

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Diseño de una manteca vegetal para uso industrial a partir
de grasa interesterificada enzimáticamente”

TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN

Tesis de Grado

Previa a la obtención del Título de:

INGENIERO DE ALIMENTOS

Presentado por:

Jaime Alfonso Salcedo Cruz

GUAYAQUIL – ECUADOR

AÑO: 2014

AGRADECIMIENTO

Agradezco sobre todo a Dios por el regalo de la vida y la familia que me ha dado.

A mis profesores, maestros en sus campos, que moldearon el conocimiento aquí plasmado.

A mi Directora de TFG, MSc. María Fernanda Morales Romo Leroux, por su incondicional apoyo y dirección en la realización de la presente Tesis de Grado

A Industrias ALES C.A., a mis jefes y compañeros, por su apoyo y múltiples aportes al presente documento.

DEDICATORIA

A mi Familia, todos, por su apoyo
incondicional y su infinito amor...

Isabel por ese impulso final...

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Ing. Jorge Duque R.

PRESIDENTE

MSc. María Fernanda Morales R.

DIRECTORA TFG

MSc. Priscila Castillo S.

VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

Jaime Alfonso Salcedo Cruz

RESUMEN

Los aceites o grasas son materias primas para la elaboración de productos de panificación; estas suavizan la textura de la masa final, imparten suavidad, dan sensación de humedad al paladar, contribuyen con la estructura, lubrican, ayudan a la incorporación de aire y a la transferencia de calor.

Una de las propiedades física de las grasas; que posibilitan las funciones arriba descritas, es el CGS (CGS – contenido de grasa solida). El CGS de una grasa influencia directamente la estructura del producto final. Por este motivo es importante a la hora de seleccionar o diseñar un producto graso.

Usualmente este parámetro se modifica mediante el uso de mezclas de grasas sometidas a: fraccionamiento, hidrogenación, interesterificación química, interesterificación enzimática y otros.

La interesterificación es un método relativamente nuevo que ayudan a remover, incorporar o reposicionar los ácidos grasos que componen una

mezcla de grasas; por lo que, la interesterificación enzimática es la modificación de la estructura catalizada por enzimas, específicamente lipasas para la obtención de la interesterificación de ácidos grasos entre moléculas lipídicas. A diferencia del método químico que utiliza altas temperaturas y catalizadores metálicos, el método enzimático emplea condiciones de proceso térmicamente más suaves, genera menos ácidos grasos libres y no requiere de catalizadores químicos.

El objetivo de este trabajo fue analizar y comparar el comportamiento del CGS de una mezcla de aceite refinado de palma y aceite refinado de soya en diferentes proporciones, para la sustitución de uno de los componentes de la manteca vegetal.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iv
ABREVIATURAS.....	viii
SIMBOLOGÍA.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
1. LAS GRASA Y ACEITES	3
1.1 Grasas y aceites comestibles	3
1.2 Aspectos nutricionales	4
1.3 Modificación de grasas y aceites	5
1.3.1 Fraccionamiento y winterización	5
1.3.2 Hidrogenación	10
1.3.3 Descerado.....	14
1.3.4 Interesterificación	17
1.4 Aceite de palma	25
1.5 Aceite de soya	28

1.6	Mantecas	31
1.6.1	Mantecas para panificación.....	35
1.6.2	Especificaciones para mantecas de panificación	36
2.	Hipótesis y objetivos.....	41
2.1	Hipótesis	41
2.2	Objetivos.....	41
2.2.1	Objetivos generales.....	41
2.2.2	Objetivos específicos	42
2.3	Materiales y métodos.....	42
2.3.1	Materias primas.....	42
2.3.2	Reactivos	43
2.3.3	Material de vidrio	43
2.3.4	Instrumentos y equipos de laboratorio	43
2.4	Metodología	44
2.4.1	Elección de las materias prima	44
2.4.2	Activación de la enzima.....	45
2.4.3	Interesterificación enzimática	45

2.5	Métodos de análisis	46
2.5.1	Parámetros físicos.....	46
2.5.2	Parámetros químicos	47
2.6	Características de la enzima.....	47
3.	Diseño de Experimentos	48
3.1	Establecimiento de las variables.....	49
3.1.1	Variables independientes	49
3.1.2	Variables dependientes.....	49
3.2	Diseño experimental	50
3.2.1	Diseño de la optimización	54
3.2.2	Establecimiento de los modelos matemáticos.....	55
3.3	Obtención del producto óptimo	55
3.4	Caracterización del producto óptimo	56
4	Desarrollo y Discusión.....	57
4.1	Determinación de las características físico - químicas de las materias primas.	57
4.2	Determinación de las condiciones de proceso.....	64
4.2.1	Diagrama de proceso	65

4.2.2	Esquema del sistema de reacción.....	67
4.2.3	Características del producto objetivo	68
4.3	Resultados del diseño experimental	69
4.3.1	Diseño experimental: Organización factorial 3^2	70
4.3.2	Análisis estadístico de las respuestas del diseño 3^2	74
4.3.3	Establecimiento del modelo matemático	76
4.3.4	Condiciones para la obtención del producto óptimo.....	80
4.4	Análisis del producto óptimo obtenido	81
4.4.1	Análisis físico químico del producto óptimo.....	82
4.4.2	Análisis de PF y CGS.....	83
4.4.3	Compresión / Textura.....	87
4.4.4	Calorimetría.....	88
4.4.5	Luz polarizada.....	90
5	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	91

ANEXOS

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

PF	Punto de fusión
CGS	Contenido de grasa sólida
RMN	Resonancia magnética nuclear
RMNp	Resonancia magnética nuclear pulsada
SFC	Contenido de grasa solida (Solid Fat Content)
IY	Índice yodo
IP	Índice de peróxido
PPM	Partes por millón
DSC	Differential scanning calorimeter
AGL	Ácido graso libre
OSI	Índice de estabilidad de oxígeno (Oxygen Stability Index)
AOM	Medida de oxígeno disponible (Available Oxygen Measure)
RPM	Revoluciones por minuto
RB	Refinado y blanqueado
RBD	Refinado, blanqueado y deodorizado
RBW	Refinado, blanqueado y winterizado
pH	Potencial de hidrógeno
AOCS	America oil chemists' society
p/p	Relación peso / peso
p/v	Relación peso / volumen
IE	Interesterificación enzimática
IQ	Interesterificación química

SIMBOLOGÍA

g	Gramo
Kg	Kilogramo
°C	Grados centígrados
meq	Miliequivalente
N	Newton
W	Watt
Bar	Bares
l	Litro
ml	Mililitro
hr	hora

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fraccionamiento.....	8
Figura 2. Productos fraccionados.....	9
Figura 3. Diagrama hidrogenación	13
Figura 4. Descerado por filtación y centrífugo.....	16
Figura 5. Usos del aceite de palma.....	27
Figura 6. Diagrama simplificado del experimento.....	50
Figura 7. Contenido de grasa sólida de materia prima.....	62
Figura 8. Diagrama de bloques reacción de interesterificación	66
Figura 9. Esquema del sistema de interesterificación enzimática	67
Figura 10. Resultado interesterificación mezcla 10-90.....	72
Figura 11. Resultados interesterificación mezcla 50-50	73
Figura 12. Resultados interesterificación mezcla 30-70	73
Figura 13. GSS mezcla objetivo	84
Figura 14. Curva de deformación	87
Figura 15. DSC - calorimetría diferencial de barrido	89
Figura 16. Cristales antes de IE	90
Figura 17. Cristales despues de IE	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos obtenidos por Fraccionamiento	7
Tabla 2. Clasificación de Mantecas según su rango de plasticidad	34
Tabla 3. Niveles de aplicación de las variables de estudio	51
Tabla 4. Niveles experimentales de las variables en estudio	54
Tabla 5. Propiedades físico - químicas de las materias primas.....	58
Tabla 6. Características materias primas para interesterificación	59
Tabla 7. Composición triglicéridos de los aceites base	61
Tabla 8. Especificaciones de CGS y PF.....	68
Tabla 9. CGS y PF de las mezclas iniciales	69
Tabla 10. Resultados diseño experimental	71
Tabla 11. Resumen de valores P y F del Análisis ANOVA.....	75
Tabla 12. Respuestas del modelo matemático y la experimentación	79
Tabla 13. Condiciones para la elaboración del producto objetivo	80
Tabla 14. Propiedades físico químicas mezclas óptimas	82
Tabla 15. CGS producto óptimo	83

INTRODUCCIÓN

El desarrollo del siguiente TFG abarca principalmente lo siguiente:

El capítulo 1 hace una breve revisión de la grasa y aceites comestibles y los métodos que se emplean para la modificación de los mismos. También se describen aquí las materias primas disponibles en el país para la elaboración de productos grasos. Por último se introduce al tema de la elaboración de mantecas.

El capítulo 2 establece cuales son los objetivos del presente trabajo y detalla de manera general los materiales, metodología (procedimientos y análisis) y características del experimento que se plantea para aceptar o rechazar la hipótesis formulada.

El diseño de experimentos es detallado en el capítulo 3. Aquí se establecen las variables, método de experimentación y cuáles son los resultados que se esperan obtener.

El capítulo 4 reúne los resultados del diseño experimental y hace un análisis de los datos obtenidos. Todas las pruebas realizadas para la culminación del presente trabajo se detallan en este capítulo.

Finalmente en el capítulo 5 se resume las conclusiones y recomendaciones del autor luego de haber realizado el análisis de los datos obtenidos de la experimentación.

CAPÍTULO 1

1. LAS GRASA Y ACEITES

1.1 Grasas y aceites comestibles

Los aceites y mantecas son productos grasos comestibles que han sido refinados. Luego se han sometido a uno o varios procesos particulares para alcanzar productos con ciertas características. Son muy convenientes para diversas aplicaciones culinarias pero son principalmente usadas en productos de cocina y horneado (panificación y bollería).

Las grasas y aceites actúan como suavizantes del alimento, especialmente los horneados, mediante su habilidad de interponer finas capas de grasa a través del alimento de manera que los componentes proteicos y carbohidratos no se cocinen en una masa dura y compacta.

En las tortas y helados, las mantecas hacen posible la incorporación de pequeñas burbujas de aire que ayudan en gran medida a la conformación de estructuras cristalinas finas, uniformes y estables, los aceites no tienen esta capacidad.

La forma más simple de una manteca es una grasa dura, ya sea natural o *full* hidrogenada, frecuentemente mezclada con un aceite vegetal líquido. Estos productos son plásticos a temperatura ambiente y se etiquetan como mantecas “multipropósito”.

Estos productos sirven para frituras en sartén y para aplicaciones de horneado no muy exigentes. El valor agregado de la manteca yace en el desarrollo de productos con características optimadas, ya sea con otros ingredientes (incluidos emulsificantes) o procesos.

1.2 Aspectos nutricionales

Los Lípidos han sido identificados como un componente fundamental de la dieta. Su fracción cuantitativamente más importante son los triacilglicéridos. Estos sirven como reserva energética para las

actividades diarias y aportan con ácidos grasos esenciales para el desarrollo de las actividades cotidianas

1.3 Modificación de grasas y aceites

1.3.1 Fraccionamiento y winterización

El fraccionamiento y winterización son procesos muy similares que han ganado importancia en los últimos tiempos. En el fraccionamiento, especies moleculares más saturadas en un aceite se solidifican y separan mediante un tratamiento a baja temperatura. Este tratamiento incrementa la estabilidad del aceite almacenado a bajas temperaturas.

De manera similar, en la winterización se cristalizan las ceras para ser posteriormente separadas. Esto ayuda a que, una vez que el aceite este en percha no presente la precipitación de la ceras en él contenidas. En la winterización, la formación de cristales grandes y fácilmente filtrables es una tarea complicada, la temperatura del aceite debe ser disminuida lentamente de manera que se evita la formación de cristales pequeños.

La nucleación ocurre cuando el aceite es enfriado a una temperatura mucho menor que la del equilibrio termodinámico. (A descensos de temperatura lenta la nucleación se ve favorecida y no retiene aceite líquido durante la formación del cristal). La velocidad con la que los cristales se forman depende en gran medida del grado de enfriamiento y la forma polimórfica del cristal deseado.

Este proceso se realiza por las siguientes razones

- Remover las ceras
- Remover triglicéridos de alto puntos de fusión

Productos resultantes

- Estearina
- Bases grasas para mantecas y margarinas con puntos de fusión altos y medios,
- Aceites resistentes a bajas temperaturas
- “Súper oleínas” (doble fraccionamiento de la oleína).

Fraccionamiento múltiple de aceite de palma RBD

El aceite de palma es fraccionado más que ningún otro aceite. Las separaciones sucesivas dan los siguientes productos:

- Oleína de palma; se usa extensivamente como aceite para freír.
- Súper oleína de palma; usada como aceite para ensaladas.
- Fracción media de palma; sirve como equivalente de manteca de cacao
- Otros productos especiales de valores IY extremos

**TABLA 1. PRODUCTOS OBTENIDOS POR
FRACCIONAMIENTO**

Producto Inicial	IY	Productos Finales			
		Fracción 1	IY	Fracción 2	IY
Aceite de Palma RBD	51 – 53	Oleína de Palma	56 – 59	Estearina dura	32 – 36
Oleína de Palma	56 – 59	Súper Oleína	64 – 66	Fracción media de palma suave	42 – 48
Súper Oleína	64 – 66	Top Oleína	70 – 72	Oleína	56 – 59
Estearina	32 – 36	Estearina Suave	40 – 42	Súper Estearina	17 – 21
Estearina Suave	40 – 42	Oleína	56 – 59	Fracción media de palma dura	32 – 36

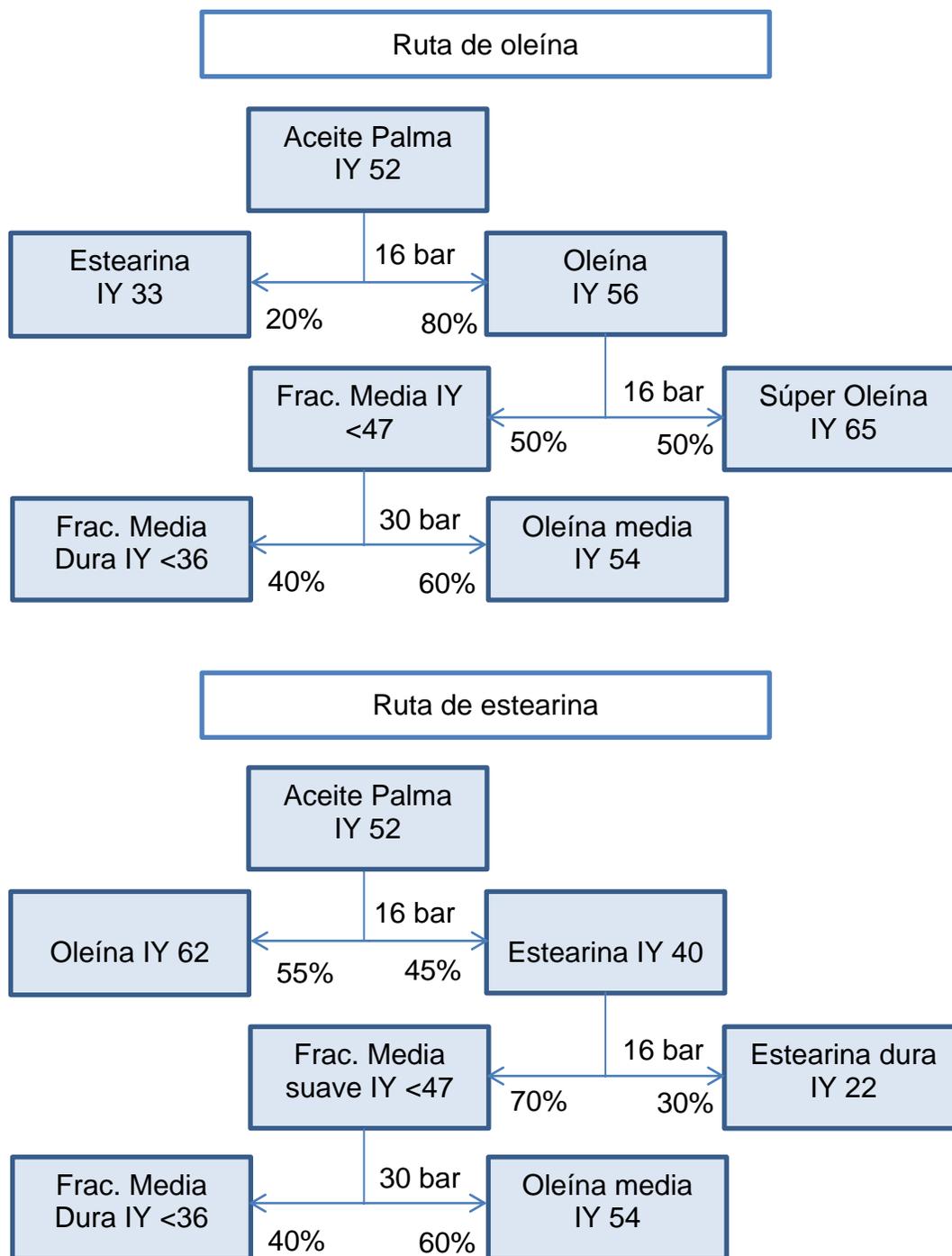


FIGURA 2. PRODUCTOS FRACCIONADOS

1.3.2 Hidrogenación

La hidrogenación permite a los procesadores de grasas y aceites modificar el grado de saturación de las grasas para aplicaciones y funciones muy específicas y es una de las operaciones clave para conferir valor agregado.

