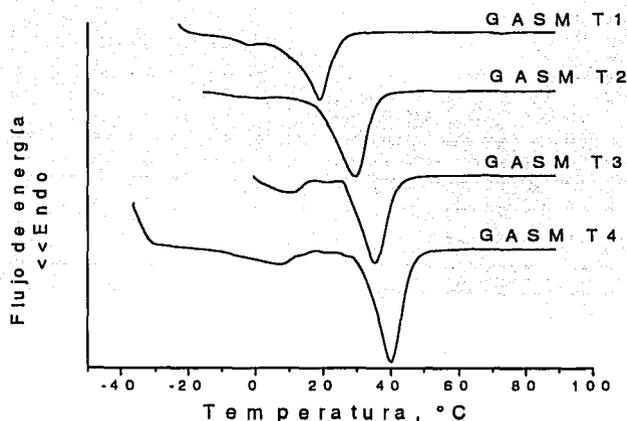


Figura 4.11 Curvas de fusión de la GASM cristalizada mediante diferentes condiciones

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

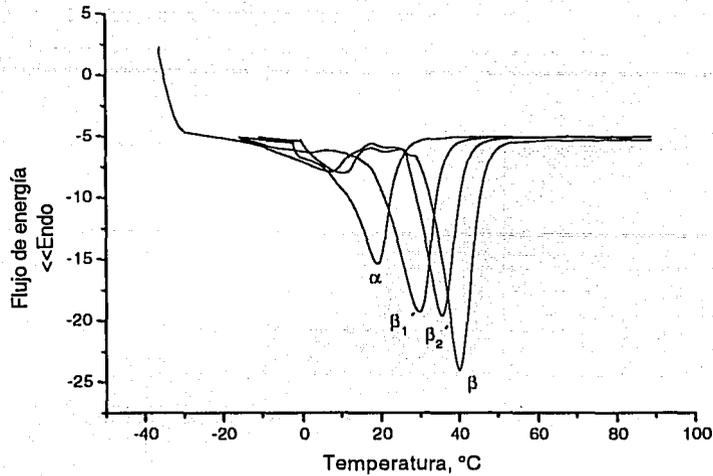


Figura 4.12 Identificación de polimorfos de la GASM mediante CB (DSC)

4.8.2 Identificación y caracterización de polimorfos mediante difracción de Rayos X, DRX

Las Figuras 4.13 y 4.14 muestran la evolución de los patrones de difracción de la GASM de 0 a 5 días y de 6 a 26 días de incubación a la temperatura ambiente de aproximadamente 22°C. En lo general, las muestras hasta antes de los 5 días no presentaron patrones de difracción con señalamientos inequívocos de una forma cristalina pura o para la tipificación de polimorfos predominantes. El patrón correspondiente a la muestra sin incubación mostró un señalamiento a 4.15 Å (intensidad relativa 91.2%) característico de la forma α , junto con otros señales cercanas a las características de la forma pseudo β' , según la tipificación dada por Gibon y Deronaine (1986).

Los valores típicos de la forma pseudo β' fueron más evidentes a las 1.5 horas con señales a 3.96, 4.15, 4.27 y 4.40 Å (con intensidades relativas de 62, 94.8, 100 y 98.2% respectivamente). A partir de las 24 horas, se presentan señales propias de la transición hacia formas más estables. Una señal a los 4.50 Å (intensidad del 100%) y otras cercanas a los 3.90 y 3.60 Å son características de la forma llamada sub β . Después de los 5 días las señales predominantes son aquellas cercanas a las típicas de las formas sub β y β , siendo más

cercanas a las del polimorfo β a medida que el periodo de incubación se hizo más largo (Figura 4.14).

La Figura 4.15 presenta los patrones de difracción de muestras de MC incubadas de 0 a 5 días. En ella es evidente la evolución más rápida hacia la forma β más estable (forma V) a partir de las 24 horas (según la tipificación de Hicklin y col., 1986): Espaciamientos a 5.43, 4.60, 3.99, 3.88, 3.76 y 3.68 Å, con intensidades de 19.3, 100, 28.8, 23.1 y 21.1%, respectivamente. Al igual que con la GASM, los patrones de refracción tuvieron otros señalamientos, lo que pudo estar evidenciando la aparición paulatina de formas menos estables y de cristalizaciones mezcladas. Esto es provocado por las condiciones en las que operó el equipo de difracción empleado, con dispositivos limitados para mantener y controlar las determinaciones a temperaturas inferiores a la ambiente, provocándose con ello pequeñas fluctuaciones de temperatura y posibilitando, en consecuencia, reacomodos cristalinos moleculares.

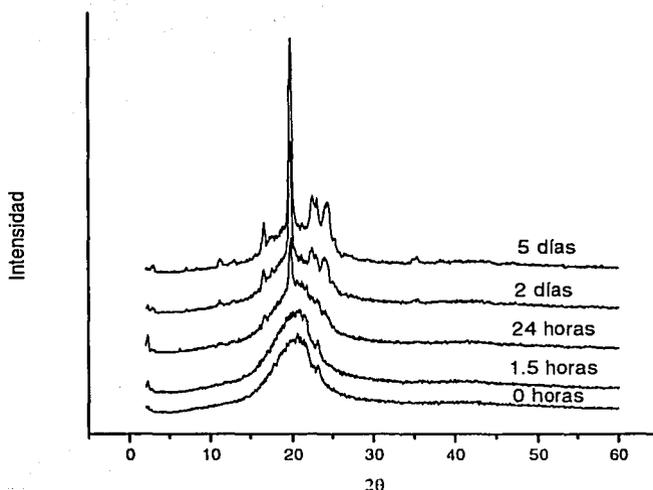


Figura 4.13 Evolución de los patrones de difracción de la GASM de 0 a 5 días

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

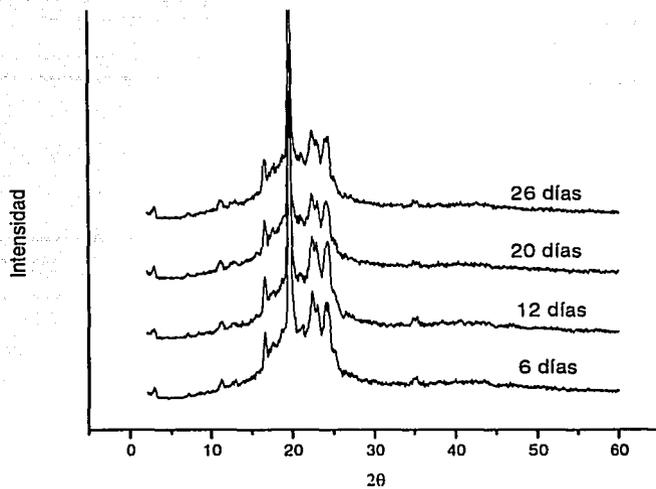


Figura 4.14 Evolución de los patrones de difracción de la GASM de 6 a 26 días

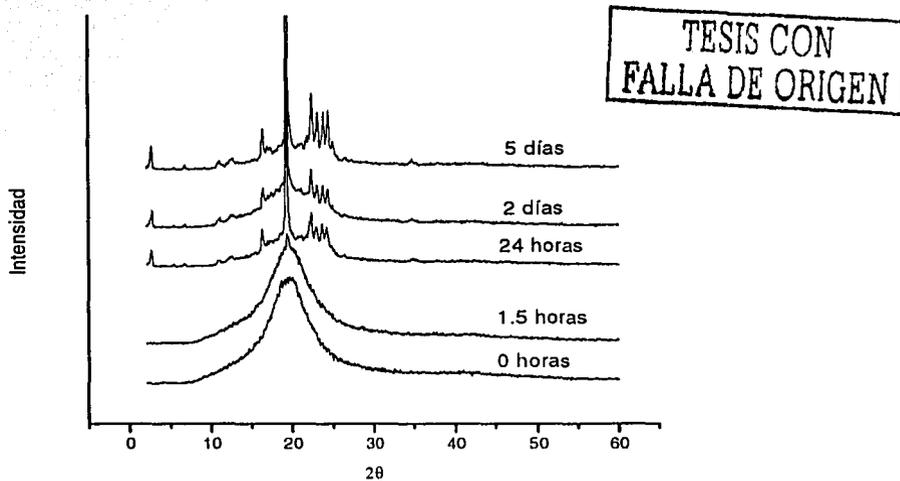


Figura 4.15 Evolución de los patrones de difracción de la MC de 0 a 5 días

La Tabla 4.17 muestra los valores característicos del patrón de difracción de rayos X para la forma β de la MC, dada por Chapman y col. (1971) y Hicklin y col. (1986) y los valores característicos, en los espaciamentos cortos observados en el presente estudio, tanto para la MC como para la GASM.

Tabla 4.17 Datos de DRX para la forma β de la MC y GASM

Polimorfo β (forma V) de la MC			GASM, este trabajo
Chapman y col.(1971)	Hicklin y col. (1986)	Este trabajo	
4.58 MF*, 4.22 D,	5.43 M, 4.60 MF,	5.34 M, 4.54 MF,	5.40 M, 4.57 MF,
3.98 F, 3.87 M, 3.73	3.99 M, 3.88 D, 3.76	3.95 F, 3.843M, 3.73	3.99 F, 3.87 M, 3.76
M, 3.65 F	M, 3.68 D	M, 3.64 F	M, 3.67 F

*MF, F, M y D: Señales muy fuerte, fuerte, media y débil

Las Figuras 4.16 y 4.17 muestran los patrones de difracción de rayos X de las muestras de GASM y MC, estabilizadas mediante un ciclo de temperatura-tiempo consistente en calentamiento a 90°C durante 5 min, enfriamiento a 24°C y mantenimiento a esa temperatura por 24 horas, con un posterior almacenamiento por 15 días a 5°C. Los patrones de DRX mostrados comprueban la presencia de la forma estable β . Además, en ellas puede observarse la gran semejanza de los patrones de difracción, para esta forma cristalina, en estas dos grasas.

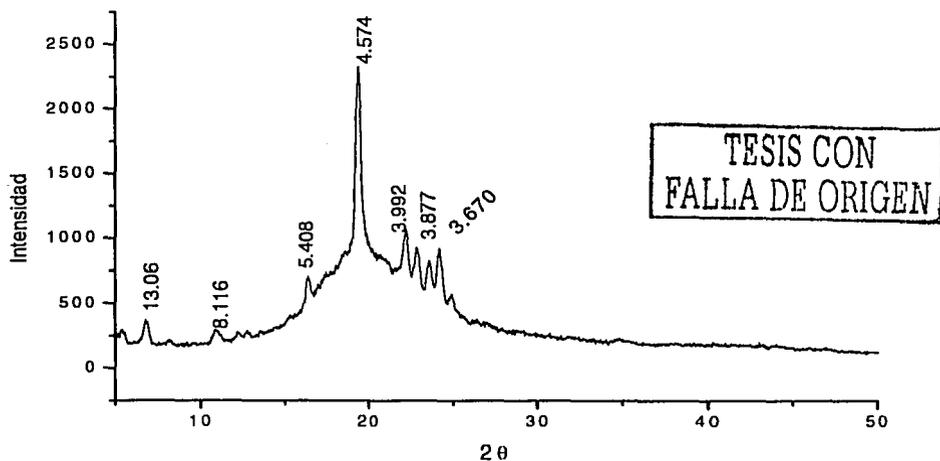


Figura 4.16 Patrón de difracción de rayos X de la GASM estabilizada

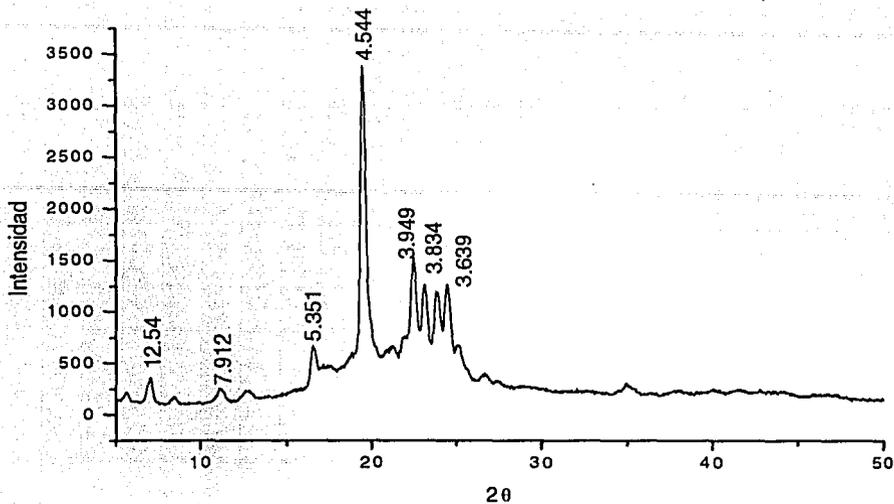


Figura 4.17 Patrón de difracción de rayos X de la MC estabilizada

4.9 Cinética de cristalización de la GASM

4.9.1 Termogramas isotérmicos

Las Figura 4.18 muestra los termogramas isotérmicos de la GASM, a 8, 10 y 12°C, después de haber llevado a las muestras a 90°C durante 5 min, enfriado rápidamente hasta la temperatura de cristalización y mantenida esa temperatura el tiempo suficiente para la cristalización de la grasa. En la Figura 4.18 se ubican los tiempos de inducción τ_g , τ_{10} y τ_{12} y los tiempos de los máximos exotérmicos para cada una de las temperaturas de cristalización estudiadas (Tabla 4.18). Como era de esperarse, el tiempo necesario para la formación de los primeros núcleos cristalinos aumentó con la temperatura de cristalización.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

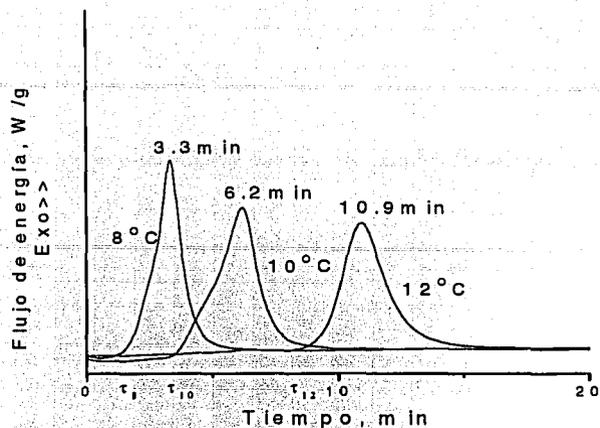


Figura 4.18 Curvas de cristalización isotérmica de la GASM a 8, 10 y 12°C

Tabla 4.18 Tiempos de inducción y máximos exotérmicos durante la cristalización isotérmica de la GASM

Temperatura, °C	(τ), min	Máximo, min
8	1.9	3.3
10	3.8	6.2
12	8.2	10.9

4.9.2 El modelo autocatalizado (modelo Sestak-Berggren)

El análisis de las formas de las curvas de cristalización isotérmica presentadas en la Figura 4.18 sugiere una reacción de cristalización de tipo auto-catalizado, dado que, los picos máximos de desprendimiento de calor se presentan después de haber ocurrido más del 30% de la cristalización (Sestak, 1984). La Figura 4.19 presenta la gráfica de $\text{Log}(dC/dt)$ vs $\text{Log}[(1-C)C^{(m/n)}]$ que permite el ajuste de los datos de la cristalización isotérmica de la GASM, al modelo auto-catalizado y el cálculo de los parámetros cinéticos n , m y k , para 12°C. El procesamiento de los datos se realizó con ayuda del software indicado en 3.9.1.1.

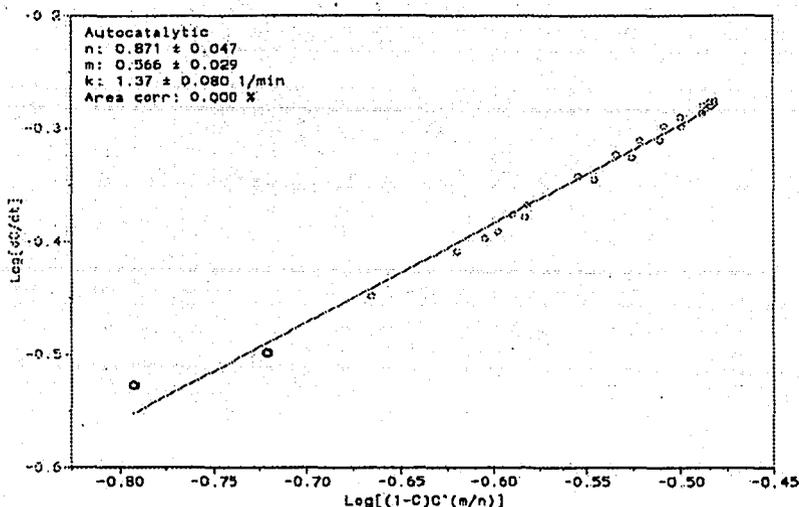


Figura 4.19 Modelo de regresión para la determinación de parámetros cinéticos del modelo autocatalizado a 12°C

A 12°C el orden de reacción n del modelo fue de 0.871 ± 0.047 y el orden de reacción independiente, m , de 0.566 ± 0.029 . La constante específica de velocidad de cristalización fue de $1.37 \pm 0.080 \text{ min}^{-1}$. Las constantes específicas de velocidad de cristalización fueron de 2.27 min^{-1} a 10°C y de 3.79 min^{-1} a 8°C.

Para una reacción auto-catalizada, la energía de activación (E_a) se puede determinar a partir de la dependencia de la temperatura para alcanzar un cierto nivel constante de conversión. Los tiempos para los máximos exotérmicos en la curva isotérmica se han utilizado para obtener valiosa información cinética (Sichina, 1998). La figura 4.20 muestra un gráfico de $1/T$ contra $\ln t$, siendo este último el tiempo requerido para alcanzar el máximo exotérmico durante la cristalización. La pendiente de la recta de regresión es E_a/R , lo que permite el cálculo de la energía de activación para la cristalización de la GASM acorde con el modelo autocatalizado. Los datos se ajustaron con una R de 0.999, la pendiente de la recta de regresión fue de -24.25 con una ordenada al origen de 87.452. De acuerdo con ello la energía de activación para la cristalización fue del orden de 201.6 kJ/mol y el factor pre-exponencial de la ecuación de Arrhenius fue de 2.068×10^{-37} . El valor estimado de E_a (de 48.22 en kcal/mol) es cercano al reportado para la cristalización de TG en otras investigaciones (Toro-Vazquez y col., 1999).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

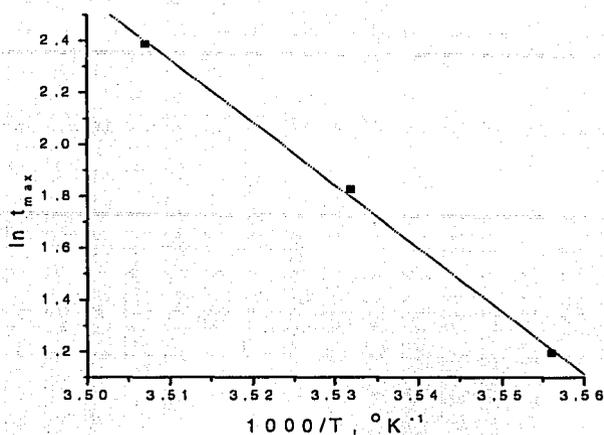


Figura 4.20 Estimación de la energía de activación en la cristalización autocatalizada de la GASM. Gráfica de $1/T$ vs $\ln t_{max}$

La estimación del valor de r de la ecuación de Avrami a partir de n y m , de acuerdo con la ecuación 2-13, resultó en un valor de 2, que de acuerdo con la interpretación que el modelo de Avrami sugiere, indicaría un crecimiento bi-dimensional de los núcleos de GASM. Sin embargo este resultado debe tomarse con reserva toda vez que la relación entre los parámetros n y m del modelo auto-catalizado y r de la ecuación de Avrami ha sido probado, hasta ahora, en materiales más simples y químicamente diferentes a las grasas naturales.

4.9.3 Ecuación de Avrami

La Figura 4.21 muestra el efecto del tiempo en la fracción de sólidos formados durante la cristalización de la GASM a 8, 10 y 12°C. La forma sigmoidea de las curvas es característica de la cristalización isotérmica.

Como se mencionó antes, uno de los modelos mayormente utilizado para analizar la cinética de cristalización, primeramente, de polímeros y después, de muchos otros materiales, lípidos entre otros, es el de Avrami. La determinación experimental de los parámetros de la ecuación de Avrami son relativamente más difíciles de lograr. Su estimación es importante porque para algunos materiales encierran un significado físico. El valor de r depende de la

forma del núcleo cristalino y de la dimensionalidad de su crecimiento, así como de la velocidad de su formación. Cuando los sitios de nucleación se forman instantáneamente, r tiene el valor de 1 para cristales en forma de aguja con crecimiento en una sola dimensión; 2 para placas, que integran moléculas al núcleo en dos de sus dimensiones; y, 3 para cristales que pueden ser esferoidales con crecimiento tridimensional. Si aparecen esporádicamente sitios adicionales de nucleación, éstos con la participación de moléculas diferentes a las de los núcleos originales, el valor de r resulta ser un número entero más grande (Foreman y Blaine, 1998).

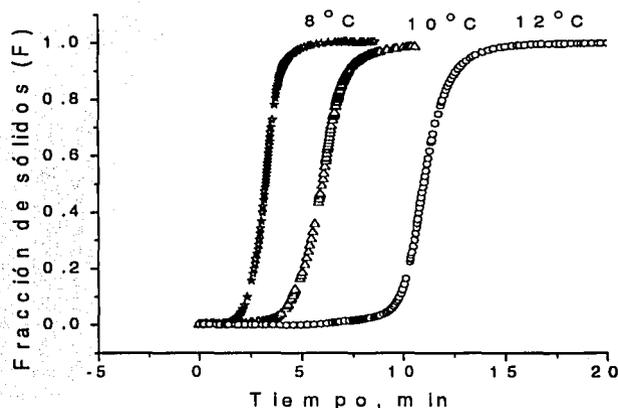


Figura 4.21 Cinética de cristalización de la GASM a 8, 10 y 12°C

La Figura 4.22, muestra las gráficas de los datos experimentales transformados en $\ln(-\ln(1-F))$ contra $\ln t$ y las líneas de regresión resultantes del ajuste a la ecuación de Avrami para 8, 10 y 12°C, respectivamente y para valores de F entre 0.25 y 0.75.

Los valores del índice de Avrami r estimados para esas temperaturas se presentan en la Tabla 4.19. Los valores del coeficiente de correlación ($R > 0.99$) muestran que los datos experimentales se ajustaron satisfactoriamente al modelo de regresión. Como se hace evidente, los valores r estimados son mayores que los que establece la teoría para formas de núcleo esféricas y crecimiento tridimensional y para los obtenidos experimentalmente en muchos otros materiales relativamente simples.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

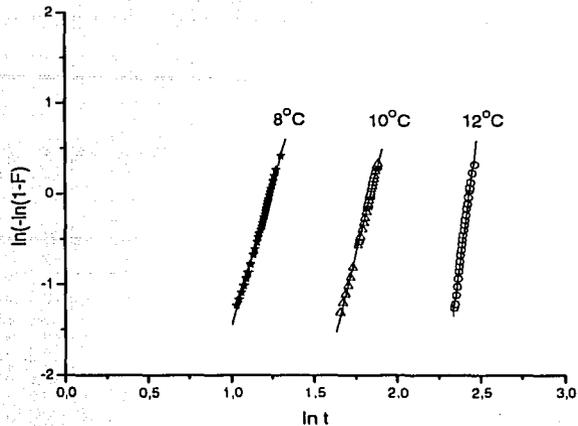


Figura 4.22 Graficas de $\ln t$ vs $\ln[-\ln(1-F)]$ usando F entre 0.25 y 0.75 para la estimación de los parámetros de la ecuación de Avrami, para 8, 10 y 12°C

La Tabla 4.19 muestra también que el valor de r cambió, para una misma temperatura, con el intervalo de la fracción de sólidos considerado, lo que demuestra que el valor de este parámetro, para el material estudiado, es sensible a lo extenso de la cristalización y puede por tanto estar siendo afectado por el nivel de complejidad, en la composición, del sistema. Reportes en la literatura dan cuenta de que algunos polímeros cristalinos presentan valores de r mayores que 3 y materiales más complejos han presentado índices de Avrami de 4 y más grandes (Foreman y Blaine, 1998; Kawamura, 1979; Metin y Hartel, 1990; Toro-Vazquez y col., 2000). Por ejemplo durante la cristalización isotérmica de aceite de palma, en trabajos reportados por Smith (2001), este parámetro fue de 4; interpretándose este valor como indicativo de un crecimiento poliedral (en todas dimensiones) y atribuido a la presencia, durante el proceso de cristalización, de sitios adicionales de nucleación. Toro-Vazquez y col. (2000), por otro lado, en un análisis de la cristalización de mezclas de estearina de palma y aceite de ajonjolí, reportan valores de r mayores; incluso, cercanos a 6 para la cristalización de una mezcla de estearina de palma y aceite de ajonjolí. Las estimaciones mostraron que el valor de r es muy sensible al intervalo de F considerado.

Es importante puntualizar que el modelo de Avrami ha sido mayormente empleado en el análisis de la cristalización de materiales relativamente sencillos en composición como los polímeros plásticos; y en los lípidos, se ha usado en sistemas de composición relativamente

simple como la cristalización de TG desde una disolución, en mezclas binarias o ternarias de TG puros o en sistemas menos complejos que las grasas naturales. Para el caso de los valores de r más grandes que 3, e incluso que 4, obtenidos durante la cristalización isotérmica de la GASM, tal resultado se interpreta como indicativo de la complejidad del sistema dada su naturaleza de mezcla multi-componente, en la que el mayor porcentaje es de TG, algunos de ellos de gran semejanza y afinidad fisicoquímica que los hacen comportarse, bajo ciertas circunstancias y en ciertos aspectos, como en el caso de la MC como si fuera un solo compuesto, pero que en otros fenómenos como en la nucleación, propagación y crecimiento de cristales, las diferencias de composición química, estructura molecular y propiedades físicas de los TG se manifiestan. Como se vio antes la GASM tiene un contenido relevante de AG saturados de cadena larga que determinan la existencia de TG con altos puntos de fusión y bajas solubilidades en interacción con otros muchos TG y componentes diferentes en cantidades menores, con propiedades y comportamiento térmico diversos, lo que determina, en conjunto, las formas y rapidez de formación de los cristales y su crecimiento. Es sabido que en las grasas naturales la cristalización es preferentemente heterogénea debido a que aún en grasas cuidadosamente purificadas hay moléculas lipídicas diferentes a los TG (mono y di-glicéridos, fosfolípidos, etc) que se ha visto pueden actuar como partículas embrionarias de núcleos cristalinos. Sato y Koyano (2001) han analizado el efecto de promoción de la cristalización por parte de algunos componentes menores en MC, tales como glucolípidos, fosfolípidos y TG trisaturados. Toro-Vazquez y col. (2000) han considerado que además de la cristalización secundaria que se presenta en sistemas de composición compleja, como las grasas, habría que incluir el efecto de las velocidades efectivas de enfriamiento durante la cristalización, para una mejor explicación de valores de r mayores a los teóricos del modelo de Avrami.