La hidrogenación se desarrolló para permitir que aceites vegetales como la margarina y el vanaspati (aceite de origen vegetal, de apariencia semisólida, muy empleado hoy en día en la cocina india y pakistaní para la fritura de los alimentos) pudiesen sustituir a las mantequillas y los ghee (grasa láctea anhidra procesada de la mantequilla para separar los sólidos lácteos y el agua de la grasa butírica). Este mercado ha provisto de una gran salida para todos los aceites comestibles que se procesan hoy en día.

La hidrogenación se realiza específicamente para los siguientes propósitos:

- Proveer de estabilidad al sabor y olor, y mejorar la vida en percha de productos insaturados

- Cambiar las características funcionales de grasas de formación natural a las requeridas para usos específicos.

Este proceso permite, a los panificadores y otras industrias, el uso de aceites y mantecas vegetales mientras que se preservan las características funcionales de productos tradicionales preparados con mantequilla y otras grasas animales.

Dicho de manera simple la hidrogenación se ha diseñado de manera que se sature (hasta un grado deseado) los dobles enlaces en un ester de ácido graso en una molécula de triacilglicérido.

La hidrogenación puede ser o no selectiva dependiendo de las operaciones de proceso. Dicho esto las modificaciones que genera en las grasas son:

- Saturación de los dobles enlaces (selectiva o no selectiva)
- Isomerización *cis* – *trans* de los dobles enlaces

- Cambios de los dobles enlaces a otras posiciones dentro de la cadena de ácido graso.

Productos resultantes

- Grasas y mantecas vegetales

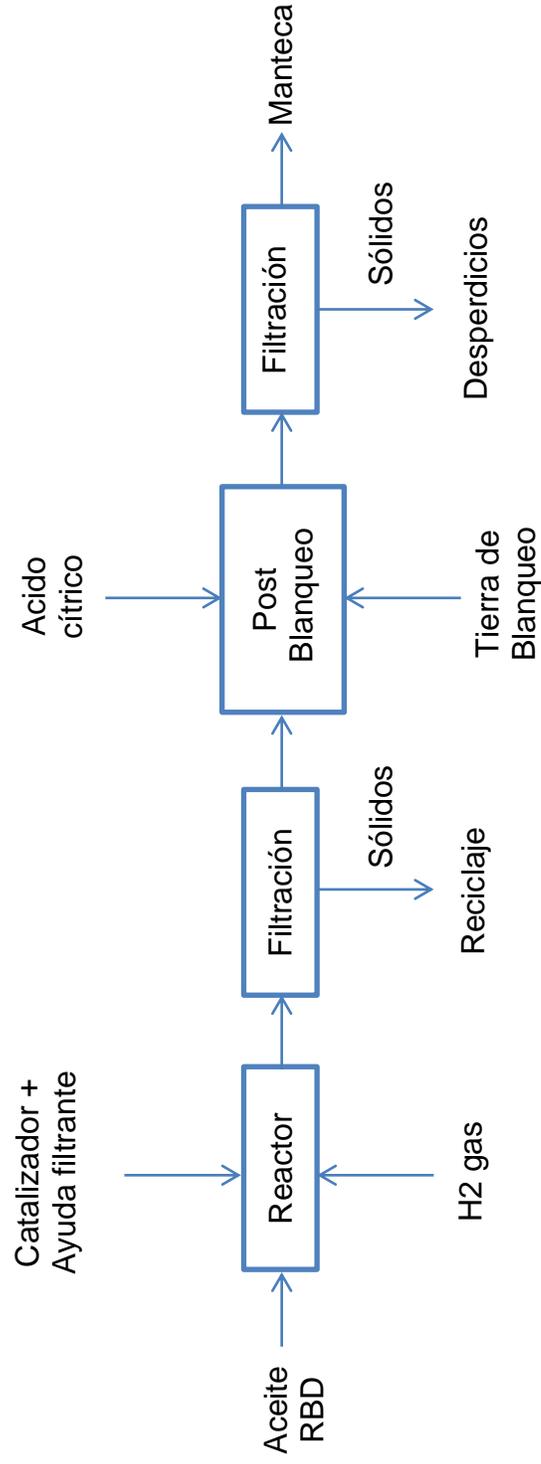


FIGURA 3. DIAGRAMA HIDROGENACIÓN

1.3.3 Descerado.

El descerado es la remoción de ciertas ceras con puntos de fusión muy altos. Estas son naturales en ciertos aceites de semillas oleaginosas como el maíz, girasol y canola. Las ceras no afectan de manera negativa la funcionalidad del aceite, pero si su apariencia, volviéndolo turbio y poco apetecible al consumidor. En caso de ocurrir la aparición de turbidez e incluso la precipitación de las ceras y el consumidor asumirá que es un aceite de menor calidad.

El proceso de descerado se lleva a cabo de la siguiente manera: El aceite refinado es enfriado y se le agrega una cantidad determinada de ayuda filtrante. Luego esta mezcla es enviada a un tanque de retención en donde recibe una leve agitación, la misma que puede ser mecánica o mediante la difusión de aire frío por la parte inferior del tanque cristizador. Aquí los cristales de cera se empiezan a formar. Luego de un cierto periodo de residencia en donde se monitorea la temperatura constantemente para mantenerlo frío, se bombea la mezcla a un segundo tanque para la maduración del cristal. Una leve agitación en el tanque de maduración promueve el crecimiento del cristal.

Las ceras resultantes son filtradas y posteriormente removidas con aceite de soya u otro aceite caliente. La mezcla de aceite – cera puede ser usado como materia prima para productos sólidos.

Productos resultantes

- Aceites descerados
- Bases grasas de altos puntos de fusión. >50C

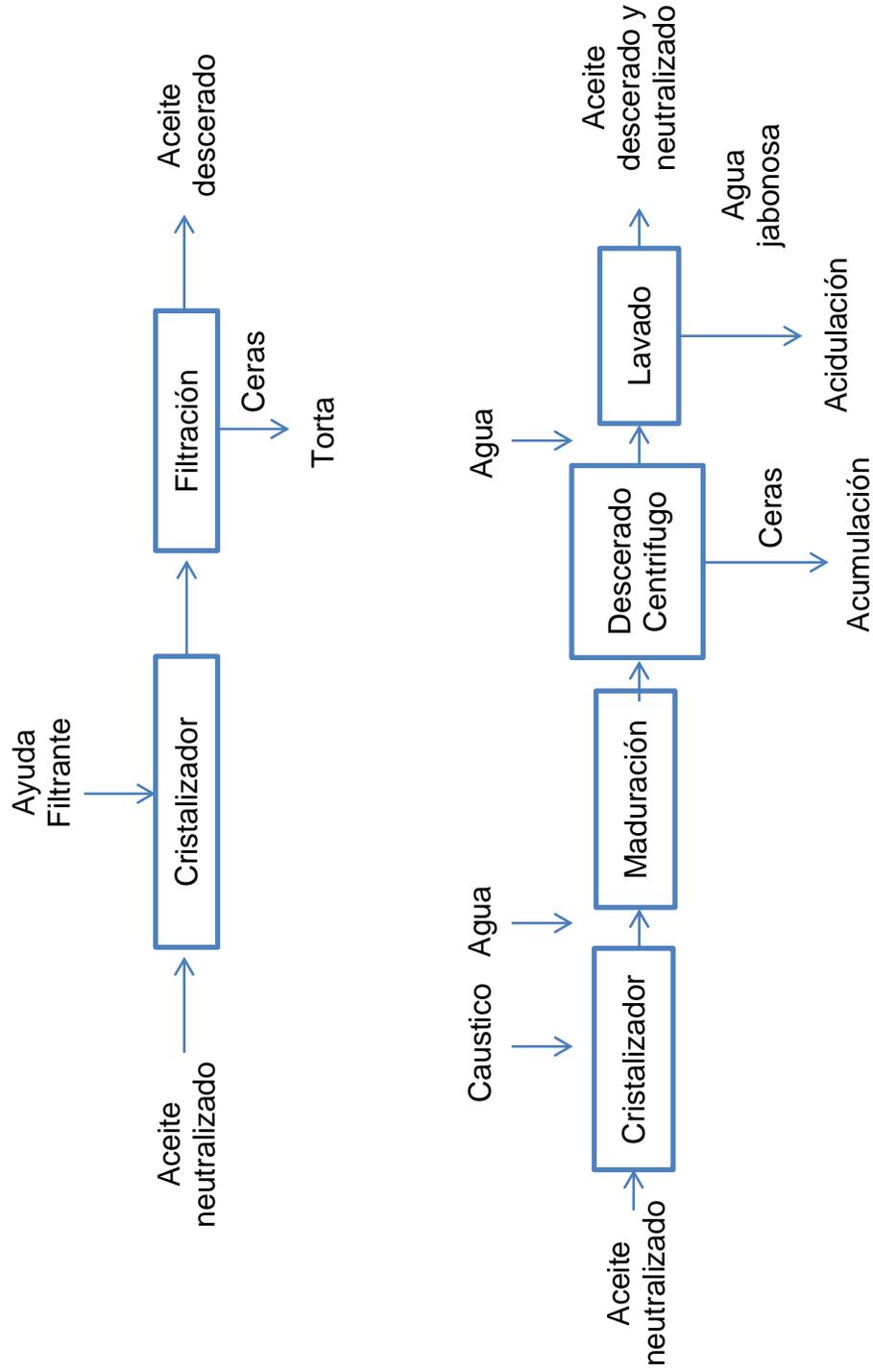


FIGURA 4. DESCERADO POR FILTRACIÓN Y CENTRÍFUGO

1.3.4 Interesterificación

La interesterificación es una de las reacciones más usadas por la industria para la modificación de grasas y aceites naturales. Es un proceso que se usa para modificar física y funcionalmente las propiedades de las mezclas de triacilglicérido en las grasas y aceites.

Su forma más simple (interesterificación) corresponde al intercambio de grupos acilos entre dos triacilglicérido. Este intercambio resulta en la formación de un nuevo triacilglicérido que tiene propiedades físicas y químicas mejoradas que las de los dos iniciales.

El término interesterificación usualmente se usa para describir las reacciones que involucran el intercambio de grupos acilos entre un ester y cualquiera de las siguientes formas químicas:

- Ácido – Acidólisis
- Alcohol – Alcohólisis
- Ester – Interesterificación

Interesterificación química

La interesterificación química es un proceso que se lleva a cabo cuando se calienta el aceite a temperaturas relativamente altas (más o menos unos 200°C) por un tiempo considerablemente largo. Sin embargo, el realizar este calentamiento en presencia de catalizadores, el proceso de interesterificación se puede realizar a temperaturas más bajas (a partir de 50°C). Los catalizadores usados pueden ser ácidos, bases o sus respectivos metales y sales. Se requiere de aproximadamente 0.1% (en peso de aceite) del catalizador. Los catalizadores más comunes son metilato o etilato de sodio, aleación de sodio-potasio o metóxido de sodio o potasio. Las ventajas de los precursores químicos son su alta actividad, disponibilidad comercial, bajo costo y facilidades de manejo (consideraciones especiales para materiales altamente reactivos).

Si bien es cierto que estos compuestos no son los “catalizadores reales” sirven como precursores de proceso formando el “catalizador real”. Cuando el catalizador es dispersado en aceite seco con una temperatura entre 60-80°C, se forma una especie de lodo blanco. Luego de algunos minutos de que se ha añadido, el aceite adquiere un color rojo pardo que se hace más notorio conforme avanza la reacción. Se cree que la

coloración rojo pardo se debe a la formación de un complejo entre el catalizador y el triacilglicérido, el mismo que es el “catalizador real”. Al final de la reacción se debe de inactivar y remover el catalizador. La mayoría de los catalizadores se puede remover mediante lavados con agua y ácido fosfórico. El término de la reacción se define por métodos analíticos como el punto de fusión, punto de nube, CGS y otros.

Existen consideraciones muy importantes en cuanto a la humedad residual en el aceite inicial. Tanto el aceite como el catalizador deben de estar extremadamente secos ya que trazas de humedad causarían que el catalizador se desactive, la formación de jabones y el incremento de ácidos grasos libres. El aceite debería de contener menos del 0.01% (p/p) de agua.

Además del problema con la humedad; los ácidos grasos libres y peróxidos generados envenenaran al catalizador. Para una interesterificación exitosa, la mayoría de las impurezas de los aceites deben ser removidas. Existen dos tipos de interesterificación química que involucran el uso de catalizadores metálicos:

La interesterificación química aleatorizada es la más usada. En esta, el reordenamiento es completamente aleatorio al interior de triacilglicérido y entre los triglicéridos presentes. El final de la reacción se da cuando el arreglo de los ácidos grasos en el triacilglicérido es completamente aleatorio

En tanto, la interesterificación química dirigida es el proceso mediante el cual se va alterando el equilibrio de la mezcla mediante la cristalización y remoción de las especies moleculares cristalizadas. Este proceso se lleva a cabo a muy bajas temperaturas por lo cual únicamente se usa como catalizador el metóxido de sodio (altamente activo a bajas temperaturas). La interesterificación dirigida es un proceso continuo puesto que los batchs son muy difíciles de controlar.

Interesterificación enzimática

Las lipasas (EC 3.1.1.3) de distintos organismos pueden ser utilizadas como biocatalizadores para la interesterificación. La interesterificación asistida por lipasas ofrece reordenamientos que no se pueden lograr con interesterificación química por el mismo hecho de ser aleatoria.

La interesterificación enzimática tiene varias ventajas sobre la química.