Tabla 4.19 Índice r y constante de velocidad global, Z , para la cristalización isotérmica de la GASM a 8, 10 y 12°C

T, °C	F (0.25 a 0.75)				F (0.10 a 0.90)			
	$Z \text{ min}^{-1}$		r	R	$Z \text{ min}^{-1}$		r	R
	Modelo original ^a	Modificado ^b			Modelo original ^a	Modificado ^b		
8	4.6×10^{-4}	0.2904	5.7	0.99	7.5×10^{-3}	0.2554	5.7	0.99
10	1.88×10^{-6}	0.1584	7.1	0.99	4.07×10^{-6}	0.1580	6.7	0.99
12	4×10^{-15}	0.0879	13.6	0.99	9.48×10^{-14}	0.0868	12.2	0.98
Ea	203.15 ^c				183.02 ^d			

a) Ecuación original de Avrami; b) Ecuación modificada de Khanna y Taylor; c) En kJ/mol (R = 0.999); d) En kJ/mol (R=0.998)

La Tabla 4.19 presenta también, los valores estimados de la constante global de cristalización, Z , de acuerdo a la ecuación original de Avrami y de acuerdo al modelo modificado propuesto por Khanna y Taylor. En todos los casos la tendencia decreciente de la velocidad de cristalización con el aumento de la temperatura, dentro del intervalo estudiado, fue clara. Sin embargo, la diferencia en el orden de magnitud se hace evidente. Para el caso del modelo original los valores proporcionados de Z fueron notablemente menores en órdenes de magnitud y fueron notoriamente sensibles a los intervalos de F considerados, no obstante que los coeficientes de correlación, R , fueron altos en todos los casos. La ecuación de Khanna y Taylor proporcionó constantes de velocidad con órdenes de magnitud mucho más grandes que las derivadas del modelo original de Avrami. Así Z para una fracción de sólidos entre 0.25 y 0.75 fue de 0.2904, 0.1584, y 0.0879 min^{-1} para 8, 10 y 12°C, respectivamente, valores que no cambiaron significativamente con el cambio del intervalo de F considerado en la regresión.

De acuerdo con Avrami, Z es una constante de velocidad compleja que incluye, tanto la velocidad del proceso de nucleación, como la velocidad de crecimiento de los núcleos cristalinos. Como ya se ha dicho, termodinámicamente, las fuerzas impulsoras de la cristalización son el sobreenfriamiento principalmente, y la supersaturación; ésta última, una vez que se han dado cantidades suficientes de núcleos que limitan la disponibilidad de la fase líquida para las especies químicas remanentes en la fase. En sistemas multi-componentes como las grasas naturales, donde los diferentes TG están en concentraciones distintas y tienen diferente comportamiento térmico, lo anterior es de gran relevancia, porque dependiendo de los niveles de sobreenfriamiento la cristalización de TG, acordes con su punto de fusión, la cristalización será selectiva o de cristales mezclados. De hecho a las temperaturas ensayadas, como se vio antes la GASM cristaliza preferentemente en el polimorfo α .

De acuerdo con los resultados proporcionados por el modelo de Avrami, modificado, el nivel de sobreenfriamiento alcanzado influye notablemente en la velocidad de cristalización; el valor de Z creció 3.3 veces al ir de 12 a 8°C lo que implica una importante sensibilidad de la velocidad de cristalización de la GASM con el grado de sobre-enfriamiento a esos niveles de temperatura.

Como es sabido, el crecimiento del cristal está influido grandemente por la capacidad de las moléculas para difundirse desde el seno de la fase líquida e incorporarse a la superficie del

núcleo cristalino, efecto que depende de un modo inverso a la viscosidad del aceite todavía en fase líquida (Hartel, 1992). Este aspecto es de gran relevancia en los procesos de cristalización desde una disolución, donde por lo general se separa un cristal idealmente puro y donde la fase sólida enfrenta un entorno de composición muy diferente a la del cristal. Durante la solidificación de un material fundido, sin embargo, el núcleo cristalino está rodeado de un mayor número de moléculas más semejantes y con posibilidades de incorporarse con menor dificultad, que en las disoluciones, a la superficie del cristal (Mersmann, 1995). No obstante ello, una explicación más detallada de el efecto global de la temperatura sobre la velocidad de cristalización de la GASM habrá de requerir definir cuál de estos aspectos, el de integración de moléculas al cristal o el difusional, es el controlante durante el proceso global de cristalización, mediante el análisis complementario de la influencia de la temperatura sobre la viscosidad de la GASM y el de ésta sobre el proceso de crecimiento de los cristales.

Los valores de Z en función de la temperatura se analizaron considerando la ecuación de Arrhenius. El ajuste de los datos de los valores de Z proporcionados por el modelo original de Avrami, resultó en un valor evidentemente erróneo para la E_a del proceso de cristalización; no así los valores obtenidos con la ecuación modificada. La energía de activación calculada con las constantes proporcionadas por esta última fue de 203.15 kJ/mol, muy semejante al obtenido en el modelo auto-catalizado y a los reportados para la cristalización de TG.

En función de los resultados obtenidos la ecuación modificada de Avrami fija mejor los datos experimentales de la cristalización isotérmica de la GASM en lo que se refiere a las velocidades de cristalización, su dependencia con la temperatura de cristalización y respecto a la barrera energética relacionada al fenómeno. No así respecto al parámetro r o índice de Avrami donde los valores calculados dependieron del extenso de la cristalización y fueron mucho más grandes que los teóricos. Por su parte el modelo autocatalizado presentó resultados relativamente coincidentes con los obtenidos con la ecuación modificada de Avrami, por lo que su pertinencia, si bien requiere mucho más evidencias experimentales, su utilización para modelar la cristalización isotérmica de grasas parece prometedora.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.10 Pruebas de compatibilidad en mezclas de GASM-MC

4.10.1 Comportamiento térmico

Las Figuras 4.23 y 4.24 presentan los termogramas correspondientes a las mezclas GASM-MC no estabilizadas para composiciones de 0.0 a 1.0 de GASM. En la primera figura, se aprecia la semejanza de los perfiles térmicos durante la fusión para ambas grasas, aún cuando el área del pico máximo de fusión de la MC se aprecia mayor, resultado de un calor de fusión más grande. La segunda figura permite observar el proceso de cambio de los perfiles de fusión de las mezclas al ir aumentando la cantidad de GASM. No obstante, la semejanza de los perfiles se mantiene sin presentar efectos de cambio notables.

La Figura 4.25 presenta los perfiles térmicos de fusión de las mezclas de GASM-MC en muestras estabilizadas en el polimorfo β . En ellas es notoria la influencia de la progresiva participación de la GASM en la mezcla sobre la amplitud del intervalo de fusión, como consecuencia de la fracción de punto de fusión más bajo; también se observa, cómo se mueve el valor máximo, desde una temperatura de 36°C para la MC, hasta 40°C para la GASM.

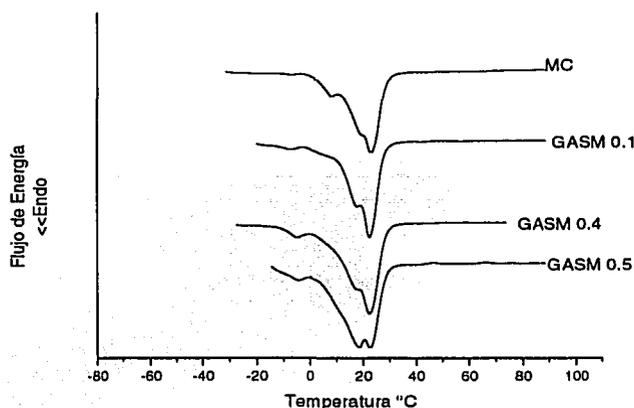


Figura 4.23 Curvas de fusión de mezclas de GASM-MC no estabilizadas en composiciones de 0.0 a 0.5

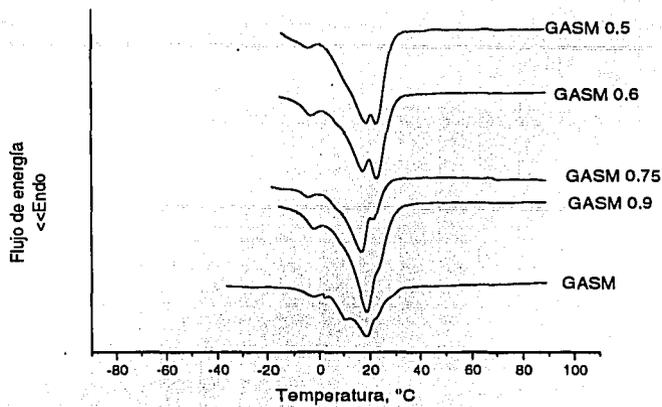


Figura 4.24 Curvas de fusión de mezclas de GASM-MC no estabilizadas en composiciones de 0.5 a 1.0

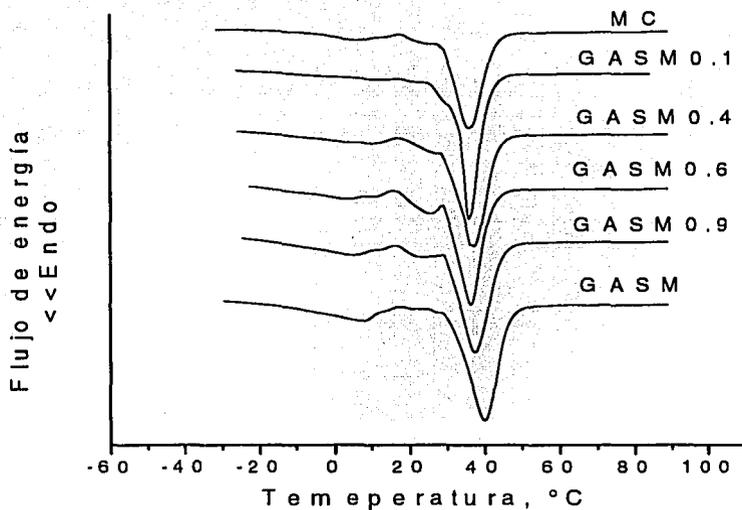


Figura 4.25 Curvas de fusión de las mezclas de GASM y MC estabilizadas

La comparación de los termogramas de las muestras no estabilizadas y estabilizadas permite mostrar el efecto del enfriamiento rápido sobre la formación de cristales mezclados al mostrarse cada curva de las mezclas de GASM-MC con numeroso hombros y multiplicación de picos, no presentes en las muestras estabilizadas donde los procesos de reordenamiento molecular y reempaquetamiento cristalino produjo termogramas más definidos, sin hombros y pocos picos máximos de fusión

4.10.2 Contenido de sólidos de las mezclas GASM-MC

La Tabla 4.20 muestra en detalle las temperaturas para las que las mezclas, sin estabilizar, mantienen un mismo porcentaje de sólidos a algunas de las composiciones estudiadas. Las Figuras 4.26 y 4.27 muestran los diagramas de iso-sólidos de mezclas de GASM y MC. Como ya se dijo, los diagramas unen puntos de igual contenido de sólidos de la grasa en un gráfico composición-temperatura que permite analizar la interacción de los componentes y los perfiles de fusión de las mezclas, en términos de su compatibilidad, formación de eutécticos con efectos de reblandecimiento, respecto a los componentes puros o la formación de compuestos con puntos de fusión más altos (Birker y Padley, 1987; Talbot, 1995).

Tabla 4.20 Temperaturas para diferentes porcentajes de sólidos de mezclas GASM-MC

Composición (Fracción de GASM)	Porcentaje de sólidos a la temperatura (°C)					
	5%	10%	20%	30%	50%	80%
0.000	27.7	26.1	24.4	23.1	20.3	13.8
0.250	24.8	23.7	22.3	21.1	18.1	9.9
0.500	27.3	25.3	23.4	21.8	18.4	12.4
0.750	23.5	21.9	19.3	17.5	14.5	6.3
1.000	27.2	24.5	21.6	19.5	15.9	8.2

En las muestras sin estabilizar, el diagrama de isolíneas hace evidente que, la GASM al ser una grasa más blanda que la MC, provoca un efecto de reblandecimiento; más evidente en mezclas en las que participa de 60 a 80% en peso. En participaciones menores, el efecto es pequeño y a composiciones mayores, incluso, el efecto es compensado; más, a valores pequeños de sólidos, donde la GASM requiere temperaturas más altas que la MC para fundir. De hecho el perfil de fusión de la GASM, como se vio antes, es más amplio, comenzando a fundir a temperaturas más bajas y terminando de cambiar de fase a temperaturas más altas que la MC. El diagrama muestra una compatibilidad menor de la

GASM con la MC, que otros buenas grasa equivalentes, como la *Coberina*, cuyas isolíneas son más paralelas y horizontales cuando se mezcla con la MC (Talbot, 1995). No obstante, la GASM presenta una mejor compatibilidad con la MC que la que han reportado de la grasa de leche, las grasas láuricas y la grasa de aceite de algodón hidrogenado, cuando han sido mezcladas con la MC (Birker y Padley, 1987; Talbot, 1995).

De acuerdo con el diagrama antes citado, la isolínea de 80% de sólidos muestra la existencia de un eutéctico (a composiciones entre 0.7-0.8 de GASM), que se presenta como un mínimo y es poco notorio a valores de sólidos menores. Se ha sugerido por algunos autores que las interacciones eutécticas pueden ser utilizadas con ciertas ventajas en algunas aplicaciones; Timms (1985), por ejemplo, refiere que algunas mezclas de aceite de palma y aceites láuricos que se ha encontrado presentan puntos de fusión más bajos y mejor estabilidad en frío que sus constituyentes, pueden ser utilizadas como aceites para freído.

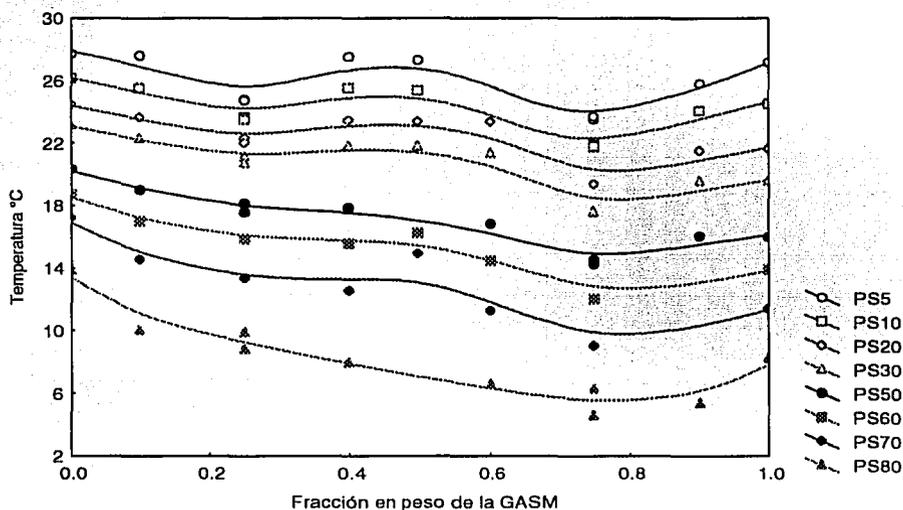


Figura 4.26 Diagrama de isosólidos de mezclas GASM y MC, sin estabilizar

Para las mezclas estabilizadas en la forma β , cuyo comportamiento se muestra en la Figura 4.27 se hace evidente una mayor compatibilidad, no hay efecto de reblandecimiento a composiciones menores a 20% de GASM y se hace evidente un efecto de mayor dureza a composiciones mayores de 80% de GASM. Otra vez, es claro el perfil de fusión más amplio

de la GASM, que requiere temperaturas más bajas que la MC para tener un 80% de sólidos y temperaturas más altas para fundir los últimos 5% de sólidos de la grasa en estado puro.

El diagrama de las mezclas estabilizadas corrobora la compatibilidad de la GASM con la MC superior a otras grasas, como las láuricas y otras provenientes de la hidrogenación de aceites vegetales.

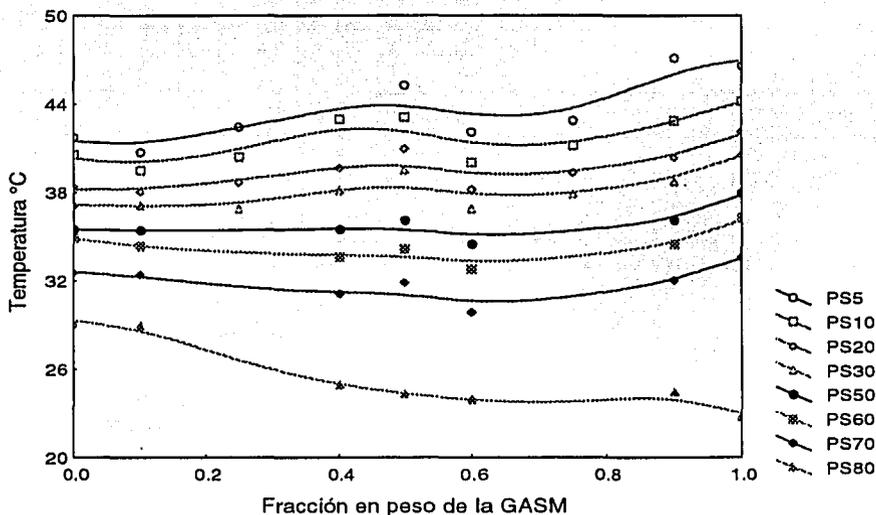


Figura 4.27 Diagrama de isosólidos de GASM y MC en muestras estabilizadas

4.11 Comportamiento de las mezclas ternarias GASM-MC-GAZM

4.11.1 Caracterización fisicoquímica de la GAZM

La Tabla 4.21 presenta los valores promedio de las características fisicoquímicas de la grasa de almendra de zapote mamey (GAZM), misma que se utilizó como constituyente en el análisis del comportamiento de la GASM en sistemas ternarios.

Como puede observarse, en la Tabla 4.21 y en los datos de la Tabla 4.12, las tres grasas tienen como principales ácidos grasos al palmítico, esteárico y oleico que en conjunto contabilizan 94.57, 90.05 y 89.31% del total de ácidos grasos presentes en la MC, GASM y

GAZM, respectivamente. lo que refleja también para la GAZM, una composición relativamente sencilla. Otros AG presentes en cantidades importantes son el linoleico y el araquídico y, en menores proporciones el linolénico y el behénico.

Tabla 4.21 Composición química de la GAZM

AG ^a		GAZM Media ^b ±σ
Palmitico	C16	12.02±1.6
Estearico	C18	27.28±1.93
Oleico	C18:1	50.01±2.48
Linoleico	C18:2	8.66±3.00
Linolénico	C18:3	0.22±0.06
Araquídico	C20	0.66±0.19
Behénico	C22	0.60±0.04
No identificados		0.55
AGS ^c		40.56
AGMI ^d		50.01
AGPI ^e		8.88
Valor de saponificación ^f		195
Valor de Iodo ^g		58

En % de área de AG-metil-éster; b) Análisis por triplicado; c) AGS: % Ácidos grasos saturados; d) AGMI: % Ácidos grasos monoinsaturados; e) AGPI: % Ácidos grasos poliinsaturados; f) en mg de KOH/g de grasa; g) g de I₂/100g

4.11.2 Perfiles de fusión de las mezclas GASM-MC-GAZM

Las Figuras 4.28 y 4.29, muestran las curvas de fusión de las grasas MC, GASM y GAZM y de sus mezclas en las proporciones especificadas en el modelo experimental. En ellas se observa la semejanza relativa en el comportamiento térmico de la GASM y la MC en el sentido de presentar un máximo de absorción de energía predominante alrededor de los 35°C. La GAZM por su parte presenta tres máximos bien definidos que corresponden a mezclas de triacilglicéridos a baja, intermedia y alta temperaturas de fusión en un intervalo que va de -22°C a cerca de los 37.7°C. Las mezclas ternarias muestran perfiles más complicados, aumentando en lo general el número de picos y de hombros con corrimientos apreciables de los valores máximos, respecto de los que presentan los constiuyentes por sí solos. La mezcla E que corresponde a una relación aproximada de 1:4:1 (p/p) de las tres grasas, muestra el predominio de un solo máximo a alrededor de los 20°C. El efecto de dilución de las grasas más blandas (GASM y GAZM) produjo un corrimiento hacia

temperaturas más bajas de los puntos de fusión de la grasa más dura (MC) no obstante estar presente en la mayor proporción. La mezcla A que es una mezcla de iguales cantidades de GASM y MC, presenta una ampliación de un pico de bajo punto de fusión, existente de un modo incipiente en la GASM sola, y un ligero corrimiento hacia arriba del máximo de fusión de alta temperatura respecto de los que presentan por sí solos, los dos componentes. La mezcla B es interesante porque al estar constituida por porciones iguales de GASM y GAZM presenta un perfil de fusión con cierta semejanza al de las GASM y MC, solas.

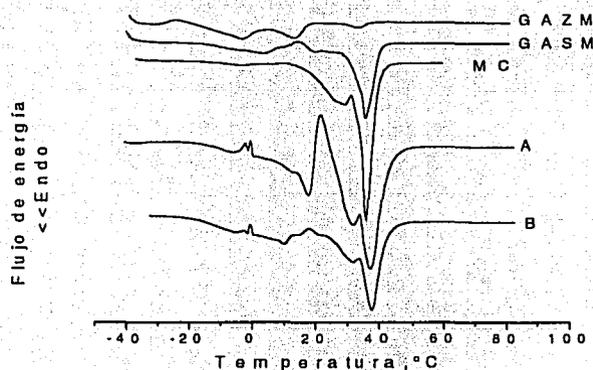


Figura 4.28 Curvas de fusión de GASM, MC y GAZM y las mezclas A y B
(Composición de GASM,MC y GAZM de A = 0.5, 0.5, 0.0 y de B = 0.5, 0.0, 0.5)

La mezcla de MC y GAZM en iguales proporciones (curva C) produce un perfil térmico de fusión con tres valores máximos más cercanos entre sí que los que presenta la GAZM por sí sola. La curva G muestra el perfil térmico de una mezcla en igual peso de los tres constituyentes.

Las Figuras 4.30 y 4.31 presentan las curvas de cristalización de los tres constituyentes grasos y sus respectivas mezclas ternarias. Las curvas son notoriamente más simples que sus correspondientes curvas de fusión. La GAZM con una temperatura de inicio (*onset*) de la cristalización, más baja, de alrededor de 2.5°C, la MC con un inicio de la solidificación a temperatura más alta (15.3°C) y la GASM a una temperatura ligeramente menor a esta última (14.2°C). Las mezclas presentan diferentes temperaturas de inicio de solidificación resultado de la interacción de las especies moleculares de cada uno de los tres constituyentes. Las curvas de las mezclas son, en lo general, más anchas que las de sus

constituyentes solos y los máximos de cristalización con corrimientos hacia abajo o hacia posiciones de temperatura intermedia entre los máximos que presentan los constituyentes.

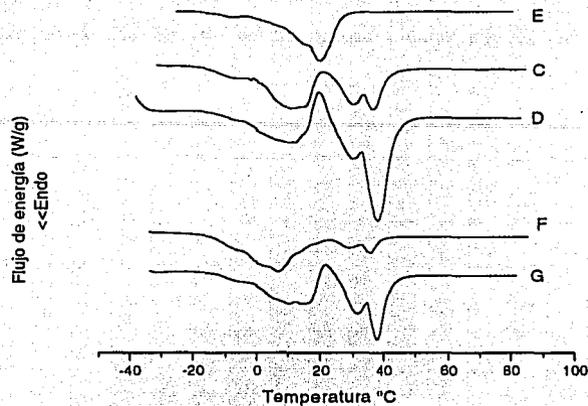
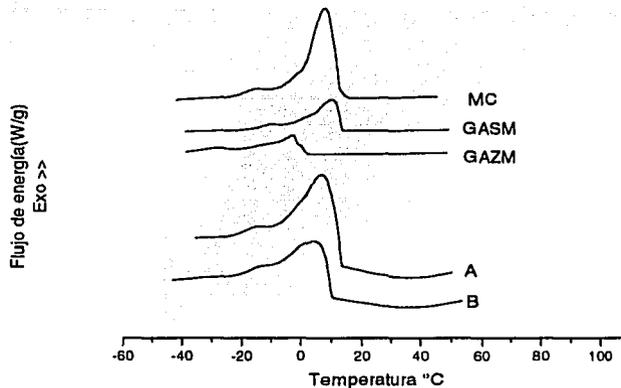


Figura 4.29 Curvas de fusión de las mezclas C, D, E, F y G

(Composición GASM, MC y GAZM de C = 0.0, 0.5, 0.5, D = 0.667, 0.167, 0.167, E = 0.167, 0.667, 0.167, F = 0.167, 0.167, 0.667 y G = 0.333, 0.333, 0.333, respectivamente)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4.30 Curvas de cristalización de MC, GASM y GAZM y las mezclas A y B

(Composición GASM, MC y GAZM de A = 0.5, 0.5, 0.0 y de B = 0.5, 0.0, 0.5, respectivamente)