Entre estas podemos nombrar:

- Condiciones de proceso de menor temperatura
- Especificidad hacia sus substratos naturales.
- Alta eficiencia catalítica.
- Eliminación de efluentes propios de la remoción de catalizadores.

En contraste a las reacciones realizadas con catalizadores químicos, la interesterificación enzimática da como resultado varias especies de triacilglicéridos dependiendo de su especificidad.

La interesterificación enzimática de grasas y aceites se puede lograr usando procesos en batch o continuos. Entre estos, la interesterificación continua es el más aceptado y se realiza usando un reactor de lecho fijo.

Las ventajas de este proceso son:

- Facilidad para la recuperación del bio-catalizador
- Tiempos de reacción reducidos

Las condiciones del proceso (temperatura, pH, y humedad) se deben de controlar constantemente y las impurezas de las materias primas empleadas en el proceso (metales) se deben de mantener al mínimo.

Cinética y mecanismo de acción

La interesterificación enzimática debe ser vista como una reacción multisustrato. Los sustratos son los triglicéridos, los ácidos grasos y el agua (necesaria para mantener la actividad de la enzima). Puede ser considerada un caso especial de transferencia de grupos químicos que realiza hidrólisis y esterificaciones secuenciales.

La primera etapa de la interesterificación enzimática involucra la hidrólisis de los triacilglicéridos con el consumo de agua para producir: diacilglicéridos, monoacilglicéridos y ácidos grasos libres. La acumulación de productos de la hidrólisis continuara durante la interesterificación hasta que se llegue a un equilibrio. Dado que esta reacción es multisustrato y multiproducto, mecanismos cinéticos muy complejos se ven requeridos para el estudio completo. En resumen, la reacción involucra acilaciones y deacilaciones consecutivas y cualquiera

de las dos puede ser el paso limitante, es decir la primera que llegue al equilibrio detendrá la reacción.

Factores que afectan la reacción de interesterificación

Los factores que afectan la reacción de interesterificación enzimática son: el pH, la temperatura de la reacción y el contenido de agua de los sustratos.

pH: las lipasas son catalíticas únicamente bajo ciertos pH. El pH óptimo para la mayoría de las lipasas está entre 7 y 9, aunque algunas lipasas pueden permanecer activas en un rango de pH más amplio. (4 a 10). Existen consideraciones en cuanto a las lipasas inmovilizadas puesto que el medio cambia las características del sustrato en la capa límite de reacción debiéndose ajustar el mismo para que la enzima trabaje bajo pH óptimo

Temperatura: En general el incrementar la temperatura incrementa la tasa de interesterificación. Sin embargo altas temperaturas pueden reducir la velocidad de reacción debido a una desnaturalización irreversible de la enzima. Lipasas vegetales y animales son menos termoestables

que lipasas microbianas extracelulares. En sistemas libres de solventes, donde únicamente se encuentre la mezcla grasa y el biocatalizador, la temperatura debe ser lo suficientemente alta para mantener el sustrato en estado líquido.

Contenido de Agua y Actividad de agua: La mayoría de las reacciones de interesterificación requiere menos del 1% de agua para ser efectiva. La humedad es un factor determinante para establecer el equilibrio de la reacción hacia la hidrólisis o hacia la interesterificación. La síntesis de esteres depende en gran medida de un contenido de humedad bajo, sin embargo, la ausencia de agua en el sistema detiene todas las reacciones puesto que la lipasa requiere de una cantidad de agua para mantenerse hidratada y activa.

1.4 Aceite de palma

El aceite de palma es un aceite comestible derivado del mesocarpio carnoso del fruto de la palma aceitera. Esta se cultiva comercialmente en África, América del sur, el sur-este asiático y en el pacífico sur; también a pequeña escala en otras áreas tropicales.

El aceite de palma aceitera en su forma cruda es color rojo marrón y tiene una consistencia semisólida. Este aceite proviene de una serie de procesos que se han realizado sobre los frutos de la palma para obtener como producto final el aceite crudo de palma.

El uso alimenticio del aceite palma se remonta 5000 años atrás. Para el uso alimenticio, el aceite de palma se debe de refinar. Existen algunas aldeas africanas que aun usan el aceite palma crudo para cocinar de la misma manera que se ha realizado siglos atrás.

Ejemplos de los usos del aceite de palma son productos tales como: las mantecas, las margarinas, vanaspati, aceites y grasas para fritura por inmersión y grasas elaboradas al detalle.

La palma en Ecuador

Las primeras plantaciones de palma iniciaron en 1953 en Sto. Domingo de los Tsáchilas y Quinindé. No fue sino hasta 1967 cuando realmente empieza el auge en este sector. Actualmente Ecuador cuenta con más de 250000 ha. Sembradas. Estas se encuentra en su gran mayoría en las provincias de Manabí, Esmeraldas, Los Ríos, Sucumbíos y Orellana.

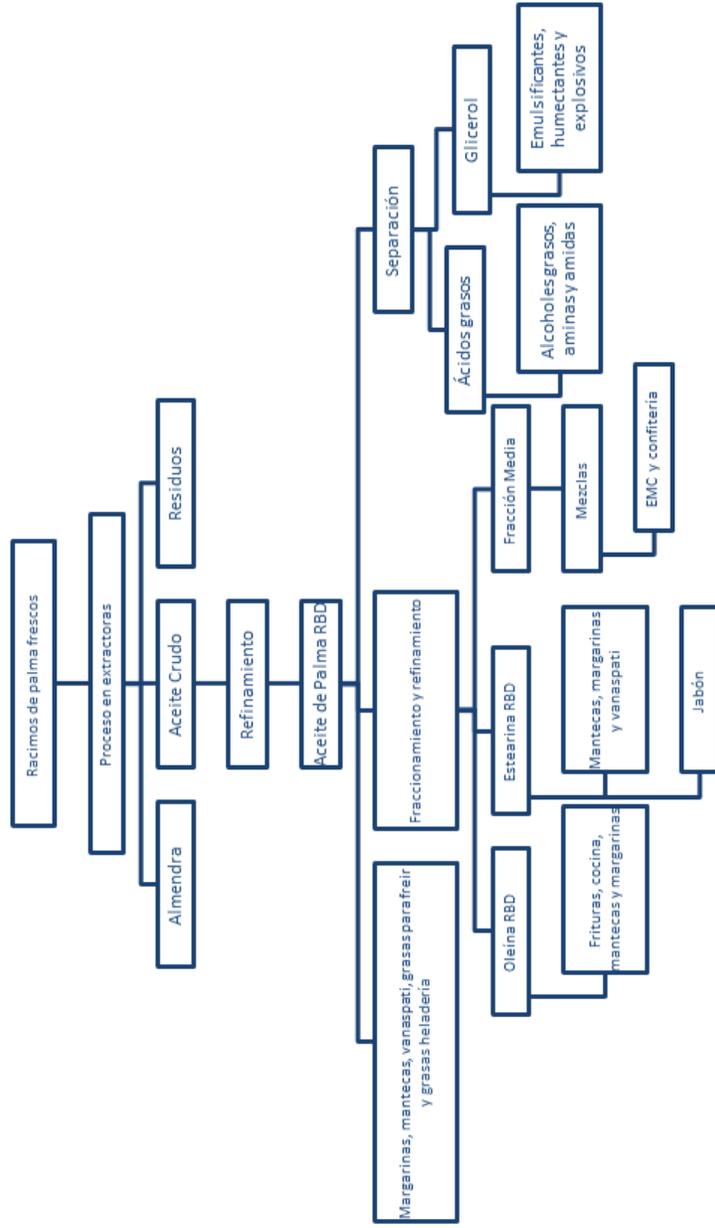


FIGURA 5. USOS DEL ACEITE DE PALMA

1.5 Aceite de soya

El aceite de soya es el aceite de producción predominante en el mundo debido a sus características agronómicas favorables, su proteína de alta calidad y su aceite comestible. Se estima que actualmente la mitad del aceite de oleaginosas que se expende en el mundo proviene de la soya. La demanda está dada por los requerimientos de proteína de soya la cual es usada en gran medida en alimentos balanceados para aves y ganado porcino y vacuno.

El aceite de soya proviene de los granos maduros y secos de soya. Los granos consisten en 3 componentes o partes principales. La cascara, los cotiledones y el hipocótilo o germen, las mismas que representan el 7%, 90% y 3% en peso de la semilla entera. El cotiledón es la parte del grano que más aceite tiene, un 22.8%, siendo seguido por el hipocótilo y la cascara, 11.4% y 1% respectivamente.

El aceite usualmente se recupera por extracción mecánica y por solvente orgánico. El aceite resultante es llamado aceite crudo de soya y contiene varias clases de lípidos. Consiste principalmente en lípidos neutros que incluyen tri-, di- y mono- acilglicéridos, ácidos grasos libres y lípidos

polares como son los fosfátidos. Además de esto existen otros componentes minoritarios como fitoesteroles, tocoferoles e hidrocarburos como el escualeno. El aceite crudo en refinado antes de ser considerado comestible. Durante la refinación todos los componentes minoritarios se ven reducidos drásticamente o eliminados.

La industria de alimentos lo usa para la elaboración de aceites de cocina y para ensaladas, elaboración de mantecas y margarinas, elaboración de aderezos, mayonesa y otros.

La soya en Ecuador

La producción y cosecha de la soya en el Ecuador ha venido disminuyendo drásticamente en los últimos años. La superficie cosechada tienen una tasa de crecimiento negativa de -9.02% anual en el periodo comprendido entre los años 2002-2008.

Actualmente la gran mayoría de la soya que se consume en el Ecuador proviene de los grandes productores de la CAN que son Bolivia y Argentina. Otro comercializador importante es Brasil, que hoy por hoy

tiene una gran producción de soya para su mercado interno (biodiesel) y exporta gran parte de los derivados de sus granos a Japón.

1.6 Mantecas

Las mantecas son compuestos grasos que se encuentran en estado sólido a temperatura ambiente. Estas se han usado históricamente para suavizar los alimentos horneados. Usualmente las mantecas eran elaboradas de grasas animales naturales para luego ser mezclas de grasas y aceites vegetales a los cuales se los hidrogena, agrega aditivos como emulsificantes, antioxidantes, antiespumógenos, saborizantes naturales y artificiales, entre otros. Aun con todos estos cambios, el objetivo principal de una manteca es suavizar la textura y proveer de otras características funcionales a los productos horneados y otras preparaciones alimenticias. Hoy en día es un ingrediente esencial para cualquier alimento preparado puesto que; modifican la estructura, el sabor, las características de almacenamiento, características al momento de ingerirlos y por supuesto la percepción visual del consumidor.

Materias primas disponibles

La selección de las materias primas para la elaboración de mantecas siempre ha sido influenciada por la disponibilidad de las mismas y el factor económico. Estos factores son las principales razones para la selección. La producción de aceites y grasas vegetales con mayores y mejores procesos y el desarrollo de productos para fortificar y potenciar ciertas características específicas también influyen de gran manera.

Atributos de las mantecas

El desarrollo de mantecas es dependiente de varios factores entrelazados. Estos factores pueden variar de un sector consumidor a otro dependiendo de la aplicación en la cual se vaya a usar. Actualmente hay dos líneas de desarrollo. Las mantecas “multipropósito” y aquellas que se desarrollan específicamente para una aplicación en particular. Existen 5 factores que son los más importantes a considerar para las distintas aplicaciones

- Sabor: Neutro o característico dependiendo del producto y aplicación
- Características físicas: Obtenidas por mezclas o hidrogenación (formación de grasas *trans*)

- Estructura Cristalina: Formación de cristales de conformación α , β o β'
- Emulsificación: adición de tensoactivos
- Aditivos químicos: Antiespumantes, antioxidantes, inactivadores de metales, colorantes y saborizantes.

Formulación de mantecas

La mayoría de las mantecas se formulan según su aplicación. Las relaciones entre los diversos CGS y puntos de fusión indican la diferencia entre los rangos de plasticidad para desempeñarse en una aplicación específica

Mantecas con perfil de sólidos plano tienen un rango de plasticidad bastante estable tanto a bajas como altas temperaturas. Este es el caso de las mantecas "Multipropósito". Mantecas para fritura tienen una curva pronunciada, esto indica que son firmes a temperatura ambiente pero muy líquida a temperaturas ligeramente superiores. Al formular una manteca se puede denotar la siguiente clasificación:

TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE MANTECAS SEGÚN SU RANGO DE PLASTICIDAD

Rango de Plasticidad	Características	Ejemplos	Usos
Amplio	No muy duras a temperaturas frías (10-16°C) y no muy blandas a temperaturas altas (32-38°C)	Mantecas "Multipropósito"	Panadería
			Bollería
			Pastelería
Corto	Alta estabilidad oxidativa, características de fusión ajustadas	Mantecas Especiales	Rellenos
			Frituras
			Confitería
Líquidas	Bombeables, suspensión de sólidos una grasa líquida. Carga importante de emulsificantes	Mantecas Líquidas especiales	Frituras
			Panadería Pastelería
			Rellenos y coberturas
Sólidas	Sólidas a temperaturas <50C	Mantecas en hojuelas y Mantecas en polvo	Glases, Coberturas
			Estabilizantes de Helados

1.6.1 Mantecas para panificación

En los productos de panificación (leudados mediante el uso de levaduras) el volumen y la textura dependen en gran medida de la fuerza de la matriz de gluten. La matriz de gluten es una mezcla de proteínas hidratadas presentes en la harina de trigo (glutenina y gliandina), lípidos tensoactivos (tanto los propios de la harina como los agregados) y grasas no polares. La estructura de esta matriz aún no está bien definida pero se sabe que la manteca es una parte conformacional de la misma. Durante el horneado, la proteína se desnaturaliza formando un entramado que es responsable por la elasticidad del pan ya enfriado. La manteca agregada afecta tanto el proceso de horneado como las características del producto final.

Efecto en la textura: Adición normal a la masa de pan es del 3 y 4%. Para Masas suaves se puede usar hasta 6 y 8%. Además reduce el proceso de endurecimiento en percha.

Efecto en volumen: La adición de manteca aumenta el crecimiento en horno del pan.

Efecto de la fase líquida vs grasa plastificante: Mayor proporción de fase líquida aumenta la suavidad de la masa y mayor proporción de fase sólida reduce el agrietamiento en el crecimiento en horno del pan, aumenta la fuerza de la masa durante el leudo y su resistencia a daños mecánicos.

Efecto sobre masas congeladas: Masas con bajo contenido en grasa (1%) duran varias semanas más en almacenamiento que aquellas que no poseen manteca y/o azúcar.

1.6.2 Especificaciones para mantecas de panificación

Ciertas propiedades de las mantecas son de particular importancia para los panaderos. El contenido de grasa sólida, la plasticidad y la estabilidad oxidativa de la manteca son determinadas por el proceso de producción y la formulación. El origen de los aceites y grasas iniciales, el grado de hidrogenación (en el caso de que se haya realizado), la cristalización conjunta de varias materias primas y las condiciones de almacenamiento luego de empacada son factores que influyen y determinan la funcionalidad de la manteca.

Contenido de grasa sólida (CGS)

La resonancia magnética nuclear pulsada se usa para medir las proporciones de grasa sólida y líquida en muestras de mantecas (RMNp, AOCS Método Cd 16-81). Basado en las tasas de relajación de los protones de cada una de las fases luego de que la muestra ha sido pulsada. Con la calibración adecuada el análisis determina directamente el porcentaje de grasa sólida en una muestra. Este análisis toma mucho menos tiempo que la dilatometría pero el equipo es más oneroso.