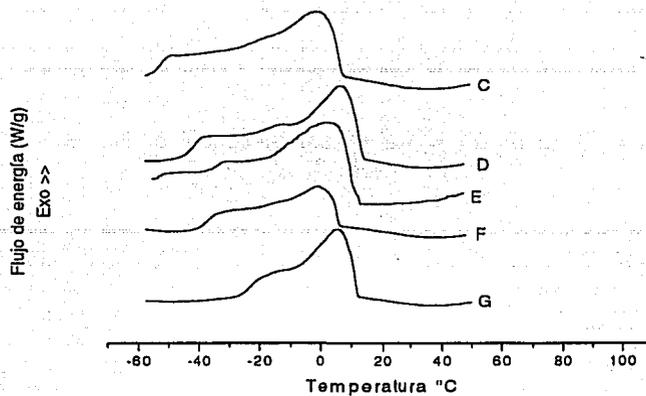
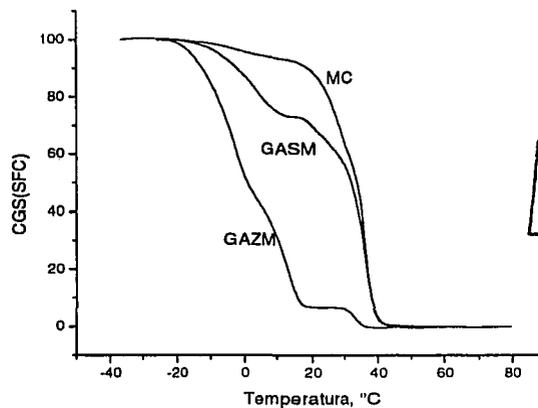


Figura 4.31 Curvas de cristalización de las mezclas C, D, E, F y G

(Composición GASM, MC y GAZM de C = 0.0, 0.5, 0.5; D = 0.667, 0.167, 0.167; E = 0.167, 0.667, 0.167; F = 0.167, 0.167, 0.667 y G = 0.333, 0.333, 0.333, respectivamente)

La Figura 4.32 muestra comparativamente los perfiles de sólidos de la MC, GASM y GAZM para un intervalo de temperatura de -40 a 80°C . Se aprecia el cambio en el contenido de sólidos de cada grasa con el cambio en la temperatura. El característico perfil de sólidos de la MC presenta una pendiente muy pronunciada entre los 30 y 40°C , lo que representa un cambio considerable en el contenido de sólidos en ese intervalo que incluye la temperatura corpórea normal de los seres humanos.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 4.32 Perfil de sólidos de MC, GASM y GAZM

Antes de ese intervalo, la MC, tiene la suficiente cantidad de triacilglicéridos en fase sólida que permite su manejo en ese estado antes del consumo aún a las temperaturas ambientales relativamente altas. Como ya se mencionó antes, el perfil de sólidos de la GASM de notable semejanza con la de la MC, presupone una grasa ligeramente más blanda a temperaturas menores a los 30°C que la MC y la GAZM presenta un perfil que corrobora el que sea considerada un aceite a temperaturas ambientales, en zonas templadas y cálidas.

La Tabla 4.22 presenta una comparación de las temperaturas de transición más características obtenidas mediante CB (DSC) de las mezclas estudiadas.

4.11.3 Contenido de sólidos de MC, GASM y GAZM y sus mezclas

La Figura 4.33 muestra las líneas de contenido de grasa sólida de cada una de las mezclas resultantes del sistema MC-GASM-GAZM, para un intervalo de temperaturas que comprende las cuatro zonas de fluidez de los triacilglicéridos, lo que permite interpretar las relaciones sólido/líquido y el peso de las funciones primarias de lubricidad y estructura de las grasas y aceites en productos alimenticios a las temperaturas de refrigeración (10°C), ambiental (21.1°C), corporal (33.3-37.8°C) y de preparación (40°C) de productos grasos. Como es sabido la lubricidad describe la suavidad y succulencia necesarias en un producto comestible y la función estructural de la grasa influye en su consistencia a través de las propiedades de aireación y cremado, conducta de fusión, untabilidad, retención de humedad etc. (O'Brien, 1998).

Aún cuando, como es sabido, algunas grasas y aceites comienzan a tener suficiente cuerpo y consistencia a contenidos de sólidos tan bajos como 10%, a excepción de la GAZM y las mezclas E y F, como puede observarse en la Figura 4.33, el resto de ellas mantienen una consistencia francamente sólida, casi a todo lo largo del intervalo de temperatura mostrado, dado que tienen más de un tercio de triglicéridos sólidos cristalinos suspendidos en hasta dos tercios de triglicéridos líquidos, relación que se hace más pequeña sólo a temperaturas cercanas a los 35°C y superiores.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4.22 Comparación de las temperaturas de transición, para la cristalización y la fusión de las mezclas GASM-MC-GAZM

Curva	Muestra*	T ₀	Temperatura de transición (°C)					T _f	Intervalo
			1	2	3	4	5		
Fusión									
	MC	-2.5	29.4	36.1				44.8	47.3
	GASM	-11.7	4.7	20.7	35.9			44.0	55.7
	GAZM	-22.1	-2.5	13.4	33.9			37.8	59.9
	A	-10.2	-5.9	-1.4	17.6	31.9	37.2	50.1	60.2
	B	-21.1	-1.4	10.4	31.6	37.8		48.1	69.2
	C	-16.6	-6.3	13.3	30.7	36.6		48.0	64.6
	D	-15.3	12.4	30.7	38.4			50.8	66.1
	E	-15.8	-7.3	15.6	20.6			31.4	47.2
	F	-15.8	7.4	28.8	35.7			42.3	58.1
	G	-14.0	10.6	16.1	31.1	38.0		48.9	62.9
Cristalización									
	MC	16.2	8.2	-13.6				-20.1	36.3
	GASM	14.3	10.5	-9.0				-16.0	30.3
	GAZM	3.2	-2.2	-26.9				-33.3	36.5
	A	14.0	7.3	-13.9				-26.0	40.0
	B	11.1	4.9	-11.1				-22.8	33.9
	C	8.4	-0.4	-48.6				-56.6	65.0
	D	14.5	7.1	-13.0	-37.4			-46.3	60.8
	E	13.4	3.0	-30.2				-50.0	63.4
	F	7.3	-0.4	-31.4				-41.1	48.4
	G	12.2	6.2	-13.6				-26.5	38.7

*Composición en GASM,MC y GAZM de A = 0.5,0.5,0.0; B = 0.5,0.0,0.5; C = 0.0,0.5,0.5; D = 0.667,0.167,0.167; E = 0.167,0.667,0.167; F = 0.167,0.167,0.667 y G = 0.333,0.333,0.333, respectivamente

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

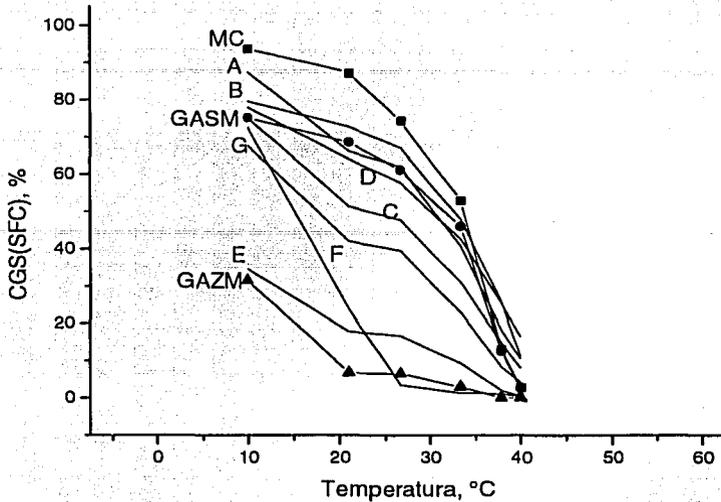


Figura 4.33 Contenido de grasa sólida, CGS, de mezclas GASM, MC y GAZM

(Composición de A = 0.5,0.5,0.0; B = 0.5,0.0,0.5; C = 0.0,0.5,0.5; D = 0.667,0.167,0.167;

E = 0.167,0.667,0.167; F = 0.167,0.167,0.667 y G = 0.333,0.333,0.333, respectivamente)

La mezcla E mantiene un porcentaje de sólidos entre 15 y 25% durante un intervalo relativamente amplio de temperaturas, que va de los 16 a los 30°C, mostrando con ello un intervalo plástico algo semejante al de las mantecas de propósito múltiple (O'Brien, 1998).

La GASM y las mezclas A, B y D tienen perfiles de sólidos cercanos a las de las grasas de confitería, como la MC, esto es, un porcentaje de sólidos que les da firmeza casi en todo el intervalo de temperatura para, en su porción final, después de los 30°C, presentar un perfil de sólidos notoriamente escarpado. El perfil de sólidos de las mezclas C, G y F, con comportamiento intermedio a las presentadas antes recuerdan, un tanto, los perfiles de sólidos de las mantecas de freído.

4.11.4 Conducta ternaria de fase de mezclas de MC, GASM y GAZM

Las Figuras 4.34 a la 4.39, presentan los diagramas ternarios de fase de las mezclas de MC, GASM y GAZM para varias temperaturas. Las líneas representan las composiciones de las mezclas para las cuales existe una misma proporción de grasa-sólida/grasa-líquida. Estos

diagramas ternarios contribuyen al entendimiento de la compleja conducta de solución de los constituyentes de las mezclas. De acuerdo con los diagramas, durante la fusión se observa un corrimiento del patrón de isolíneas observado en la Figura 4.34 ($T = 10^{\circ}\text{C}$) al mostrado en la Figura 4.39 (40°C). Una conducta de mezclado ideal mostraría líneas rectas paralelas al eje inferior o a alguno de los ejes laterales, sin embargo, en lo general, esto no fue observado para las combinaciones y temperaturas mostradas. Ello se debe a la presencia de una entalpía de mezclado adicional a las de cristalización y de fusión de los propios constituyentes de las mezclas. La lejanía del comportamiento ideal hace que no sea uniforme para todas las composiciones y temperaturas.

La equivalencia de las mezclas con otras grasas de uso industrial requiere que el comportamiento sólido/líquido de la mezcla se asemeje cercanamente dentro del intervalo de temperaturas requerido. Por ejemplo, la mezcla B (0.50 de GASM y 0.50 GAZM) presenta un comportamiento en el CGS (SFC) cercano al de la MC a las temperaturas de 10, 21.1, 26.7 y 33.3°C ; después, a temperaturas más elevadas como a 37.8 y 40°C , mantiene un porcentaje de sólidos más alto (24% contra 11% y 11.6% contra menos de 2% de sólidos, respectivamente).

De un modo aproximado, las mezclas de MC, GASM y GAZM que podrían tener un comportamiento, por ejemplo, como grasas de confitería, en el intervalo de temperaturas analizado, serían las de composiciones representadas dentro del área marcada por el semi-arco trazado en la Figura 4.34, que toca los puntos comprendidos por el vértice del triángulo entre 0.24 de GAZM y 0.30 de MC, con mezclas de composición como la del punto Y (0.60 de MC, 0.35 de GASM y 0.05 de GAZM), indicado en la Figura 4.38. Esta mezcla tiene un CGS de 85.2% a 10°C , 58% a 20.1, 53.0% a 26.7 y de, aproximadamente, 9% a 40°C . Un exploración más exhaustiva del comportamiento de fase del sistema MC-GASM-GAZM, puede mostrar líneas interesantes de experimentación para composiciones de mezclas que presenten comportamientos semejantes a las mantecas de untar, mantecas de freído o para otros propósitos en productos cosméticos, farmacéuticos, etc.