La funcionalidad de la manteca no depende únicamente del contenido de grasa sólida a una temperatura específica. Existe un perfil de contenido de grasa sólida a lo largo de distintas temperaturas que es particularmente importante para producir mezclas para mantecas y margarinas.

Plasticidad

La plasticidad de la grasa se define operacionalmente. La grasa debe ser suave, de textura no arenosa, de fácil deformación cuando se la presione pero debe mantener su forma cuando se la coloque en una superficie plana. No existe un método preciso para medir esta característica hasta

ahora. Sin embargo, ciertos métodos de penetrometría dan una idea de los resultados aproximados. La penetrometría de cono es un método bastante práctico pero debe ser usada con cautela (AOCS Método Cc 16-60). El rango plástico se refiere al rango de temperaturas en donde la manteca tendrá la mayoría de las características descritas al inicio de este párrafo. La plasticidad es prácticamente función de CGS y de la estructura cristalina formada (α , β , β'). Asumiendo una estructura cristalina apropiada (formación de cristales β') el rango plástico esta entre el 10% al 25% del contenido de grasa sólida durante el rango de temperaturas más amplio posible. Para mantecas de panificación se requiere un rango de temperatura más amplio que los necesarios para la elaboración de margarinas.

Estabilidad oxidativa

La estabilidad oxidativa es muy importante pues indica cuan resistente es un aceite a la oxidación. La oxidación se da por la presencia de oxígeno disuelto en la materia grasa y es catalizada por la presencia de dobles enlaces en la cadena del ácido graso, presencia de metales, luz y temperatura. En el caso de las mantecas de panificación, la temperatura más alta a la que estará expuesto es 95°C (temperatura final interna del

bollo o masa al culminar el horneado) y tendrá un tiempo en percha a lo sumo de 7 días. Los aceites y grasas RBD tienen características oxidativas estables a estas temperaturas y tiempos de almacenamiento. Dicho esto, el riesgo de generar rancidez es relativamente bajo. La estabilidad oxidativa de la manteca es necesaria puesto que en caso de generar rancidez el producto se tornaría inaceptable prematuramente. La extensión en la cual se ha oxidado un aceite se mide usualmente mediante el índice de peróxido (IP) que es la cantidad de peróxido químicamente activo en una muestra (IP, AOCS Método Cd 8-53)

La estabilidad oxidativa se mide por el método de oxígeno activo (AOM, AOCS Método Cd 12-57) o por el índice de estabilidad del aceite (OSI, AOCS Método Cd 12b-92) El primer método mide el tiempo en el cual una muestra llega a 100 meq/kg de peróxido y el segundo mide el tiempo antes del inicio del pico concentración de ácido fórmico generado por la reacción de oxidación atrapado en una celda de agua. El método OSI es mucho más rápido que AOM. Se sabe que 1 hora en OSI es equivalente a 2.5 horas AOM.

La estabilidad oxidativa es importante ya que los usuarios requieren que sus materias primas no generen rancidez almacenados ni mucho menos en percha. Generalmente todo producto de panificación debería tener un valor de peróxido debajo de 1 meq/kg. En caso de tiempos de almacenamiento prolongados se debe considerar el *blanketing* de los tanques de almacenamiento.

CAPÍTULO 2

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La interesterificación enzimática de aceite de soya y aceite de palma puede ser utilizada para elaborar bases grasas para mantecas, con adecuadas propiedades tecnológicas y alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados

2.2 Objetivos

2.2.1 Objetivos generales

- Aplicar el proceso de interesterificación enzimática a varias mezclas de aceite de soya y aceite de palma
- Evaluar el uso del producto obtenido en una base de manteca para uso industrial.

2.2.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto de la interesterificación enzimática sobre las propiedades físicas de las mezclas de distintas proporciones de aceite de soya y aceite de palma
- Evaluar las principales propiedades físicas y químicas de las materias primas y de las mezclas de aceite, antes y después de la reacción, así como también las propiedades tecnológicas de las grasas optimizadas
- Estudiar la evolución de la reacción de interesterificación enzimática en la mezclas de distintas proporciones de aceite de soya y aceite de palma
- Establecer un modelo matemático que describa el comportamiento de las mezclas y establecer las condiciones de proceso para obtener bases interesterificadas con las cualidades físicas buscadas.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Materias primas

- Aceite de palma RBD
- Aceite de soya RBD

2.3.2 Reactivos

Enzima lipasa inmovilizada *Lipozyme TL IM*® de Novozymes.

2.3.3 Material de vidrio

- Reactor de vidrio con doble camisa y agitador (media luna, teflón).
Elaborado bajo diseño de reactor para interesterificación sugerido por Novozymes. Capacidad 700ml aproximadamente.
- Matraz kitazato 1000ml.
- Frascos de muestra color ámbar
- Tubos de RMN
- Tubo de colorímetro
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 500ml
- Tubos capilares

2.3.4 Instrumentos y equipos de laboratorio

- Termómetro digital
- Baño termo regulado
- Bomba de vacío
- Balanza analítica
- Refractómetro

- Equipo de RMN
- Colorímetro
- Motor agitador

2.4 Metodología

El procedimiento se adaptó de las indicaciones establecidas por Novozymes según correspondencia recibida.

2.4.1 Elección de las materias prima

La elección de las materias primas se realizó de acuerdo a la disponibilidad de las misma en las refinerías de aceite vegetales (Cáustica y Física) de Industrias ALES C.A., Manta - Ecuador

El almacenamiento de las mismas se realizó en botellones plásticos de 5 l. cada uno, cerrados, almacenados a temperatura ambiente y en lugares oscuros.

2.4.2 Activación de la enzima

1. Pesar 28gr. de enzima (4% p/v)
2. Colocar la enzima dentro del reactor
3. Agregar aceite vegetal (aceite de soya RBD)
4. Cerrar el reactor y encender motor agitador
5. Calentar y mantener a 70°C
6. Hacer vacío de 10mbar por 1 hora
7. Drenar el aceite de soya
8. Agregar aceite vegetal (aceite de soya RBD)
9. Calentar y mantener a 70°C
10. Repetir desde el paso 7, 3 veces.

2.4.3 Interesterificación enzimática

1. Preparar el reactor limpio con las enzimas previamente activadas
2. Pesar el aceite de soya requerido
3. Pesar el aceite de palma requerido
4. Calentar sobre plancha termo regulada a 70°C por una hora
5. Recircular agua por la camisa del reactor a 70°C
6. Verter la mezcla dentro del reactor y se cerrar el mismo
7. Evacuar la cabeza de aire usando nitrógeno

8. Encender el agitador
9. Dejar reaccionar por 8 horas*

*Se toma muestra de 20ml cada 2 horas. Para detener la reacción se filtra la mezcla de aceite con el uso del matraz kitazato y bomba de vacío.

2.5 Métodos de análisis

Los análisis se han realizado por duplicado a menos que se especifique lo contrario

2.5.1 Parámetros físicos

- Humedad
- Punto de fusión (PF)
- Contenido de grasa sólida (CGS)
- Color
- Índice de refracción

2.5.2 Parámetros químicos

- Ácidos grasos libres
- Jabones
- Índice de Iodo
- Índice de peróxido

2.6 Características de la enzima

La enzima que se ha utilizado en este trabajo es una lipasa 1, 3 específica, inmovilizada en gel de sílice. Esta es proveniente del hongo *thermomyces lanuginosus*. Se produce mediante fermentación sumergida de un microorganismo *Aspergillus Orizae* genéticamente modificado. Esta enzima es producida comercialmente por la empresa Novozymes bajo el nombre de Lipozyme TL IM y se presenta como un granulado de sílice con partículas que oscilan entre los 300 y 1000um.

CAPÍTULO 3

3. DISEÑO DE EXPERIMENTOS

Para el estudio de los efectos individuales y combinados que tienen las variables se realiza un diseño experimental. Este permite la integración de los factores y distintos niveles de un estudio en un conjunto de pruebas limitados como una medida para el buen aprovechamiento del tiempo de trabajo experimental y de los materiales que se disponga.

La herramienta estadística que se usara para determinar si los tratamientos aplicados y sus distintos niveles afectan la variable de respuesta es el análisis de varianza (ANOVA). Dado que se ha utilizado un diseño factorial, se aplicara un ANOVA de 2 vías, Este permite conducir el experimento de manera que los tratamientos se realicen simultáneamente permitiendo que cada tratamiento sea probado con todos los demás.

3.1 Establecimiento de las variables

Constantes del experimento

Se han utilizado la información enviado por los proveedores de enzima para establecer la temperatura del proceso (70-73°C), y el porcentaje del enzima (4% p/p).

3.1.1 Variables independientes

El estudio evalúa los efectos de los siguientes factores: % de mezcla de aceite de soya RBD y el tiempo de reacción enzimática sobre una mezcla de grasas para mantecas (palma – soya).

3.1.2 Variables dependientes

El resultado del tratamiento aplicado será medido mediante la variación de los atributos de respuesta que son el punto de fusión (PF), y el contenido de grasa sólida (CGS) de acuerdo a la metodología propuesta por AOCS Cd 19-81, 199p. Los valores de CGS consecutivos medidos a temperaturas específicas conforman el perfil de fusión de una grasa

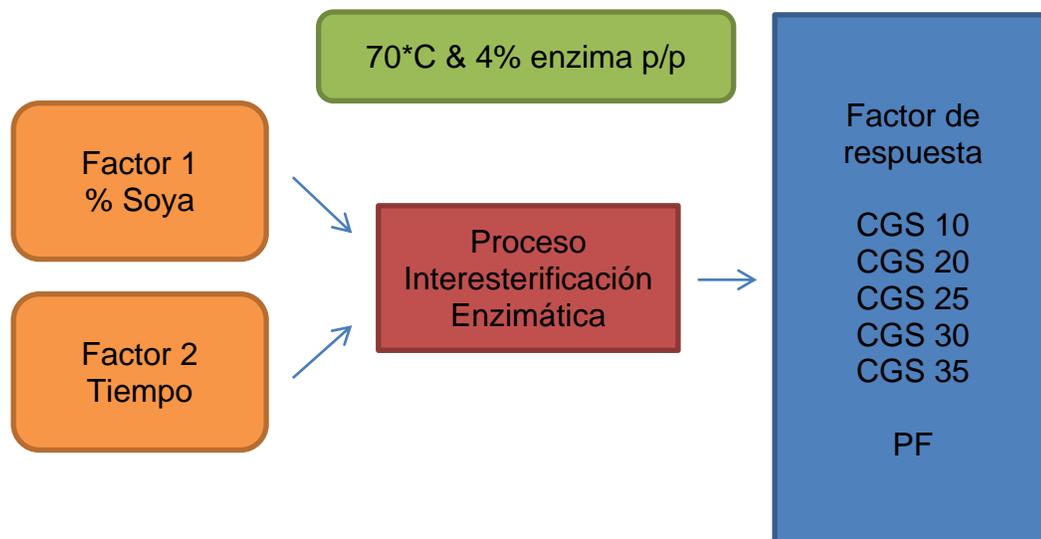


FIGURA 6. DIAGRAMA SIMPLIFICADO DEL EXPERIMENTO

3.2 Diseño experimental

Los factores a estudiar son dos; tiempo de reacción y composición de la mezcla (% de Soya). Para establecer los niveles de estudio del factor tiempo, se han realizado pruebas largas para determinar el tiempo de equilibrio de la reacción. Para el factor de composición de la mezcla por pruebas preliminares no es físicamente viable la elaboración de mantecas con alto contenido de aceite de soya debido al bajo contenido de sólidos del mismo.

Se establecen 3 niveles por factor. El nivel superior (1), nivel inferior (-1) y nivel centro (0) han sido establecidos mediante pruebas preliminares.

TABLA 3. NIVELES DE APLICACIÓN DE LAS VARIABLES DE ESTUDIO

Variable	Nivel superior	Nivel central	Nivel inferior
	1	0	(-1)
Aceite de Soya RBD (%)	50%	30%	10%
Tiempo (h)	8	4	2

Pruebas de hipótesis

En el diseño factorial, el ANOVA de 2 vías se basa en una prueba de hipótesis. En este caso particular, 3 hipótesis. La primera hipótesis estipula que no ha diferencia entre las medias de los cambios realizados a la composición de la mezcla

$$H_0 : m_1 = m_2 = m_3$$

Donde m_1, m_2 y m_3 son las medias del tratamiento realizado a la composición de la mezcla de grasas. La segunda hipótesis estipula que no hay diferencia entre las medias de los cambios realizados en el tiempo de reacción

$$H_0 : t_1 = t_2 = t_3 = t_4$$

Donde t_1, t_2, t_3 y t_4 son las medias de tiempos de contacto de la mezcla con la enzima. La tercera hipótesis es que el efecto de la interacción de los dos tratamientos es cero.

Desarrollo del diseño de experimentos

Por las características del experimento se ha optado por seguir un diseño factorial fraccionario de 3^2 experimentos. Estos experimentos se han realizado por duplicado para asegurar la repetitividad de los mismos y calcular el error experimental.

Los resultados obtenidos como respuestas han sido introducidos en el programa estadístico Minitab 16, en el cual se realizaron los análisis de

varianza destinados a conocer cuál es el efecto que tienen las variables consideradas como independientes sobre las variables dependientes. Las diferencias que se consideren significativas tendrán un nivel de confianza superior al 95% ($p < 0.05$).

La siguiente tabla muestra los niveles de experimentación aplicados a las variables que se han estudiado. Se presentan los “*” como las repeticiones de los experimentos que corresponden al diseño realizado. Las variables mostradas son porcentaje de aceite de soya y tiempo de reacción:

**TABLA 4. NIVELES EXPERIMENTALES DE LAS
VARIABLES EN ESTUDIO**

Experimento	% de Soya	Tiempo (h)
1 & 1*	-1 (10%)	-1 (2)
2 & 2*	-1	0 (4)
3 & 3*	-1	1 (8)
4 & 4*	0 (30%)	-1
5 & 5*	0	0
6 & 6*	0	1
7 & 7*	1 (50%)	-1
8 & 8*	1	0
9 & 9*	1	1

3.2.1 Diseño de la optimización

Este diseño permite encontrar las variables con mayor efecto significativo sobre los resultados y permite de esta manera encontrar un modelo matemático con el cual se puedan establecer las condiciones y parámetros para obtener un producto objetivo.

3.2.2 Establecimiento de los modelos matemáticos

El análisis del impacto de las variables independientes sobre la experimentación se realiza mediante análisis de varianza, ANOVA, y la obtención de las ecuaciones que describen el comportamiento de los resultados mediante regresiones múltiples.

Para la determinación del ANOVA se considera como criterio de error la sigma extrema calculada a partir de las repeticiones de los experimentos. Luego de esto se obtuvieron los valores correspondientes a los coeficientes de relación r^2 , que representan el grado de ajuste de los datos al modelo calculado

3.3 Obtención del producto óptimo

Se comparan las respuestas obtenidas mediante los modelos matemáticos y la experimentación. Se utiliza estos modelos para estimar las condiciones de trabajo de manera que las mezclas en las proporciones establecidas entreguen valores de CGS y PF cercanos a los establecidos como estándar.

3.4 Caracterización del producto óptimo

Con la finalidad de visualizar los cambios que genera la interesterificación en las mezclas de aceite de soya y aceite de palma, se compara los productos optimizados (objetivo), con y sin la reacción de interesterificación. Los análisis que se realizaron fueron:

- Punto de Fusión
- Contenido de grasa sólida (CGS)
- Ensayos de compresión
- Calorimetría diferencia
- Estructura de la red cristalina
- Pruebas de desempeño (anexos)

CAPÍTULO 4

4 DESARROLLO Y DISCUSIÓN

4.1 Determinación de las características físico - químicas de las materias primas.

En la siguiente tabla se presentan los resultados de los análisis físicos y químicos realizados a las materias primas utilizadas en la reacción de interesterificación.

**TABLA 5. PROPIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS DE LAS
MATERIAS PRIMAS**

Análisis	Aceite de Soya RBD	Aceite de Palma RBD
Índice de refracción	14.740	14.550
AGL (% de A. Oleico)	0.01	0.046
Jabón	> 5 ppm	n/a
Color Amarillo/Rojo	20.0 / 0.5	35.0/2.0
Índice Yodo	134	52.9
Índice Peróxido	0	0
Punto de Fusión	0.6	37.4
CGS (RMN, %)		
10C	ND	45.68
20C	ND	20.66
25C	ND	11.57
30C	ND	7.56
35C	ND	4.24

Las características físico químicas se encuentra dentro de los rangos recomendados por el proveedor de enzima. Los valores de AG, humedad e índice de peróxidos cumplen con los requisitos. Los valores máximos permisibles estipulados por la compañía Novozymes son los que se detallan a continuación

**TABLA 6. CARACTERÍSTICAS MATERIAS PRIMAS
PARA INTERESTERIFICACIÓN**

Propiedad	Valor	Motivo
Humedad	<0.05%	Fomenta reacciones de hidrólisis
AGL (%)	Min posible	Ralentiza el proceso de interesterificación
Peróxido	<2ppm	Contamina la enzima

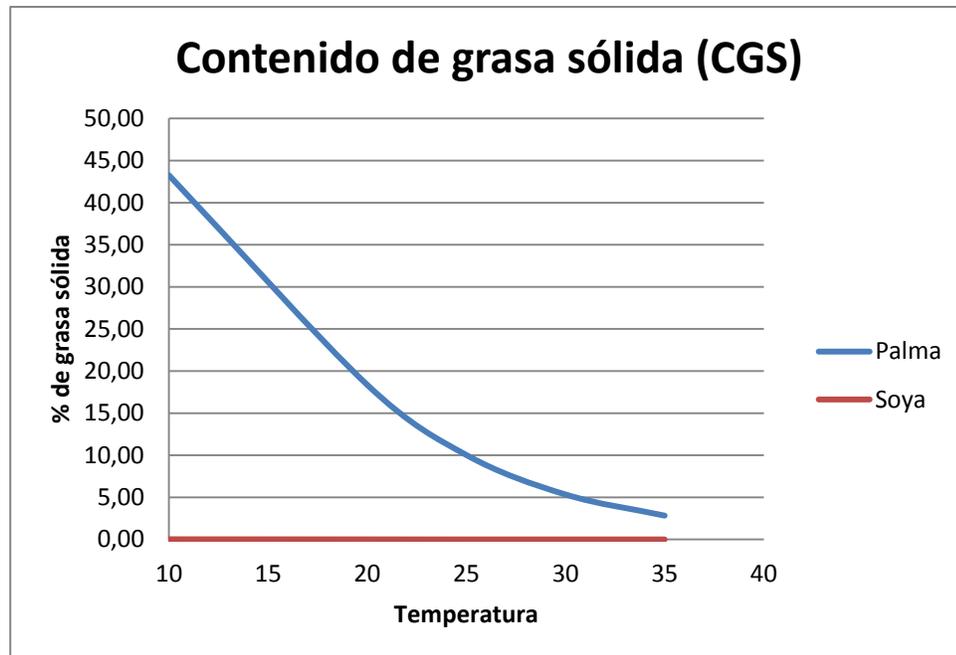
El cumplimiento de estas condiciones optimiza al máximo la eficiencia de la reacción puesto que se evita que en la reacción entren compuestos de oxidación secundarios, se minimiza la hidrólisis y la producción de AGL

Es de gran importancia la composición de AG totales puestos que son los que se intercambiaran en la reacción. A continuación se presenta una tabla con los valores de AG totales medidos mediante cromatografía de gases (%)

**TABLA 7. COMPOSICIÓN TRIGLICÉRIDOS DE LOS
ACEITES BASE**

Ácido Graso	Soya	Palma
LLL	30	—
LLO	26.9	—
LLP	6.4	—
LLS	3.6	—
LnLL	2	—
LnLnO	—	—
LnLnP	—	—
LnLO	1.7	—
LnLP	0.4	—
LnOO	0.4	—
LnOP	0.1	—
LnPP	0.1	—
LnSS	—	—
LOO	13.9	—
LOP	3.7	—
LOS	2.6	—
MLP	—	0.50
MOP	—	2.00
MPP/MOM	—	1.00
OLL	—	0.30
OLLn	—	0.00
OLO	—	1.30
OOO	4.6	—
OOO/SLO	—	3.90
PLL	—	1.60
PLO	—	8.20
PLP	0.8	9.20
POO	0.9	22.50
POP	0.2	31.80
POS	—	5.60
PPP	—	7.00
PPS	—	1.50
PSS	—	0.30
SLP	0.8	—
SLS	0.3	—
SOO	0.7	2.40
SOP	0.1	—
SOS	—	0.60

En Figura 7 se muestran las curvas de CGS de las materia primas en función de la temperatura



**FIGURA 7. CONTENIDO DE GRASA SÓLIDA DE
MATERIA PRIMA**

En la Figura 7 es posible observar la curva de sólidos del aceite de palma. Este aceite no se encuentra fraccionado y está compuesto por TAG de alto y bajo peso molecular. Estos componentes dan la pendiente pronunciada característica del aceite de palma. Esta variedad de TAG es fundamental puesto que es apropiada para la elaboración de mantecas. Se puede observar el bajo contenido de sólidos a una temperatura entre 30-35°C, adecuado para evitar sensación cerosa en el paladar y una buena liberación de sabores.

La variedad de TAGs que componen el aceite de palma no tienen capacidad de formar una red cristalina fuerte por lo cual a temperatura ambiente, el aceite de palma, es un líquido espeso y grumoso.

El aceite de soya, tal como se esperaba, no presentó sólidos a las temperaturas medidas. Se conoce por teoría que el punto de fusión del aceite de soya RBD se encuentra alrededor de los 0.5°C. Como se observa existe un pequeño porcentaje de sólidos a las temperaturas de medición más bajas (CGS 10, 0.02%). Esto se debe a una mínima presencia de AG saturados en el aceite de soya.

Como se verá más adelante, al interesterificar materias primas puras, se suele mantener la tendencia de la curva antes y después de la interesterificación. Sin embargo al realizar mezclas, el comportamiento de las mismas suele tomar la tendencia del componente más abundante.

4.2 Determinación de las condiciones de proceso

Para llevar a cabo el proceso de interesterificación se realizaron las siguientes actividades:

- Montaje total del equipamiento de laboratorio requerido, ajustes de temperaturas y verificación del funcionamiento del agitador
- Llenado del reactor con 700 ml de aceite de soya RBD para el adecuación de enzima
- Dosificación de 28 gr de enzima (4% p/p)
- Acondicionamiento de la enzima. Este proceso se realizó para remover el aire y humedad entramado en la partícula de sílice con enzima inmovilizada. Esto usualmente puede llegar a ser el 5% del peso de la enzima. Este acondicionamiento se realizó a presión absoluta de 5mbar, 70°C y agitación constante a 300rpm por al menos 1 hora. Luego se realizaron 3 lavados sucesivos con aceite de

soya a 70°C y 300 rpm. Para evitar reacciones de oxidación se desplazó aire en el espacio de cabeza del reactor con nitrógeno. El obviar este acondicionamiento resulta en un aumento excesivo de la acidez del producto interesterificado (se potencia reacciones de hidrólisis).

- Evacuación del reactor mediante filtración.

Ajuste de las condiciones de proceso

Previo a la carga con las diferentes mezclas a interesterificar. Se usa nitrógeno para desplazar el aire de cabeza del reactor. La reacción se lleva a cabo por 8 horas seguidas a 70 °C y 300 rpm. Se toma muestras de 25ml a las 2, 4 y 8 horas para los análisis respectivos de CGS y PF.

4.2.1 Diagrama de proceso

A continuación se muestra el diagrama de proceso para la reacción de interesterificación enzimática y las condiciones necesarias para el funcionamiento de la misma (Figura 8).

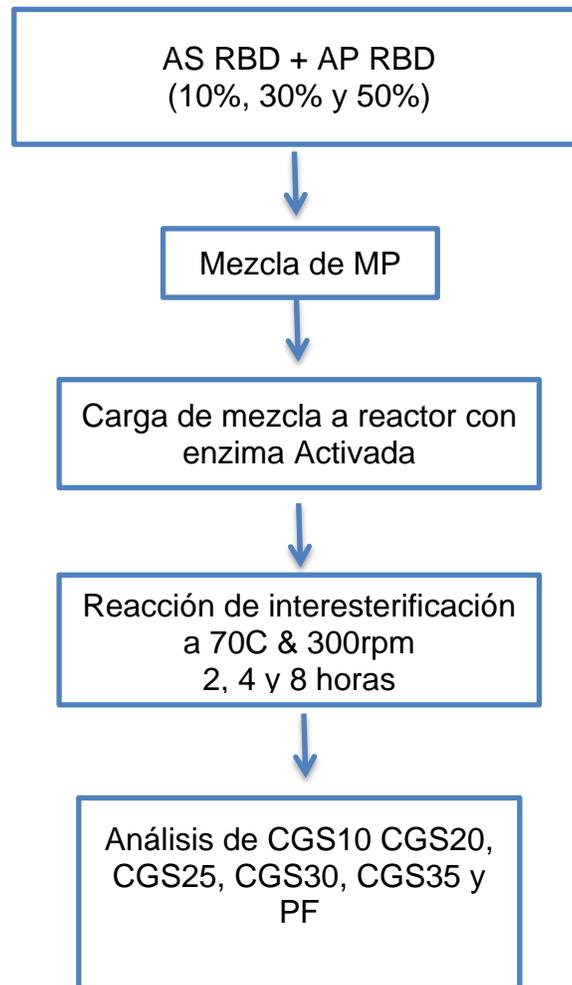


FIGURA 8. DIAGRAMA DE BLOQUES REACCIÓN DE INTERESTERIFICACIÓN

4.2.2 Esquema del sistema de reacción

A continuación se presenta el esquema del reactor de interesterificación usado en laboratorio (Figura 9).

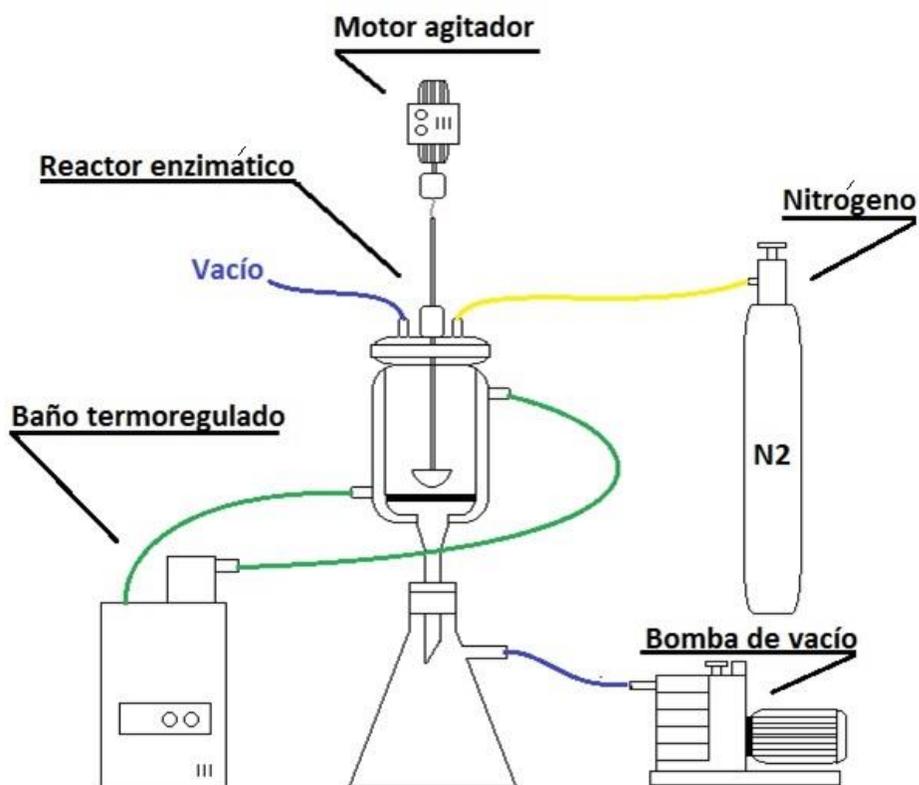


FIGURA 9. ESQUEMA DEL SISTEMA DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA

4.2.3 Características del producto objetivo

Se plantea un producto objetivo con la finalidad de tener una base comparativa entre lo que se espera obtener y lo que realmente se obtiene a partir de los cambios producidos por la reacción enzimática. La Tabla 8 muestra los rangos de CGS y PF que se desean obtener para cumplir con la especificación de una manteca industrial

TABLA 8. ESPECIFICACIONES DE CGS Y PF

Temperatura (C)	CGS máx.	CGS min.
10	59.0	54.0
21.1	38.0	33.0
26.7	26.0	23.0
33.3	12.0	9.0
37.8	3.0	0.0
Punto de Fusión (C)	37.0	35.0

4.3 Resultados del diseño experimental

En la Tabla 9 se muestra las características iniciales de las mezclas a las cuales se les aplicó el diseño experimental. Con estos valores se hizo la comparación contra las características obtenidas luego del proceso de interesterificación.

TABLA 9. CGS Y PF DE LAS MEZCLAS INICIALES

Temperatura	Mezclas de Aceite de soya – Aceite de palma		
	10-90	30-70	50-50
10	38.59	32.72	14.17
21.1	17.13	13.84	3.92
26.7	10.04	8.24	1.64
33.3	5.94	5.33	0.56
37.8	3.40	2.73	0.25
Punto de Fusión (C)	36.00	34.00	25.00

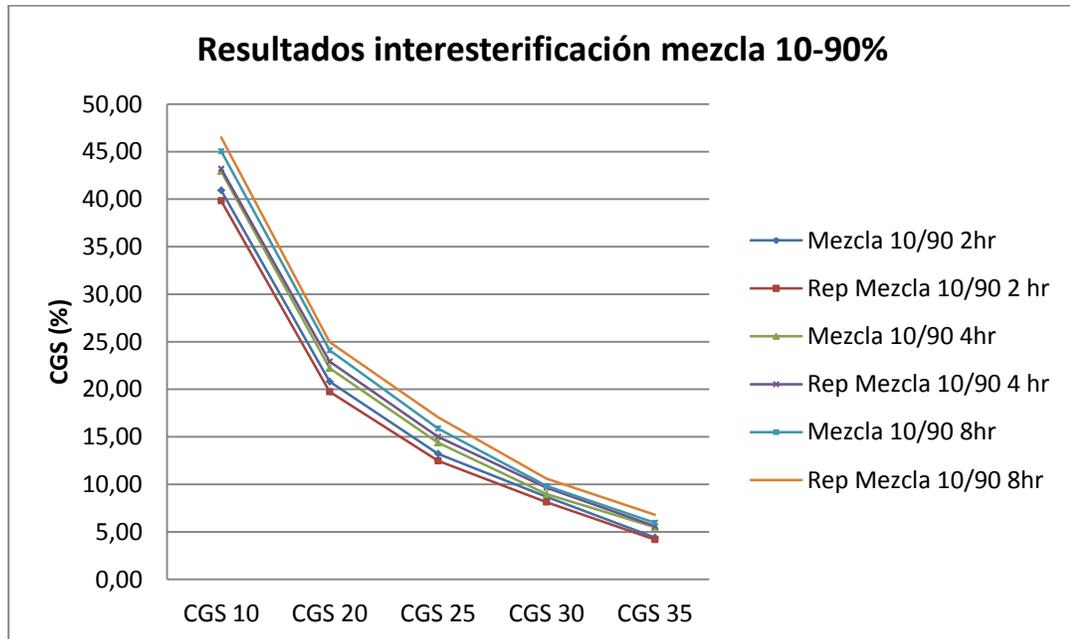
4.3.1 Diseño experimental: Organización factorial 3^2

En la Tabla 10 se presentan los datos obtenidos en la experimentación según el modelo factorial de tres niveles. Se presenta una repetición para cada uno de los niveles.