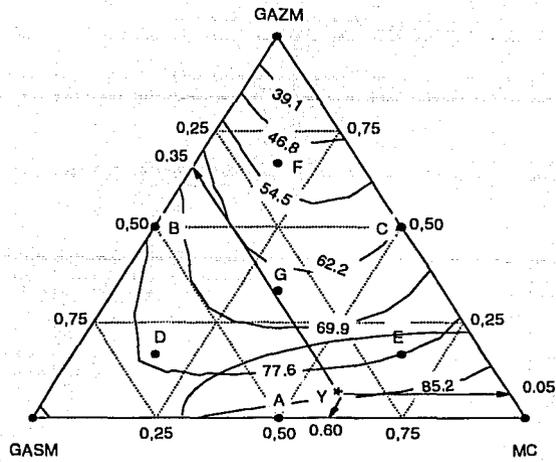


Figura 4.34 Diagrama de líneas de isosólidos a 10°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

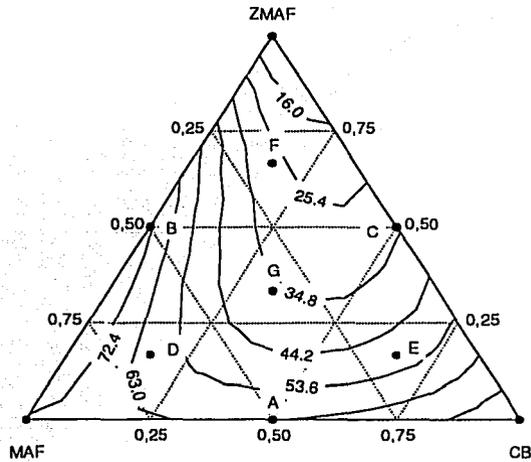


Figura 4.35 Diagrama de líneas de isosólidos a 21.10°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

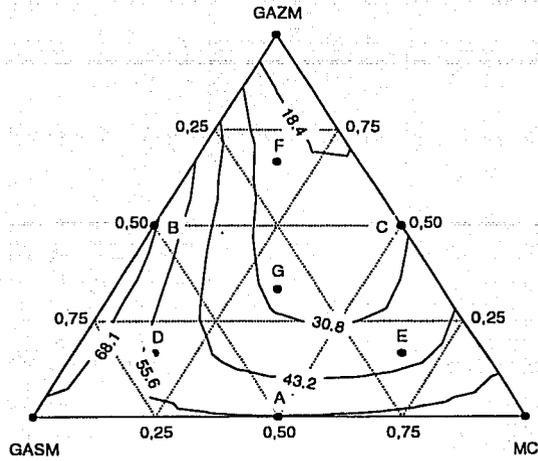


Figura 4.36 Diagrama de líneas de isosólidos a 26.7°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

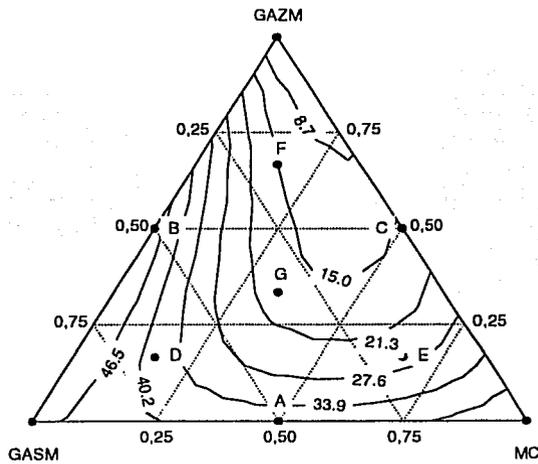


Figura 4.37 Diagrama de líneas de isosólidos a 33.3°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

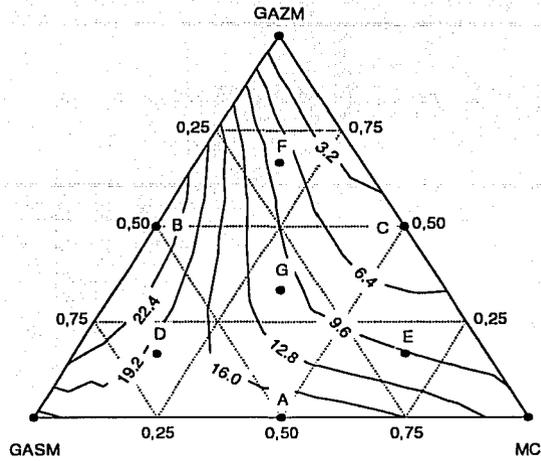


Figura 4.38 Diagrama de líneas de isosólidos a 37.8°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

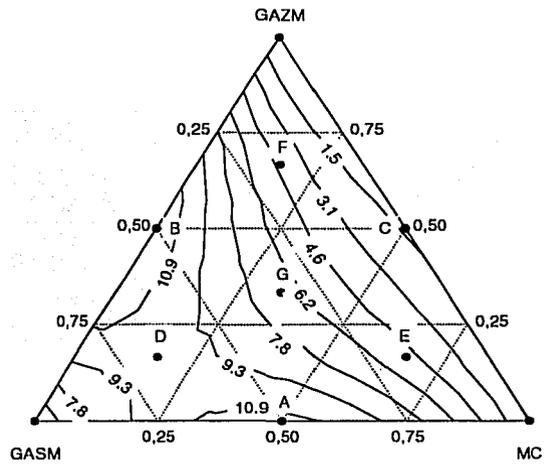


Figura 4.39 Diagrama de líneas de isosólidos a 40°C de mezclas estabilizadas de MC, GASM y GAZM

Con base en los resultados obtenidos de esta investigación, a continuación se presentan las conclusiones derivadas de ellos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Conclusiones

La presente investigación planteó como hipótesis que, analizando algunas propiedades importantes de grasas y aceites de procedencia no-tradicional, podría corroborarse que poseen propiedades equivalentes a las de las grasas y aceites conocidos internacionalmente y de gran valor comercial, como la manteca de cacao, lo que permitiría darles un valor agregado.

Se pudo corroborar la riqueza de los materiales de origen biológico y, en específico, de aquéllos tipificados con residuos que, teóricamente, solamente contaminan el ambiente. Obviamente, a la luz de los conceptos tradicionales de materias primas y residuos, estos materiales no tienen asignado socialmente un valor intrínseco y, por ende, no solamente carecen de valor comercial o económico sino que plantean un costo adicional durante su procesamiento al tener que invertir recursos para disponer de ellos.

Los resultados obtenidos en esta investigación aportan conocimiento nuevo fundamental y complementario sobre la conducta térmica, las transiciones predominantes de fase y el comportamiento de las transiciones sólido-líquido de la grasa de la almendra de la semilla de mango de la variedad Manila (GASM) y de sus mezclas con otras grasas. Ello abre la posibilidad de que su utilización eficiente, tanto en México como en otros países emergentes que producen cantidades importantes de esta fruta y que generan este llamado residuo, se dé con bases científicas y tecnológicas más firmes.

El estudio de caso de la almendra de la semilla de mango - y de la misma manera de la semilla de zapote mamey - es ejemplar ya que los conocimientos tradicionales de estos materiales biológicos desarrollados por las culturas precolombinas para el zapote mamey y de las de Asia para el mango fueron respaldadas y corroboradas científicamente por esta investigación contribuyendo con conocimiento fundamental a enriquecer las posibilidades de aplicación de la ingeniería para obtener grasas de valor comercial.

A la luz de los resultados obtenidos, la GASM extraída y purificada dando un producto de color amarillo pálido, tiene índices de saponificación y de yodo muy cercanos a los determinados y reportados para la MC (189.0 y 47.7, respectivamente) y una composición de ácidos grasos con predominio del oleico, esteárico y palmítico, al igual que en la MC y con la presencia en cantidades menores de otros ácidos grasos saturados de cadena más larga como araquídico, behénico y lignocérico.

Las pequeñas diferencias en la composición ácido-grasa de este material determinan algunas otras en la composición acilglicérida y en su comportamiento térmico. Tiene un perfil de cristalización simple que presenta un solo máximo a los 10.4°C y una entalpía de cristalización de 56 J/g y perfiles de fusión, en muestras estabilizadas y no estabilizadas, también de relativa simplicidad. En el primer caso, la curva de fusión mostró dos máximos que explican la presencia de dos fracciones de mezclas de acilglicérols: una de bajo punto de fusión con un máximo a los 5°C y una de alto punto de fusión con un máximo entre los 36 y los 40°C, presentando un intervalo de fusión amplio dada su naturaleza de mezcla multicomponente, de alrededor de 50°C. Las muestras de GASM no estabilizadas sujetas a una solidificación rápida presentaron un sólo máximo alrededor de los 18.5, lo que corrobora que la solidificación rápida produce cristales mezclados con predominio de formas metaestables. Las entalpías de fusión asociadas fueron de 70.1 y 115.7 J/g, respectivamente. Este comportamiento diferente demuestran que la GASM presenta polimorfismo.

La investigación de polimorfos mediante calorimetría diferencial de barrido, CB (DSC), muestra la posibilidad de que la GASM solidifique con cuatro diferentes formas cristalinas. Las muestras no estabilizadas correspondieron a la formación predominante de formas cristalinas α , de punto de fusión más bajo. Las muestras estabilizadas permitieron, bajo las condiciones de tiempo y temperatura ensayadas, la formación de cristales del polimorfo β y de los polimorfos β_1' y β_2' , que son formas inestables características de los triacilglicérols con predominio de AG de cadena "hidrocarbonada par", formados durante la transición de los cristales α a los β .

Los datos de difracción de rayosX confirmaron solamente la presencia de los dos polimorfos más estables, permitiendo concluir que la GASM es una grasa β -estable, como la MC.

La cristalización isotérmica de la GASM a 8, 10 y 12°C, mostró tiempos de inducción crecientes con la temperatura, siendo éstos de 1.9, 3.8 y 8.2 min, respectivamente. El análisis

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

de los datos experimentales de la cristalización isotérmica de la GASM se ajustó mejor al comportamiento establecido por la ecuación de Avrami modificada por Khanna y Taylor, mostrando que el proceso de cristalización de la GASM se da por la aparición esporádica de sitios adicionales de nucleación y que la velocidad global de cristalización es altamente sensible al nivel de sobreenfriamiento. El efecto específico de éste en los procesos de nucleación, crecimiento de los cristales y supersaturación de los componentes sólidos tendría que ser evaluada en investigaciones ulteriores con datos del efecto de la temperatura sobre la viscosidad de la GASM fundida.

Los perfiles de sólidos de la GASM estabilizada y sin estabilización evidenciaron el efecto de la temperatura sobre las relaciones sólido-líquido durante la transición de fase mostrando que las grasas estabilizadas tienen la mayor consistencia, debido a las formas polimórficas predominantes y a los empaquetamientos moleculares más compactos asociados con formas cristalinas más estables. La pendiente de los perfiles de sólidos de las dos grasas, GASM y MC, fueron muy pronunciadas alrededor de las temperaturas propias del organismo humano, aspecto relevante, característico y apreciable comercialmente, ya que funden en la boca, especialmente en los productos de confitería.

El análisis de compatibilidad de la mezcla de GASM y MC, realizado mediante gráficos de isosólidos, mostró que existe una buena compatibilidad, más cuando las muestras fueron sujetas a estabilización. Tal compatibilidad fue evidentemente superior a la que presentan, de acuerdo con otros estudios de la literatura las mezclas de MC y las grasas láuricas o grasas hidrogenadas de aceites vegetales. Con grasas como la *Coberina*, su compatibilidad resulta menor. La GASM, de acuerdo con los resultados obtenidos, puede sustituir hasta en un 20% a la MC sin mostrar efectos de reblandecimiento por fenómenos eutécticos. Es conveniente resaltar que, como lo señalan algunos autores, en ciertos campos de aplicación específicos, las interacciones eutécticas son deseables y representan ventajas.

Otra aportación importante de esta investigación se refiere al conocimiento de la grasa de la almendra de zapote mamey, GAZM, que hasta ahora no había sido objeto de estudios de ciencia básica. De acuerdo con los resultados obtenidos, la GAZM tiene una consistencia líquida a temperaturas ambientales mayores de 20°C, un valor de saponificación de 195 y un índice de yodo de 58. Tiene una composición de gran predominio de ácidos oleico y esteárico, siendo importantes también en cantidad los ácidos palmítico y linolénico. Acorde con esta composición, tiene un comportamiento térmico que muestra la existencia de tres

fracciones de acilglicerolos: de baja, media y alta temperaturas de fusión. Si bien es evidente la potencialidad de la GAZM de su utilización directa en productos grasos elaborados, sobre una base científica todavía están por establecerse a través de investigaciones ulteriores.

En el presente estudio se analizó el comportamiento de las mezclas de GASM GAZM y MC, toda vez que las tendencias actuales de consumo de grasas comestibles están siendo dirigidas hacia grasas naturales que tengan un procesamiento térmico mínimo.

Los diagramas de fase ternarios de las mezclas de grasa de almendra de semilla de mango-manteca de cacao-grasa de almendra de zapote mamey, GASM-MC-GAZM, permiten analizar las temperaturas y regiones de composición donde las mezclas tendrían propiedades térmicas y mecánicas semejantes a la MC o a otras grasas utilizadas con propósitos industriales similares a esta última. Para confitería, donde la MC es determinante para la calidad, de acuerdo con los resultados obtenidos, el sistema GASM-MC-GAZM presenta una compatibilidad restringida. Sin embargo, para otros usos, como aceites de cocina, mantecas de usos múltiples (como para freido, para untado, etc.), mostraron perfiles interesantes.