**TABLA 10. RESULTADOS DISEÑO
EXPERIMENTAL**

Exp.	% Soya	Tiempo	PF	CGS 10	CGS 20	CGS 25	CGS 30	CGS 35
1	10	2	36,00	38,73	18,66	11,72	7,56	3,97
1*	10	4	40,00	42,94	22,21	14,38	8,97	5,5
2	10	8	42,00	45,04	24,11	15,88	9,83	5,95
2*	30	2	26,00	18,22	6,96	4,07	1,89	0,03
3	30	4	34,00	22,95	9,59	5,90	3,03	0,75
3*	30	8	36,00	25,51	11,45	7,09	4,44	1,74
4	50	2	21,00	12,78	5,28	3,29	1,52	0,18
4*	50	4	24,00	8,28	3,01	1,66	0,26	-0,13
5	50	8	27,00	12,68	5,21	2,95	1,74	0,28
5*	10	2	37,00	40,93	20,81	13,22	8,69	4,41
6	10	4	39,50	43,45	23,62	15,62	10,34	5,7
6*	10	8	41,00	46,50	24,96	17,06	10,59	6,81
7	30	2	35,00	30,42	14,80	5,39	6,26	3,37
7*	30	4	31,50	19,84	8,13	4,57	2,07	0,09
8	30	8	34,50	27,23	12,46	8,01	4,67	1,83
8*	50	2	22,00	14,02	5,76	3,49	2,04	0,19
9	50	4	26,00	13,76	5,86	3,27	1,81	-0,01
9*	50	8	31,00	15,50	6,45	3,99	2,23	0,52

A continuación se presentan graficadas las curvas de sólidos para cada una de las mezclas sometidas al proceso de interesterificación.



**FIGURA 10. RESULTADO INTERESTERIFICACIÓN
MEZCLA 10-90**

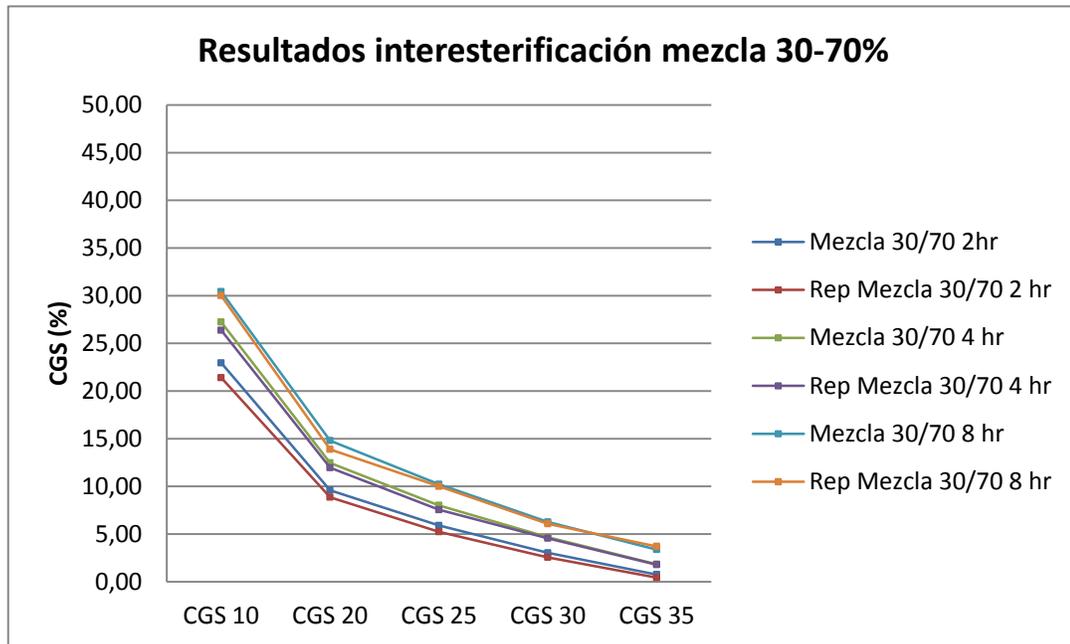


FIGURA 12. RESULTADOS INTERESTERIFICACIÓN MEZCLA 30-70

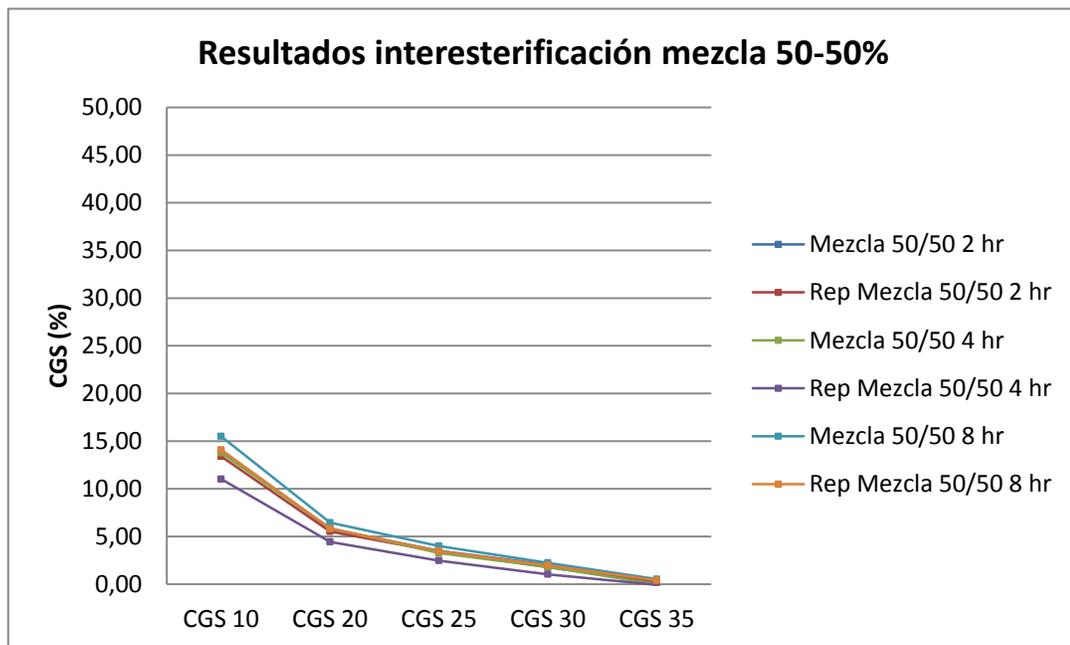


FIGURA 11. RESULTADOS INTERESTERIFICACIÓN MEZCLA 50-50

4.3.2 Análisis estadístico de las respuestas del diseño 3²

Las siguientes tablas presentan el resumen de los análisis de varianza (ANOVA) llevados a cabo por el programa estadístico MINITAB 16. Esto se realizó para conocer el efecto de las variables independientes en el diseño experimental

Se han presentado los datos tal cual se han sido analizados y no se ha eliminado ninguno que aparentemente pudiera tener un efecto no significativo de manera que se obtiene un análisis lo más veraz posible.

En la Tabla 11 se expresan los valores p y F estadísticos obtenidos para cada una de las temperaturas de análisis para elaborar el perfil de sólidos y punto de fusión.

Los valores F estadísticos de cada una de las mediciones fueron comparados con el F crítico del diseño experimental para evaluar la significancia de cada uno de los tratamientos. El F crítico de este sistema ($p > 0.05$) es de 4.32

**TABLA 11. RESUMEN DE VALORES P Y F DEL
ANÁLISIS ANOVA**

Fuente	PF		SFC 10		SFC 20		SFC 25		SCF 30		SFC 35	
	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
% Soya	47,62	0,00	120,02	0,00	101,51	0,00	296,49	0,00	64,46	0,00	64,36	0,00
Tiempo	7,92	0,01	1,84	0,21	1,85	0,21	11,32	0,00	1,54	0,27	2,07	0,18
% Soya * Tiempo	0,22	0,92	0,61	0,67	1,05	0,44	3,39	0,06	0,92	0,49	1,63	0,29
S	2,50278		3,40133		2,13253		0,857614		1,2186		0,83807	
R-Sq	92,56%		96,47%		95,91%		98,59%		93,78%		93,93%	
R-Sq Ajustada	85,94%		93,34%		92,27%		97,34%		88,25%		88,54%	

En la tabla 11, datos obtenidos del ANOVA, se observa que el factor que más incidió en el resultado es el % de soya que muestra valores F muy superiores al F crítico de modelo (4.32). Así mismo el tiempo de proceso muestra diferencias significativas en CGS 25, esto indica que

existe un efecto significativo generado por el proceso de interesterificación en lo relativo a la cantidad de sólidos medidos a 25 °C. Dado el enfoque en panificación se analiza con mayor detalle CGS 25. La combinación de los factores porcentaje de soya y tiempo de proceso no influyó en el resultado.

4.3.3 Establecimiento del modelo matemático

Se realizó regresiones generales para el establecimiento de las ecuaciones. Se presenta el modelo matemático y el coeficiente de correlación correspondiente calculado para cada una de las ecuaciones mostradas. Se considera la variable “A” como el porcentaje de aceite de soya en la mezcla y “B” el tiempo de reacción.

Los rangos válidos para las ecuaciones mostradas son:

- Aceite de soya (%) del 0 al 50%
- Tiempo de reacción (h) desde 0 hasta 8 horas
- Temperatura de reacción 70 °C
- % de catalizador 4% (p/p)

Para punto de fusión:

$$PF = 40,2188 - 0,403125 \% \text{ Soya}$$

Para CGS 10:

$$CGS 10 = 44,0881 - 0,666937 \% \text{ Soya}$$

Para CGS 20:

$$CGS 20 = 21,6035 - 0,352562 \% \text{ Soya}$$

Para CGS 25:

$$CGS 25 = 12,702 - 0,221219 \% \text{ Soya} + 0,81718 \text{ Tiempo}$$

Para CGS 30:

$$CGS 30 = 8,98052 - 0,163531 \% \text{ Soya}$$

Para CGS 35:

$$CGS 35 = 4,47531 - 0,0962187 \% \text{ Soya}$$

A continuación, en la Tabla 12, se muestran los valores calculados mediante el modelo matemático y la respectiva comparación con los datos obtenidos experimentalmente.

TABLA 12. RESPUESTAS DEL MODELO MATEMÁTICO Y LA EXPERIMENTACIÓN

Experiencia	Aceite de Soya (%)	tiempo (h)	Pf	SFC 10		SFC 20		SFC 25		SFC 30		SFC 35	
1	10	2	37,00	40,93	20,81	20,10	13,22	12,85	8,69	8,25	4,41	4,3743	
1*	10	2	37,00	39,83	19,74		12,47		8,13		4,19		
2	10	4	40,00	42,94	22,21	21,21	14,38	13,78	8,97	8,70	5,50	4,8599	
2*	10	4	40,00	43,20	22,92		15,00		9,66		5,60		
3	10	8	42,00	45,04	24,11	23,43	15,88	15,64	9,83	9,61	5,95	5,8311	
3*	10	8	41,00	46,51	24,97		17,06		10,60		6,81		
4	30	2	35,00	30,42	14,80	12,46	10,22	7,87	6,26	4,81	3,37	2,1308	
4*	30	2	30,50	24,32	10,88		6,73		4,08		1,70		
5	30	4	34,00	22,95	9,59	13,00	5,90	8,29	3,03	5,03	0,75	2,3463	
5*	30	4	33,00	21,40	8,86		5,24		2,55		0,42		
6	30	8	34,50	27,23	12,46	14,07	8,01	9,13	4,67	5,47	1,83	2,7775	
6*	30	8	35,25	26,37	11,96		7,55		4,56		1,79		
7	50	2	22,00	14,02	5,76	4,82	3,49	2,88	2,04	1,38	0,19	-0,1127	
7*	50	2	21,50	13,40	5,52		3,39		1,78		0,19		
8	50	4	26,00	13,76	5,86	4,78	3,27	2,80	1,81	1,36	-0,01	-0,1672	
8*	50	4	25,00	11,02	4,44		2,47		1,04		-0,07		
9	50	8	31,00	15,50	6,45	4,70	3,99	2,62	2,23	1,33	0,52	-0,2762	
9*	50	8	29,00	14,09	5,83		3,47		1,99		0,40		

4.3.4 Condiciones para la obtención del producto óptimo

Para la obtención del producto objetivo se procedió simular en SOLVER las ecuaciones de los puntos del perfil de fusión obtenidos mediante la experimentación. En la simulación se evaluó % de soya y tiempo de reacción de manera que se maximice el punto de fusión y el perfil de fusión cuadre con los estándares comerciales.

Se estableció como valor mínimo de tiempo de interesterificación 2hr. En la Tabla 13, se resumen las condiciones de reacción necesarias que teóricamente se debe cumplir para la elaboración del producto optimo en base a los resultados que se han obtenido del diseño experimental.

**TABLA 13. CONDICIONES PARA LA ELABORACIÓN
DEL PRODUCTO OBJETIVO**

Aceite de Soya (%)	Tiempo (h)	% Enzimas	Temperatura
16.06	2	4%	70C

4.4 Análisis del producto óptimo obtenido

En la Tabla 14 se presenta los valores CGS a las distintas temperaturas y PF obtenidos al realizar la mezcla del producto óptimo antes y después de la interesterificación.

Se pudo apreciar un ligero aumento del punto de fusión y un incremento en la acidez de la mezcla. Esto fue causado por algo de humedad remanente en el aceite o espacio de cabeza del reactor. Se presentó un olor a “pan”, característico del producto interesterificado. Así mismo hubo un incremento de color luego de haber sido interesterificado.

En lo respectivo al perfil de sólidos y el punto de fusión, se detallan los resultados obtenidos en la Tabla 14.

4.4.1 Análisis físico químico del producto óptimo

**TABLA 14. PROPIEDADES FÍSICO QUÍMICAS
MEZCLAS ÓPTIMAS**

Análisis	Mezcla Optima no interesterificada	Mezcla Optima interesterificada
Índice de refracción	14.590	14.560
AGL (% de A. Oleico)	0.04	1.190
Jabón	0 ppm	0 ppm
Color Amarillo/Rojo	30/2.0	35/2.0
Índice Yodo	n/a	n/a
Índice Peróxido	0.071	0.068
Punto de Fusión	35.0	41.0

4.4.2 Análisis de PF y CGS

TABLA 15. CGS PRODUCTO ÓPTIMO

Tiempo	CGS 10	CGS 20	CGS 25	CGS 30	CGS 35
0 horas	36,15	15,85	9,41	5,56	3,06
2 horas	34,86	16,8	10,87	6,38	3,4

La Figura 13 presenta la curva de sólidos obtenida. También se presenta los valores máximos y mínimos de acuerdo al estándar que se tienen para mantecas de uso industrial.

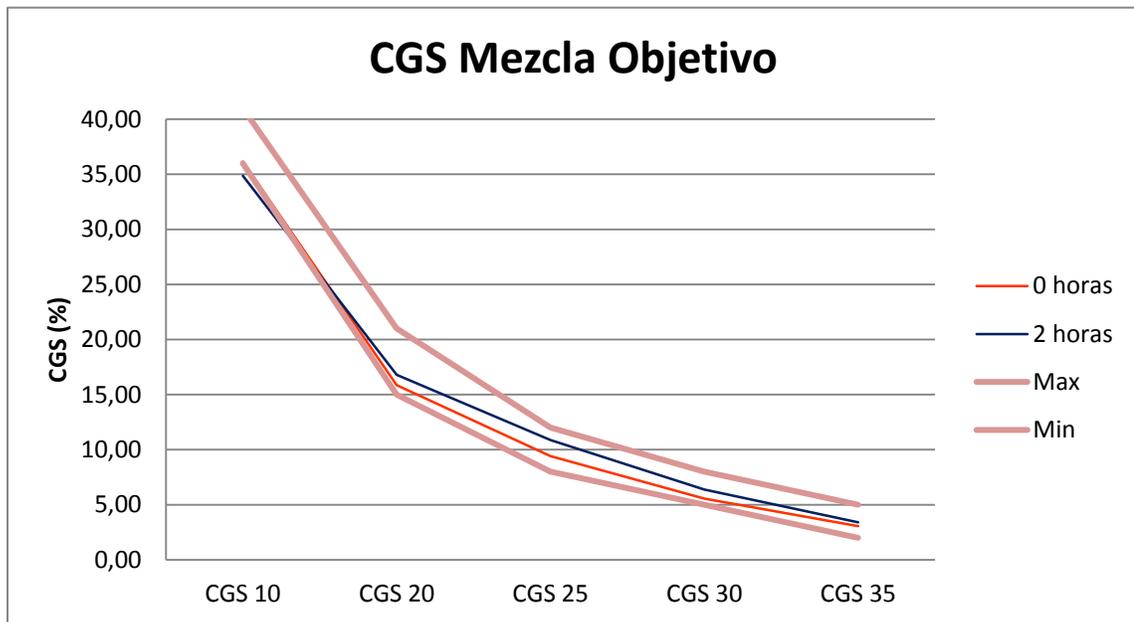


FIGURA 13. CGS MEZCLA OBJETIVO

Como se observa, tanto en la mezcla sin interesterificar como en la interesterificada, la tendencia es paralela. Esto indica que mezclas interesterificadas se comportaron de manera muy similar a las materias primas que las componen. El resultado del análisis de CGS por RMN mostró un aumento en el contenido de sólidos a temperaturas medias con respecto a las mezclas sin reacción.

La mezcla óptima se encontró dentro de las especificaciones buscadas para las mantecas de uso industrial. Existe una ligera disminución del contenido de sólidos en las temperaturas de medición más frías, esto aconteció por la interesterificación de AG insaturados provenientes del aceite de soya. El perfil de sólidos es descrito desde un CGS 10 de 35% hasta <3% en CGS 35.

Existen varias propiedades que se vieron afectadas por la modificación de cada uno de los valores CGS y se describen a continuación. Un CGS 10 no mayor a 32% es imprescindible para un comportamiento ideal de esparcimiento a temperaturas de refrigeración. El CGS 10 como un indicador de estabilidad de las mantecas. Varios investigadores han determinado que CGS 20 no menor de 10% previene y confiere resistencia al producto a la exudación y liberación de aceite (fuerza de la matriz cristalina). La mezcla optima obtuvo 15.85 y 16.80% antes y después de la interesterificación respectivamente por lo cual no presenta pérdidas de aceite a estas temperaturas. A más de esto, la plasticidad se vió favorecida por CGS 10 entre el 10 y 25%.

Las mediciones realizadas entre 30 y 35 °C indican las características de fusión en la boca. Valores de CGS 35 <3.5% previenen sensaciones cerosas en la boca. La mezcla óptima obtuvo valores de CGS 35 de 3.06 y 3.40 antes y después de la interesterificación respectivamente. Esto indica una probabilidad muy baja de percibir una sensación cerosa en la boca al ingerir el alimento.

En lo respectivo al punto de fusión, se logró un aumento de 1.5 °C luego de la reacción enzimática. Se sabe por la experiencia con esta mezcla, que a mayor tiempo de reacción, mayor aumento del PF y CGS. Se interesterificó únicamente por 2 horas para alcanzar los parámetros del producto objetivo, sin embargo tiempos de reacción más largos son posibles dependiendo el producto deseado. La curva obtenida satisfizo las especificaciones del producto objetivo.

4.4.3 Compresión / Textura

Los ensayos de compresión fueron realizados a temperatura ambiente de aproximadamente 25 °C con un acondicionamiento o período de cristalización de 48 horas a 20 °C.

La pendiente inicial de las curvas muestran las deformaciones elásticas no recuperables de las bases grasas. A continuación se presenta un seno que presenta el comportamiento viscoso de las grasas (de Man et al., 1991).

La fuerza de ruptura para mezcla optimizada fue de 3,9 N aproximadamente, mientras que mezcla optimizada luego de interesterificación no mostró fuerza de ruptura.

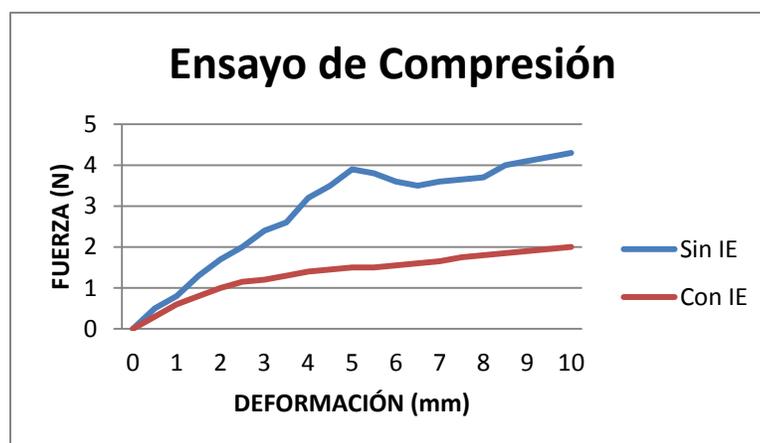


FIGURA 14. CURVA DE DEFORMACIÓN

4.4.4 Calorimetría

La calorimetría diferencial es el método termo analítico más usado para conocer las propiedades de fusión de una grasa. Mediante este método se logra conocer los fenómenos térmicos que ocurren dentro de las mezclas de grasa y aceites. Este análisis provee la medición directa de la energía involucrada en los procesos de fusión y cristalización de las mezclas grasas.

Para este análisis se siguió el método de la AOCS Cj-DSC. Se realizó la caracterización del perfil de fusión mediante calorimetría diferencial con el producto antes y después del proceso de interesterificación enzimática.

Las pendientes que se muestran en la Figura 15 determinan las temperaturas en donde se incrementa el paso de calor a través del material graso analizado. Al usar la mezcla objetivo sin interesterificar se observan 2 regiones muy definidas y separadas de flujo de calor.

Estas regiones están definidas por la composición binaria de la mezcla (soya y palma). Luego de interesterificar se observó que el flujo de calor es menor a bajas temperaturas (cambio de composición de triglicéridos) y hubo mayor flujo de calor a temperaturas más elevadas (10 - 30 °C).

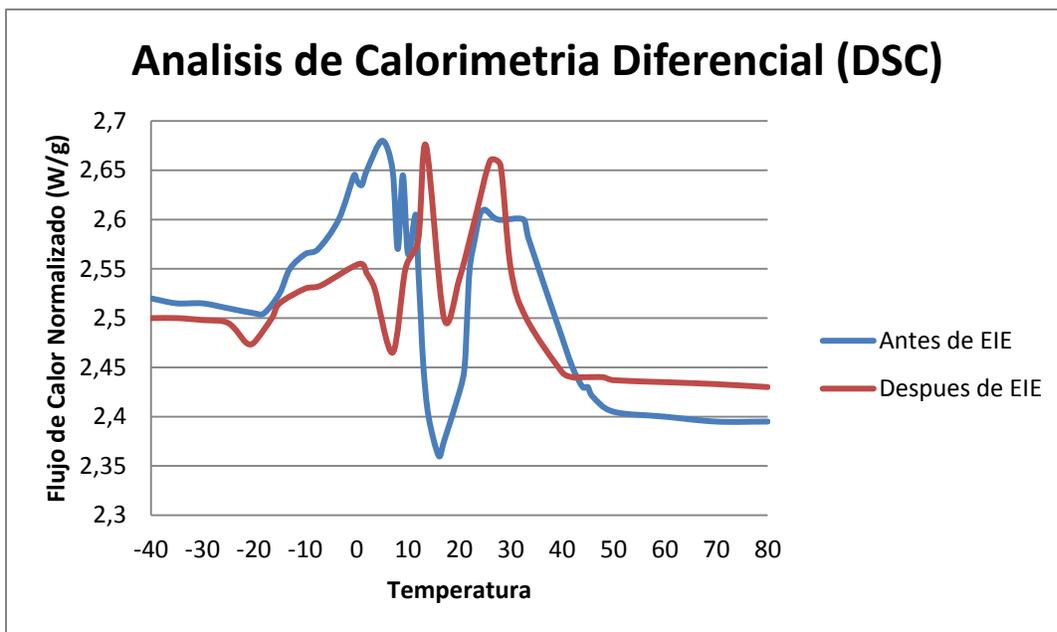


FIGURA 15. DSC - CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO

4.4.5 Luz polarizada

En las Figuras 16 y 17 que se presentan a continuación, se observa los cristales formados por la manteca al ser analizada en un microscopio de luz polarizada sobre una placa peltier. La muestra A es la mezcla objetivo sin el proceso de interesterificación enzimática. La muestra B es la mezcla objetivo con el proceso de interesterificación enzimática aplicado durante el tiempo establecido por la función Solver de Excel.

Ambas observaciones fueron temperadas durante 48 horas a 13 °C. Pasado este periodo de cristalización se procedió a realizar la observación a 25 °C. Se puede observar que existen diferencias en la morfología y tamaño del cristal luego del proceso de interesterificación.

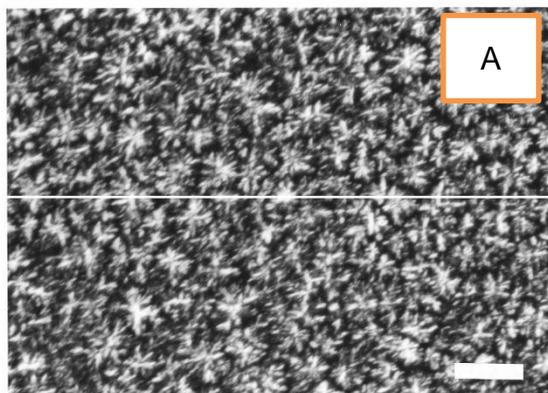


FIGURA 17. CRISTALES ANTES DE IE

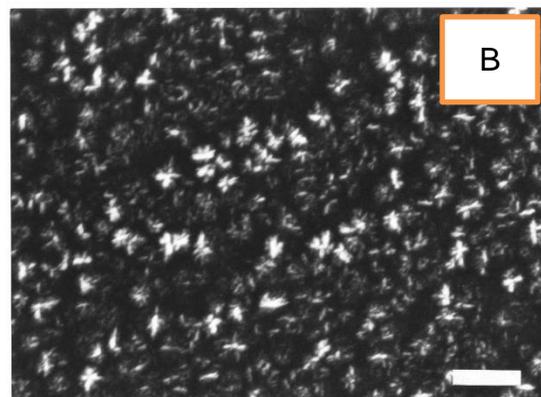


FIGURA 16. CRISTALES DESPUES DE IE

CAPÍTULO 5

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- La reacción de interesterificación mediante el uso de enzimas genera cambios en los puntos de fusión y perfil de fusión en las mezclas de aceite. (NMR)
- Los productos obtenidos pueden ser usados en la elaboración de mantecas de uso industrial en función del perfil fusión deseado.
- La interesterificación enzimática reorganiza las mezclas grasa a nivel de triglicéridos distribuyendo de manera aleatoria los componentes más abundantes. Esto se evidencia en el aumento del contenido de sólidos a distintas temperaturas.
- La acidez de la mezcla de aceites se incrementa luego de la reacción debido a la presencia de ácidos grasos libres que no pudieron volver a esterificarse.

- En presencia de oxígeno se fomenta la síntesis de peróxidos y otros productos de oxidación.
- De acuerdo al análisis estadístico, la composición de las mezclas es el factor que más impacta sobre el perfil de fusión de las mezclas interesterificadas enzimáticamente.
- El tiempo de reacción incide de manera significativa únicamente en el PF y CGS 25.
- La formación de cristales β' , se ve favorecida por el proceso de interesterificación enzimática. (RMN)
- La interesterificación incrementa la velocidad de cristalización y promueve una mejor compatibilidad entre las mezclas. (DSC)
- El cambio en los parámetros texturales de las bases grasas pasa de un estado “inestable” a un estado más plástico, requerido al momento del uso de emulsionantes.

Recomendaciones

- Se debe acondicionar el enzima previo a su uso.
- Mantener una cabeza de nitrógeno evita la formación de productos no deseados resultante de la oxidación de lípidos.
- Deodorizar la mezcla interesterificada dependiendo de la acidez y olores generados durante el proceso.
- Evitar humedad en el aceite, esto genera un incremento exponencial de ácidos grasos libre.
- Blanquetear los reactores con nitrógeno para conservar la enzima cuando no se está usando.
- Evite usar enzimas que han procesado mezclas diferentes.