Finalmente, para terminar, los diagramas obtenidos en esta investigación pueden ser de utilidad para el plantamiento de investigaciones más profundas de mezclas de estos tres constituyentes, en aplicaciones y productos específicos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Referencias bibliográficas

- Ali, M. A., Gafur, M.A. Rahman, M.S., Ahmed, G.M. (1985). "Variations in fat content and lipid class composition in ten different mango varieties". *JAOCS* 62(3):520-523.
- AOAC (1995). Official Methods of Analysis. Cunniff, P. (Ed.) AOAC International, Arlington, Virginia. EEUUA.
- Applewhite, H. T. (1985). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Vol. 3*. J. Wiley and Sons, New York, EEUUA.
- Arishima, T., Sato, K. (1989). "Polymorphism of POP and SOS. III. Solvent crystallization of β_2 y β_1 polymorphs". *JAOCS*, 66(11):1614-1617.
- Austin, G.T. (1988). *Manual de Procesos Químicos en la Industria*. Tomo II. McGraw Hill. México, D.F. México.
- Avrami, M. (1940). "Kinetics of change phase. Transformation-time relations for random distribution of nuclei". *J. Chem. Phys.*, 8:212-224.
- Báez-Fernández, M. (1996). "Benefat^{MR} o Salatrim: Ingrediente especial para el desarrollo de alimentos bajos en grasa y calorías". *Industria Alimentaria*, 18(4):29-31.
- Bannon, C.D., Craske, J.D., Hai, N.T., Harper, N.L., O'Rourke, K.L. (1982). "Analysis of fatty acid methyl esters with accuracy and reliability". *J. Chrom.*, 247:63-69.
- Barra, J. y Somma, R. (1996). "Influence of the physicochemical variability of magnesium stearate on its lubricant properties: Possible solutions". *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 22(11):1105-1120.
- Beckett, S. T. (1995). "Chocolate confectionary", en S. T. Beckett: Physico-Chemical Aspects of Food Processing. Chapman and Hall. Londres, Inglaterra.
- Bertoli, C., Hosszu-Sackett, K., Melachouris, N., Truifler, H. (1995). "Preparation of butterfat and vegetable butter substitutes". *Patente 5 395 629*. Washington, DC, EEUUA.
- Bigalli, G. (1988). "Practical aspects of the eutectic effect on confectionary fats and their mixtures". *Mamf. Confect.*, 68(5):65-80.
- Birker, P.J.M.W.L., Padley, F.B. (1987). "Physical properties of fats and oils" en *Recent Advances in Chemistry Technology of Fats and Oils*. Editado por Hamilton, R.J. y Bhati, A. Elsevier, New York. EEUUA.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Box, G. E. P., Hunter, W. G., Hunter, J. S. (1989). *Estadística para Investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de datos y construcción de modelos*. Ed. Reverté. Madrid, España.
- Bracco, U. (1973). "Graisses pour confiserie: Aspects technologiques, analytiques et physiologiques". *Riv. Soc. Ital. Sci. Alim.*, 2:145-152.
- Breitschuh, B., Windhab E. (1996). "Direct measurement of thermal fat crystal properties for milk-fat fractionation". *JAOCS*, 73(11):1603-1610.
- Buening-Pfaue, H., Bartsch, A. (1989). "Investigations on the use of milk fat fractions in lauric coatings". *J. Therm. Anal.*, 35:671
- Bystrom, C.E., Hartel, R.W. (1994). "Evaluation of milk fat fractionation and modification techniques for creating cocoa butter replacers". *Lebensm. Wiss. Technol.*, 27:142-150.
- Cottier, D., Rossell, J. B. (1977). "Food composition". *Patente 4 041 188*. Washington, DC. EEUUA.
- Chang, M. K., Abraham, G., John, V. T. (1990). "Production of cocoa butter-like fat from interesterification of vegetable oils". *JAOCS*, 67(11):832-834.
- Chaiseri, S., Dimick, P.S. (1989). "Lipid and hardness characteristics of cocoa butters from different geographic regions". *JAOCS*, 66(11):1771-1775.
- Chapman, D., Crossley, A., Davies, A. C. (1957). "The structure of the major component glyceride of cocoa butter, and the major oleodisaturated glycerid of lard". *J. Chem. Soc.*, 1502-1509.
- Chapman, G. M., Akehurst, E. E., Wright, W. B. (1971). "Cocoa butter and confectionery fats. Studies using programmed temperature X-ray diffraction and differential scanning calorimetry". *JAOCS*, 48:824-830.
- Davis, T. R., Dimick, P.S. (1986). "Solidification of cocoa butter". *Proc. PMCA Prod. Conf.*, 40:104.
- Deffense, E. (1993). "Milk fat fractionation today: A review". *JAOCS*, 70(12):1193-1201.
- De la Roche, I. A., Weber, E.J., Alexander, D. E. (1971). "Selective utilization of diglyceride species into maize triglycerides". *Lipids* 6:531.
- De-León, S. Y., De-Lima, L. S. (1968). "Postharvest changes in some physical and chemical properties of Pico mangoes (*Mangifera indica* Linn. Var. Pico). *Philipp. J. Sci.*, 97:337-347.
- DeMan, L., Xu, Y.J., Chen, H.S., deMan, J.M. (1993). "Polymorphic stability of hydrogenated palm oleins in dilutions with unhydrogenated liquid oils". *JAOCS*, 70(4):431-433.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Dhingra, S., Kapoor, A. (1985). "Nutritive value of mango seed kernel". *J. Sci. Food Agric.*, 36: 752-756.
- Doyle, E. (1997). "Trans fatty acids". *J. Chem. Educ.*, 74(9):1030-1032.
- D'Souza V., De Man, J.M., De Man, L. (1990). "Short spacing and polymorphic forms of natural and comercial solid fats: A review". *JAOCS*, 67(11):835-843.
- Duck, W. (1964). "The measurement of unstable fat in finished chocolate". *Manufacturing Confectioner*, 35(6):67-72.
- Enig, M. G., Atal, S., Keeney, M., Sampugna, J. (1990). "Isomeric trans fatty acids in the US diet". *J. Am. Coll. Nutr.*, 9(5):471-486.
- Evans, C.D., McConnell, D.G., List, G.R., Scholfield, C.R. (1969). "Structure of unsaturated vegetable oil glycerides: Direct calculations from fatty acid composition". *JAOCS*, 46:421.
- FAO (2001). *Production Yearbook 1999. Vol 53*. FAO Statistics Series 156. Roma, Italia.
- Faulkner, R.W. (1981). "Cocoa butter equivalents are truly speciality vegetable fats". *Manuf. Confect. Assoc. Proc. Annu. Prod. Conf.*, 35th, Drexel Hill, Pennsylvania, pp. 67-73.
- Ferrari, R. A., Schulte, E., Esteves, W., Brühl, L., Mukherjee, K.D. (1996). "Minor constituents of vegetable oils during industrial processing". *JAOCS*, 73(5):587-592.
- Foreman, J.A., Blaine, R.L. (1998). "Isothermal crystallization made easy: A simple model and modest cooling rates". Paper TA222. TA Instruments, Inc. New Castle, DE, EEUUA.
- Gibon, V.F.D., Deronaine, C. (1986). "Polymorphism and intersolubility of some palmitic, stearic and oleic triglycerides, PPP, PSP and POP". *JAOCS*, 63:1047-1047.
- Gooding, C.M. (1977). "Preparation of confectioners' fats". *Patente 4 006 264*. Washington, DC, EEUUA.
- Grall, D.S., Hartel, R.W. (1992). "Kinetics of butterfat crystallization". *JAOCS*, 69(8):741-747.
- Gunstone, F.D., Hornwood, J.L. (1994). *The Lipids Handbook*, 2a. Ed., Chapman and Hall Chemical Database, New York, EEUUA.
- Gutcho, M. (1979). *Edible Oils and Fats. Recent developments*. Noyes Data, Co. New Jersey. EEUUA.
- Hagemann, J.W. (1988). "Thermal behavior and polymorphism of acylglycerides", en *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*. Vol. 31, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.

- Hagemann, J.W., Rothfus, J.A. (1993). "Transitions of saturated monoacid triglycerides: Modeling conformational change at glycerol during $\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$ transformation". *JAOCS*, 70(3):211-217.
- Hartel, R.W. (1992). "Solid-liquid equilibrium: Crystallization in foods", en *Physical Chemistry of Foods*. Editado por H. Schwartzberg y R. W. Hartel. Marcel Dekker Inc. New York, EEUUA.
- Hartel, R.W. (1996). "Applications of milk-fat fractions in confectionary products". *JAOCS*, 73(8):945-953.
- Hassan, M., Blanc, P.J., Pareilleux, A., Goma, G. (1995). "Production of cocoa butter equivalents from prickly-pear juice fermentation by an unsaturated fatty acid auxotroph of *Cryptococcus curvatus* grown in batch culture". *Process Biochem.*, 30(7):629-634.
- Hendrikse, P. W., Harwood, J. L., Kates, M. (1994). "Analytical methods", en *The Lipids Handbook* (2a. Ed.), editado por Gunstone, F.D. y Hornwood, J. L. Chapman and Hall Chemical Database. New York, EEUUA.
- Hernqvist, L. (1988). "Crystal structures of fats and fatty acids", en *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*. Vol. 31, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc. New York, EEUUA.
- Herrera, M. L. (1994). "Crystallization behavior of hydrogenated sunflower oil: Kinetics and polymorphism". *JAOCS*, 71(11):1255-1260.
- Herrera, M. L., Hartel, R. W. (2000). "Effect of processing conditions on crystallization kinetics of a milk fat model system". *JAOCS*, 77(11):1177-1187.
- Hicklin, J. D., Jewell, G. G., Heathcock, J. F. (1986). *Food microstructure*, 4:241.
- Hilditch, T.P., Stainsby, W.J. (1936). "The component glycerides of cacao butter". *J. Chem. Soc. Ind.*, 55:95T.
- Hoffman, G. (1989). *The chemistry and technology of edible oils and fats and their high fat products*. Academic Press. San Diego, California. EEUUA.
- Hogenbirk, G. (1990). "The influence of milk fat on the crystallization properties of cocoa butter and cocoa butter alternatives". *Manuf. Confect.*, 70(5):133-140.
- Horwitz, W. (1980). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC. Washington, DC. EEUUA.
- Ivengar, R., Gross, R. (1991). "Fat substitutes", en *Biotechnology and Food Ingredients*. Editado por I. Goldberg y R. Williams. Van Nostrand Reinhold, New York. EEUUA.
- Jiménez-Bermúdez, M., Silva Hernández, E. R., Solís Fuentes, J.A., Durán de Bazúa, M. C. (1995). "La grasa de semilla de mango como posible sustituto de la manteca de cacao".

- Presentado en el *I Congreso Iberoamericano de Ingeniería de los Alimentos*. Nov. 4-7, 1995. Campinas, S.P. Brasil.
- Khanna, Y. P.; Taylor, J. (1988). "Comments and recommendations on the use of the Avrami equation for physico-chemical kinetics". *Polymers Engineering Science*, 28: 1042-1045.
- Kanegae, J., Izumi, T., Mandai, A. (1977). "Method for preparing hard butters from palm oil". *Patente 4 061 798*. Washington, DC. EEUUA.
- Kattenberg, H. R. (1981). "The quality of cocoa butter". *Manuf. Conf.*, 61:32-38.
- Kawamura, K. (1979). "The DSC thermal analysis of crystallization behaviour in palm oil". *JAOCS*, 56: 753-758.
- Keenan, M.R., Ranschler, C.L. (1987). "Autocatalytic cure kinetics from DSC measurements, zero initial cure rate". *J. Appl. Polym. Sci.*, 33:1725.
- Khosla, P., Sundram, K. (1996). "Effects of dietary fatty acid composition on plasma cholesterol". *Prog. Lipid. Res.*, 35(2):93-132.
- Kirschenbauer, H.G. (1964). *Grasas y Aceites, Química y Tecnología*. CECSA, México, D.F. México.
- Koyano, T., Hachiya, I., Arishima, T., Sato, K., Sagi, N. (1989). "Polymorphism of POP and SOS. II. Kinetics of melt crystallization". *JAOCS*, 66(5):675-679.
- Lakshminarayana, G., Chandrasekhara-Rao, T., Ramalingaswamy, P. A. (1983). "Varietal variations in content characteristics and composition of mango seed and fat". *JAOCS*, 60(1):88-89.
- Lambelet, P., Raemy, A. (1983). "Isosolid diagrams of fat from thermal analysis data". *JAOCS*, 60(4):845-847.
- Larsson, K. (1966). "On the structure of the liquid state of triglycerides". *Acta Chem. Scand.*, 20:2255-2256.
- Lasztity, R., El-Shafei, M.A., Abdel-Samei, M.B., Hatour, F.S., Labib, M. (1988). "Biochemical studies of some non-conventional sources of protein. Part 4. The proteins of mango waste stone kernels". *Nahrung*, 32:867-873.
- Laustsen, K. (1991). "The nature of fat bloom in molded compound coatings". *Manuf. Confect.*, 71(5) :137-144.
- Lehninger, A. L. (1984). *Bioquímica*. Ediciones Omega, Barcelona España.
- Levine, I. N. (1978). *Fisicoquímica*. Mc Graw Hill Latinoamericana, Bogotá, Colombia.
- Loisel, C., Keller, G., Lecq, G., Bourgaux, C., Ollivon, M. (1998). "Phase transitions and polymorphism of cocoa butter". *JAOCS*, 75(4) :425-439.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

- Lovegren, N.V., Gray, M.S., Feuge, R. O. J. (1976). "Polymorphic changes in mixtures of confectionery fats" *JAOCS*, 53:83-88.
- Lutton, E. S. (1957). "On the configuration of cocoa butter". *JAOCS*, 34: 521.
- Lutton, E. S. (1972). "Lipid structures". *JAOCS*, 49:1-9.
- Manning, D.M. y Dimick, P.S. (1985). "Crystal morphology of cocoa butter". *Food microstructure*, 4:249-265.
- Martin, R.A. (1987). "Chocolate". *Advances in Food Research*, 31: 211-342.
- Maurya, K.R., Chawdhary, D. N. (1977). "Utilization of mango wastes". *Ind. Food Packer.*, 31:83-84.
- McNaughton, J. L., Mortimer, C. T. (1975). *Calorimetría Diferencial de Barrido*. Perkin Elmer Co. Norwalk Conn. EEUUA.
- Md.Ali, A.R., Dimick, P. S. (1994a). "Thermal analysis of palm mid-fraction, cocoa butter and milk fat blends by differential scanning calorimetry". *JAOCS*, 71(3): 299-302.
- Md.Ali, A.R., Dimick, P. S. (1994b). "Melting and solidification characteristics of confectionery fats: Anhydrous milk fat, cocoa butter, and palm kernel stearin blends". *JAOCS*, 71(8): 803-806.
- Medlicott, P. A., Thompson, A. K. (1985). "Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruits (*Mangifera indica* L. var Keitt) by high performance liquid chromatography". *J. Sci. Food Agric.*, 36:561-566.
- Mehlenbacher, V. C. (1970). *Análisis de grasas y aceites*. Ediciones Urmo. Bilbao, España.
- Mersmann, A. (1995). *Crystallization Technology Handbook*. Marcel Dekker, New York, EEUUA.
- Merker, D. R., Brown, L. C., Wiedermann, L. H. (1958). "Relation of polymorphism to the texture of margarine contg. Soybean and cottonseed oils" *JAOCS*, 35:130
- Microcal (1999). *Origin 6.0*. Microcal Software Inc. Northampton, MA, EEUUA.
- Minifie, B.W. (1980). *Chocolate, Cocoa, and Confection Science and Technology.*, 2a. edición. AVI. Westport, CT, EEUUA.
- Montgomery, D. C. (1991). *Diseño y Análisis de Experimentos*. GEI, México, D.F., México.
- Morera, J.A. (1994). "Sapote (*Pouteria sapota*)". En *Neglected Crops: 1492 From a Different Perspective*, editado por J. E. Hernando Bermejo y J. León. Plant Production and Protection Series No. 26. FAO, Roma, Italia. Pp. 103-109.
- Morga, N. S., Lustre, A. O., Tunac, M. M., Borgot, A. H., Soriano, M. R. (1979). "Physicochemical changes in Philippine Carabao mangoes during ripening". *Food Chem.*, 4:225-234.