ANEXOS

- ANEXO 1: PRELIMINAR DE INVERSION Y COSTOS INTERESTERIFICACIÓN QUIMICA VS INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA
- ANEXO 2: INFORME PRUEBAS DE DESEMPEÑO CON PRODUCTOS INTERESTERIFICADOS – PAN
- ANEXO 3: INFORME PRUEBAS DE DESEMPEÑO CON PRODUCTOS INTERESTERIFICADOS - TORTAS

BIBLIOGRAFÍA

C. E. Stauffer, Bailey's Industrial Oil and Fat Products Vol. 1: Edible Oil and Fat Products: Products and applications, 6th. Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ - USA, 2006, Página(s): 207-227

D. Anderson, Bailey's Industrial Oil and Fat Product Vol. 5: A Primer on Oils Processing Technology, 6th. Edition, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ - USA, 2005, Página(s): 47-49

F. Shahidi, Bailey's Industrial Oil and Fat Product Vol. 1: Edible Oil and Fat Products: Chemistry, Properties, and Health Effects, 6ta. Edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ - USA, 2005, Página(s): 1-15

Novozymes A/S, Enzymes at work, 1era. Edición, Research and Development Department publication, Bagsvaerd, Dinamarca, 2011, Página(s): 6-9, 46, 47

R. D. O'Brien, Bailey's Industrial Oil and Fat Products Vol. 1: Edible Oil and Fat Products: Products and applications, 6ta. Edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ - USA, 2006, Página(s): 125-157

S. P. J. Namal Senanayake y F. Shahidi, Bailey's Industrial Oil and Fat Products Vol 3: Modification of Fats and Oils via Chemical and Enzymatic Methods, 6ta. Edición, John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ - USA, 2005, Página(s): 555-584

W. M. Willis y A. G. Marangoni, Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology: Enzymatic Interesterification, 1era. Edición, Marcel Dekker, Inc., Basel, NY - USA, 2002, Página(s): 857-895

E. J. Latondress, en D. R. Erickson, E. H. Pryde, O. L. Brekke, T. L. Mounts, y R. A. Falb, Handbook of Soy Oil Processing and Utilization, 1era. Edición, American Soybean Association and Journal of American Oil Chemistry Society, Champaign, IL - USA, 1980, Página(s): 145-152

G. Marangoni y D. Rousseau, "Engineering triacylglycerols: The role of interesterification", 6ta. Entrega, Trends Food Science & Technology, USA, 1995, Página(s): 329

H. Zhang et al., Production of Margarine Fats by Enzymatic Interesterification with Silica-Granulated *Thermomyces lanuginosa* Lipase in a Large-Scale Study, 78va. Entrega, Journal of American Oil Chemistry Society, Champaign, IL - USA, 2001, Página(s): 57-64

ANEXO 1

Costos de Produccion Interesterificacion Quimica vs. Interesterificacion Enzimatica

Interesterificacion Quimica: Costos de Produccion Estimados				Interesterificacion Enzimatica: Costos de Produccion Estimados			
Ejemplo: Mezcla de Aceite de Soya <i>Full</i> hidrogenado + Aceite de soya (IY 2 + IY 130)				Ejemplo: Mezcla de Aceite de Soya <i>Full</i> hidrogenado + Aceite de soya (IY 2 + IY 130)			
Capacidad de Planta				Capacidad de Planta			
Capacidad especifica		40 TPD		Capacidad especifica		40 TPD	
Dias laborables		330 dias/año		Dias laborables		330 days/year	
Capacidad teorica de planta		13200 TPA		Capacidad teorica de planta		13200 TPY	
Inversion				Inversion			
Equipos e Ingenieria		750000 US \$		Equipos e Ingenieria		600000 US \$	
Edificios y Estructuras		300000 US \$		Edificios y Estructuras		100000 US \$	
Intalacion de los equipos		150000 US \$		Intalacion de los equipos		50000 US \$	
Tuberias/Electricidad/Aislamientos		300000 US \$		Tuberias/Electricidad/Aislamientos		100000 US \$	
Costo total de la Inversion		1500000 US\$		Costo total de la Inversion		850000 US\$	
Periodo de depreciacion		5 Años		Periodo de depreciacion		5 years	
Costo de la inversion por tonelada			22,73 US \$/ton	Costo de la inversion por tonelada			12,88 US \$/ton
Costos Operativos				Costos Operativos			
Mantenimiento anual		30000 US \$		Mantenimiento Anual		30000 US \$	
Trabajadores	4 personas			Trabajadores	4 people		
Costo/persona	4480 US \$	17920 US \$		Costo/persona	4480 US \$	17920 US \$	
Quimicos y Reactivos				Quimicos y Reactivos			
Catalizador (NaOMe)	1 kg/ton			Silica	1 kg/ton		
Costo catalizador	2 US \$/kg	26400 US \$	2,00 US \$/ton	Costo Silica	1,5 US \$/kg	19800 US \$	1,50 US \$/ton
Acido cítrico	2,2 kg/ton			Enzima	0,35 kg/ton		
Costo ácido cítrico	1,5 US \$/kg	43560 US \$	3,30 US \$/ton	Costo enzima	60 US \$/kg	277200 US \$	21,00 US \$/ton
Tierra de blanqueo	5 kg/ton			Tierra de blanqueo	0 kg/ton		
Costo tierra de blanqueo	0,5 US \$/kg	33000 US \$	2,50 US \$/ton	Costo tierra de blanqueo	0,5 US \$/kg	0 US \$	0,00 US \$/ton
Servicios				Servicios			
Consumo de energía	50 kwh/ton			Consumo de energia	25 kwh/ton		
Costo energía	0,06 US \$/kwh	39600 US \$	3,00 US \$/ton	Costo de energia	0,06 US \$/kwh	19800 US \$	1,50 US \$/ton
Consumo combustible	150 kg/ton			Consumo de combustible	50 kg/ton		
Costo combustible	0,015 US \$/kg	29700 US \$	2,25 US \$/ton	Costo de combustible	0,015 US \$/kg	9900 US \$	0,75 US \$/ton
Otros (agua, aire, N2)		16500 US \$	0,80 US \$/ton	Otros (agua, aire, N2)		16500 US \$	0,80 US \$/ton
Costo Medioambiental				Costo Medioambiental			
Tierra de blanqueo agotada	7 kg/ton			Silica utilizada + enzimas	2,7 kg/ton		
Costo de eliminacion	0,1 US \$/ton	9240 US \$	0,70 US \$/ton	Costos de gestion de desechos	0,1 US \$/ton	9240 US \$	0,70 US \$/ton
Costo operativo total por tonelada		245920 US \$	18,63 US \$/ton	Costo operativo total por tonelada		400360 US \$	30,33 US \$/ton
Perdidas por rendimiento				Perdidas por rendimiento			
Post-blanqueo	2 kg/ton			Perdidas por absorcion aceite/enzim.	1,35 kg/ton		
Costo	0,7 US \$/kg	18480 US \$	1,40 US \$/ton	Costo	0,7 US \$/kg	12474 US \$	0,95 US \$/ton
Post-deodorizado	13 kg/ton			Post-deodorizado	2,1 kg/ton		
Costo	0,7 US \$/kg	120120 US \$	9,10 US \$/ton	Costo	0,7 US \$/kg	19404 US \$	1,47 US \$/ton
Costo por pérdidas de rendimiento		138600 US \$	10,50 US \$/ton	Costo por pérdidas de rendimiento		31878 US \$	2,42 US \$/ton
Costo Total (inversión+operativo+rendimiento)			51,86 US \$/ton	Costo Total (inversión+operativo+rendimiento)			45,62 US \$/ton

ANEXO 2

INFORME PRUEBAS DE DESEMPEÑO CON PRODUCTOS INTERESTERIFICADOS - PAN

Fecha: 17/07/2014

Objetivo de la prueba:

Evaluar el desempeño en Panificación y Cakes con dos formulaciones de mantecas, una con mezcla no interesterificada y otra con mezcla interesterificada. Las recetas corresponden a las utilizadas por el técnico de Grupo Superior donde se ejecutaron las pruebas.

CARACTERÍSTICA DE PRODUCTOS - MANTECAS		
	no interesterificada	Mezcla interesterificada
Color	Amarillo pálido	Amarillo oscuro
Olor	Característico	Característico
Sabor	Bueno	Bueno
Consistencia	Muy suave	Suave
Textura	Homogénea	Homogénea
Brillo	Brillante	Opaco
Apariencia visual	Buena	Buena
Observaciones	Se funde en las manos	-

Prueba de Panadería				
Ingredientes	Fórmula utilizada (pan de manteca tipo DULCE)		Fórmula utilizada (pan de manteca tipo SAL)	
	%	Pan (gr)	%	Pan (gr)
Harina	52%	1000	52,30%	1000
Agua	26%	500	26,15%	500
Sal	0%	1	0,10%	2
Azúcar	16%	300	3,66%	70
Manteca	5%	100	15,69%	300
Levadura	2%	30	2,09%	40
Peso total	100%	1930	100,00%	1912

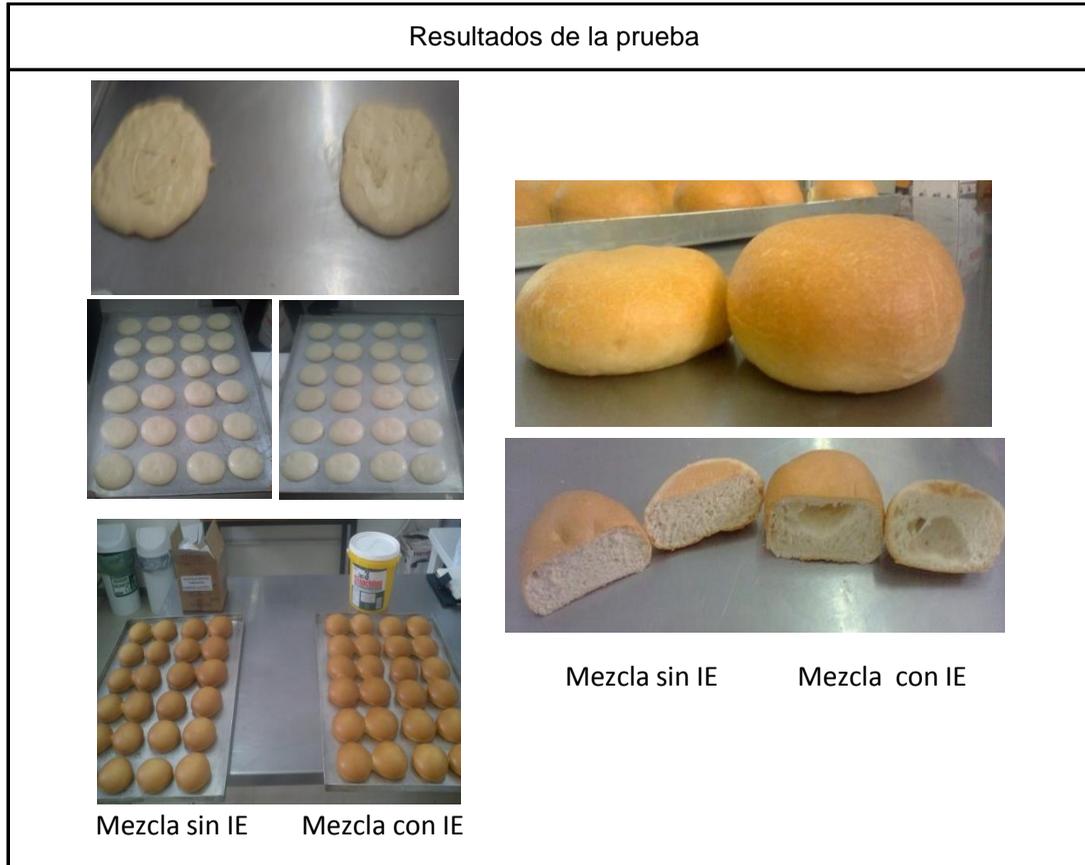
Parámetros de las pruebas con cada una de las mantecas				
Parámetros	Pan dulce		Pan sal	
	Mezcla no interesterificada	Mezcla interesterificada	Mezcla no interesterificada	Mezcla interesterificada
Panes	Redondo	Redondo	Redondo	Redondo
Variable de la prueba	10% respecto a la harina	10% respecto a la harina	30% respecto a la harina	30% respecto a la harina
Mezclado	A máquina	A máquina	A máquina	A máquina
Tipo de amasadora	Batidora	Batidora	Batidora	Batidora

ANEXO 2

Tiempo de Amasado	7	7	7	7
Característica de la masa	Muy elástica, húmeda	Elástica	Elástica	Elástica
Temperatura de la masa	30,9° C	30,5° C	30,2° C	30,8° C
Tiempo de reposo de la	15	15	15	15
Peso de la pieza de pan	60	60	60	60
Consistencia de la masa	Muy elástica, se extiende a los lados	Elástica, crece hacia arriba	Elástica, crece hacia arriba	Elástica, crece hacia arriba
Tiempo total de moldeo	8	8	8	8
Temperatura de la cámara de	38° C	38° C	38° C	38° C
Humedad de la cámara de	65%	65%	65%	65%
Tiempo de leudo (minutos)	60	60	60	60
Temperatura de horno	170° C	170° C	170° C	170° C
Tiempo de horneado	15	15	15	15

Parámetros	Pan dulce		Pan sal	
	Mezcla no interesterificada	Mezcla interesterificada	Mezcla no interesterificada	Mezcla interesterificada
Peso (gramos)	53,92	54,50	53,98	55,50
Altura (mm.)	29,6	41,2	28,9	41,5
Color (miga)	Normal	Normal	Normal	Normal/Presenta agujeros de aire
Sabor	Bueno	Bueno	Bueno	Bueno
Textura	Suave esponjosa	Suave esponjosa	Suave esponjosa	Suave esponjosa
Olor	Bueno	Bueno	Bueno	Bueno
Miga	Uniforme	Uniforme	Uniforme	Uniforme
Aspecto visual	Bueno	Bueno	Malo/con marcas del moldeo	Bueno

ANEXO 2



Observaciones:

- * El punto de fusión de la grasa es muy bajo, al manipularlo con la mano empieza a fundirse, sin embargo en el empaque tiene buena apariencia.
- * El comentario del panadero es que tiene mucha humedad y le parece muy suave, lo que hace que la masa se extienda en lugar de crecer.
- * La manteca tiene buen aspecto en relación a la competencia, se aprecia con brillo.
- * El producto final obtuvo un volumen inferior a la competencia, con las dos fórmulas de panes evaluadas.
- * La Manteca PC tuvo 48 horas de tempering al ambiente al momento de las pruebas.

ANEXO 3

INFORME PRUEBAS DE DESEMPEÑO CON PRODUCTOS INTERESTERIFICADOS - TORTAS

Fecha: 17/07/2014

Objetivo de la prueba:

Evaluar el desempeño en Panificación y Cakes con dos formulaciones de mantecas, una con mezcla no interesterificada y otra con mezcla interesterificada. Las recetas corresponden a las utilizadas por el técnico de Grupo Superior donde se ejecutaron las pruebas.

CARACTERÍSTICA DE PRODUCTOS - MANTECAS		
	no interesterificada	Mezcla interesterificada
Color	Amarillo intenso	Amarillo intenso
Olor	Característico	Característico
Sabor	Característico	Característico
Consistencia	Muy suave	Suave
Textura	Homogénea	Homogénea
Brillo	Muy bueno	Bueno
Apariencia visual	Muy buena	Buena
Observaciones	Se funde en las manos	-

Prueba Pasteleria		
	Fórmula utilizada para TORTAS	
Ingredientes	%	Cake
Harina	32%	500
Leche	1%	15
Sal	0%	1
Azúcar	26%	400
Margarina	19%	300
Polvo de Hornear	1%	12,5
Huevos	20%	313
Total	100%	1542

Parámetros de las pruebas con cada una de las mantecas		
	Pan dulce	Pan sal
Parametros de la prueba	Mezcla no interesterificada	Mezcla Interesterificada
Tipo de preparacion	Cake	Cake
Variable de la prueba (Margarina)	60% respecto a la harina	60% respecto a la harina
Mezclado	A máquina	A máquina
Tipo de máquina	Batidora	Batidora
Minutos de batido inicial (minutos)	11	11

ANEXO 3

Minutos de batido segunda etapa	5	5
Característica del batido (azúcar + margarina)	El aire atrapado al inicio disminuye al llegar a los 11	Incorpora aire y lo mantiene al final del batido
Temperatura de horno	180° C	180° C
Tiempo de horneado en minutos	1 hora 20 minutos	1 hora 22 minutos

Resultados de la prueba	
	
	
Mezcla sin IE	Mezcla con IE

Observaciones:

- * El punto de fusión de la grasa es muy bajo, al manipularlo con la mano empieza a fundirse.
- * Tiene buen aspecto, se observa con brillo y muy homogénea.
- * Durante el batido inicial de azúcar más margarina, a medida que aumenta el tiempo de batido empieza a disminuir el volumen.
- * El color de la masa en producto final fue muy diferente a la competencia, se observa rojizo y luego de un tiempo se vuelve oscuro.