- Morton, J. (1987). "Sapote". En *Fruits of warm climates*, editado por Julia F. Morton, Miami, FL. EEUUA.
- Metin, S.; Hartel, R. W. (1990). "Thermal analysis of isothermal crystallization kinetics in blends of cocoa butter with milk fat or milk fat fractions". *JAOCS*, 75:1617-1624.
- Narashima-Char, B.L.; Reddy, B.R.; Thirumala-Rao, S. D. (1977). "Processing mango stones for fat". *JAOCS*, 54, 494-495.
- Nawar, W. W. (1993). "Lípidos". En *Química de Alimentos*, editado por O. Fennema. Acribia, S. A., Zaragoza, España.
- Ng, W. L. (1990). "A study of the kinetics of nucleation in a palm oil melt". *JAOCS*, 67(11):879-882.
- Ng, W. L., Oh, C. H. (1994). "A kinetic study on isothermal crystallization of palm oil by solid fat content measurements". *JAOCS*, 71(10): 1135-1139.
- O'Brien, R. (1998). *Fats and Oils*. Technomic Pub. Co. Lancaster, Penn. EEUUA.
- Ouoba, B., Decroix, M. O., Zuber, M., Chaumeil, J. C. (1994). "Feasibility study of dermatological formulations based on sheabutter for the tropical countries of Africa". *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 20(13) :2091-2107.
- Palmieri, S., Venturi, G. (1999). "Industrial use of vegetable Oils: Reality and potential". *Agro-Food-Industry-Hi-Tech*. 5: 51-54.
- Parmar, S. S., Sharma, R.S. (1986). "Use of mango seed kernel in enhancing the oxidative stability of ghee". *Asian J. Dairy Res.*, 5(2):91-99.
- Parmar, S. S., Sharma, R. S. (1990). "Effect of mango (*Mangifera indica* L.) seed kernels pre-extract on the oxidative stability of ghee". *Food Chem.*, 35:99-107.
- Patel, M., Reinhardt, G. A., Zamanek, G. (1999). "Vegetable oils for biofuels versus surfactants: an ecological comparison for energy and greenhouses gases". *Lipid-Fett*, 101(9):314-320.
- Paulicka, F. R. (1973). "Phase behavior of fats of cocoa butter extenders". *Chem. Ind.*, 17: 835-839.
- Paulicka, F. R. (1981). "Non lauric substitute and replacer confectionery coating fats". *Manuf. Confect. Assoc. Proc. Annu. Prod. Conf.*, 35th, Drexel Hill, Pennsylvania, pp 74-78. EEUUA.
- Perry, R. H., Chilton, C. H. (1973). *Chemical Engineers' Handbook*. International Students. Tokio, Japón.
- Prime, R. B. (1981). *Thermal Characterization of Polymeric Materials*. Editado por E. Turi, Academic Press, New York, EEUUA.
- Reade, M. G. (1980). "Tempering and temper testing". *Manuf. Confect.*, 60: 29-32, 51-54.

- Riiner, U. (1970). "Investigation of the polymorphism of fats and oils by temperature programmed X-ray diffraction". *Lebens. Weiss. Technol.*, 3:101-106.
- Roos, Y. H. (1995). *Phase Transitions in Foods*. Academic Press. Londres, Inglaterra.
- Rousset, Ph., Rappaz, M. (1996). "Crystallization kinetics of the pure triacylglycerols glycerol-1,3-dipalmitate-2oleate, glycerol-1palmitate-2-oleate-stearate and glycerol-1,3-distearate-2-oleate". *JAOCS*, 73(8) :1051-1057.
- Sabariah, S., Md-Ali, A. R., Chong, C. L. (1998). "Chemical and physical characteristics of cocoa butter substitutes, milk fat and Malaysian cocoa butters blends". *JAOCS*, 75(8): 905-910.
- Salunkhe, D. K., Chavan, J. K., Kadam, S. S. (1985). *Postharvest Biotechnology of Cereals*. CRC Press Inc. Boca Raton, FL. EEUUA.
- Sato, K. (1988). "Crystallization of fats and fatty acids". En *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*, Vol. 31, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.
- Sato, K., Arishima, T., Wang, Z.H., Ojima, K., Sagi, N., Mori, H. (1989). "Polymorphism of POP and SOS. I. Ocurrence and polymorphic transformation". *JAOCS*, 66(5):664-674.
- Sato, K. (1999). "Solidification and phase transformation behavior of food fats, a review". *Lipid-Fett*, 101(12):467-474.
- Sato, K., Koyano, T. (2001). "Crystallization properties of cocoa butter". En *Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems*, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.
- Saucedo-Veloz, C., Lakshminarayana, S. (1977). "Efecto de diferentes temperaturas de almacenamiento en la maduración de mangos (*Mangifera indica* L.) var. Manila". *Chapingo, Nueva Época*, 3: 27-36
- Sestak, J. (1984). "Thermophysical Properties of Solids, their Measurements and Theoretical Analysis". Elsevier. Ámsterdam, Holanda.
- Schlichter-Aronhime, J., Garti, N. (1988). "Solidification and polymorphism in coca butter and the blooming problems" en *Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids*, Vol. 31, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.
- Shashirekha, M. S., Patwardhan, M. V. (1976). "Changes in amino acids, sugars and non-volatile organic acids in a ripening mango fruit (*Mangifera indica* Badami variety). *Lebensm. Wiss. Technol.*, 9:369-370.
- Sichina, W. J. (1998). "Autocatalyzed epoxy cure predictions using isothermal DSC kinetics". Application Brief Paper TA93. TA Instruments, Inc. New Castle, DE, EEUUA.

- Simoneau, C, Fairley, P., Krochta, J. M., German, J. B. (1994). "Thermal behavior of butterfat fractions and mixtures of tripalmitin and butterfat". *JAOCs*, 71(8):795-801.
- Singh, L. B. (1960). *The Mango*. Leonard Hill, Londres, Inglaterra.
- Smith, K. W. (2001). "Crystallization of palm oil and its fractions". En *En Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems*, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.
- Smith, P. R. (2000). "The effects of phospholipids on crystallization and crystal habit in triglycerides". *Eu. J. Lipid Sci. Technol.*, 102(2):122-127.
- Smith, R. E., Finley, J. W., Leveille, G. A. (1994). "Overview of Salatrim, a family of low-calories fats". *J. Agric. Food. Chem.*, 42(2) : 432-434.
- Solis-Fuentes, J. A. (1998). "*El aprovechamiento de residuos sólidos y líquidos de la agroindustria alimentaria, cinco ejemplos*". Tesis de Maestría en Ciencia de los Alimentos. Facultad de Química. UNAM. México, D.F. México.
- Solis-Fuentes, J.A., Tapia-Santos, M., Durán-de-Bazúa, M. C. (2001) "Aceite de almendra de zapote mamey, un análisis de rendimientos y condiciones de extracción". *Información Tecnológica*, 12(6):23-28.
- Solis Fuentes J. A., Durán de Bazúa, M. C. (2001). "Los ácidos grasos trans y algunos efectos de su consumo en la salud". *Ciencia*, 52(1-2)4-14.
- StatSoft (1998). *STATISTICA for Windows*. Tulsa, OK, EEUUA.
- TA Instruments (1997). "A review of DSC kinetics methods". Paper TA073B. TA Instruments, Inc. New Castle, DE, EEUUA.
- TA Instruments (1997). "Thermal Solutions. Isothermal kinetics analysis". TA Instruments, Inc. New Castle, DE, EEUUA.
- Talbot, G. (1995). "Fat eutectics and crystallization". En *Physico-chemical Aspects of Food Processing*, editado por S. T Beckett, Blackie Academic and Professional, Chapman and Hall. Londres, Inglaterra.
- Tan, C. P., Che-Man, Y. B. (2000). "Differential scanning calorimetric analysis of edible oils: Comparison of thermal properties and chemical composition". *JAOCs*, 77(2):143-155.
- Tatsumi, Ch., Hashimoto, Y., Matsuo, T. (1977). "Method for producing cacao butter substitute". *Patente 4 032 405*. Washington, DC. EEUUA.
- Tempel, M. Van den (1968). *Surface-active Lipids in Foods*. SCI-Monograph 32: 22-33
- Thomas, A. (1987). "Fats and fatty oils" en *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, vol. A10. Editado por W. Gerhartz. VCH. Weinheim, RFA.

- Timms, R. E. (1980). "The phase behavior of mixtures of cocoa butter and milk fat". *Lebensm. Wiss. Technol.*, 13 : 61-65.
- Timms, R. E. (1984). "Phase behavior of fats and their mixtures". *Progr. Lipid Res.*, 23 :1-38.
- Timms, R. E. (1985). "Physical properties of oils and mixtures of oils". *JAOCS*, 62(2): 241-248.
- Toledo, R.T. (1991). *Fundamentals of Food Process Engineering*. AVI, New York, EEUUA.
- Toro-Vazquez, J. F.; Dibildox-Alvarado, E.; Charó-Alonso, M. A. (1999). "Cálculo de algunos parámetros de la cristalización de triacilglicéridos de aceites vegetales" *Food Sci Tech Int*, 5(1):67-78.
- Toro-Vazquez, J. F., Briceño-Montelongo, M., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Reyes-Hernández, J. (2000). "Crystallization kinetics of palm stearin in blends with sesame seed oil". *JAOCS*, 77(3):297-310.
- Tripathi, J. S. (1980). "Note on postharvest changes during storage and ripening of Guajarjet mango". *Curr. Agric.*, 4:227-228.
- Vaeck, S.V. (1951) "Recherches sur le polymorphisme de quelques graisses naturelles. I: Etude termique et microscopique du beurre de cacao" *Rev. Intern. Choc.*, 4:100-113.
- Vaeck, S.V. (1960). "Cocoa butter and fat bloom". *Manuf. Confect.*, 40(6):35-74.
- Van Erp-Baart, M.A., Couet, C., Cuadrado, C., Kafatos, A., Stanley, J., Van Poppel G. (1998). "Trans fatty acids in bakery products from 14 European countries, the TRANSFAIR Study". *J. Food Comp. Anal.*, 11: 161-169.
- Van de Voort, F. R., Memon, K. P., Sedman, J. E Ismail, A. A. (1996). "Determination of solid fat index by Fourier Transform Infrared Spectroscopy". *JAOCS*, 73(4):411-416
- Van-Pee, W., Boni, L., Foma, M., Hoylaerts, M., Hendrikx, A. (1980). "Positional distribution of the fatty acids in the triglycerides of mango (*Mangifera indica* L.) kernel fat". *JAOCS*, 57:243-245.
- Walker, R. C., Bosin, W. A. (1971). "Comparison of SFI, DSC, and NMR methods for determining solid-liquid ratios in fats" *JAOCS*, 48:50-53
- Walstra, P. (1987). "Fat Crystallization" en *Food Structure and Behavior*, editado por J. M. V. Blanshard y P. Lillford. Academic Press. Orlando, FL. EEUUA.
- Walstra, P., Kloek, W., van Vliet, T. (2001). "Fat crystal networks". En *Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems*, editado por N. Garti y K. Sato, Marcel Dekker Inc., New York, EEUUA.
- Wille, R. L., Lutton, E. S. (1966). "Polymorphism of cocoa butter". *JAOCS*, 43 :491-496.

- Williams, S. D., Ransom-Painter, K. L., Hartel, R. W. (1997). "Mixtures of palm kernel oil with cocoa butter and milk fat in compound coatings". *JAOCS*, 74(45) : 357-366.
- Woodrow, I. L., de Man, J. M. (1968). "Polymorphism in milk fat shown by X-ray diffraction and infrared spectroscopy". *J. Dairy Sci.*, 51:996-1000.
- Young, F. V. K. (1985). "Interchangeability of fats and oils". *JAOCS*, 62(2):372-376.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN