



(043.2)
TESIS
00861

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Biblioteca
50 y 115 1º subsuelo
biblioteca@exactas.unlp.edu.ar
Tel 0221 422-6977/19 int. 129



DEX-53684

Los girasoles.

- Vincent Van Gogh -

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

CRISTALIZACION DE TRIGLICERIDOS
EN MEZCLAS COMPLEJAS

861

MARIA LIDIA HERRERA

TESIS

1990



DCN

Autos...

[]

A

17-VI-91

[]

11.2

73.244 B. 5.6.8.9.

11.7

El presente trabajo de tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Bioquímicas, fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección de la Doctora María Cristina Añón.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por haberme dado la posibilidad de emprender y desarrollar este trabajo de investigación a través de las becas que me fueron otorgadas.

A la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata por la formación científica y humana que me brindó.

A la Doctora María Cristina Añón por haber posibilitado mi iniciación en la investigación, brindándome su guía, dedicación y estímulo durante la dirección de este trabajo.

Al Ingeniero Juan Alejandro Segura por el desarrollo de la tecnología que hizo posible estas experiencias y por el sólido apoyo y marco conceptual que me brindó durante el desarrollo de este trabajo de tesis.

A Molinos Río de La Plata S.A. por haber aportado todas las muestras que fueron empleadas en estas experiencias.

A la Doctora Marta Melgarejo por la gentileza con que fui recibida en su laboratorio.

Al señor Walter Atencio por su amistad y apoyo técnico.

Al señor Sergio Torres por su valiosa ayuda en la construcción del equipo fraccionador.

Al señor Arturo Colavita por el aporte de ideas en la corrección del diseño del equipo fraccionador.

A la señora Silvia García por su apoyo técnico en la obtención de los diagramas de Rayos X.

Al Ingeniero Nestor Serena por su esmerada labor en la calibración del sistema de control de temperatura.

Al Ingeniero Santiago Klappenbach por su colaboración en la puesta en marcha del equipo fraccionador.

A mis compañeros del CIDCA por su amistad y su apoyo y a todos los que, de alguna manera, contribuyeron a la concreción de este trabajo.

"El orden que imagina nuestra mente es como una red, o una escalera, que se construye para llegar hasta algo. Pero después hay que arrojar la escalera, porque se descubre que, aunque haya servido, carecía de sentido."

El nombre de la rosa, Umberto Eco

INDICE

INTRODUCCION	Pag
1. Características generales de grasas y aceites	1
1.1 Importancia comercial	1
1.2 Importancia nutricional	2
2. Operación de cristalización	4
2.1 Etapas involucradas	4
2.2 Polimorfismo	9
2.3 Cristalización de soluciones y aleaciones	23
2.4 Cristalización de grasas y aceites	25
3. Modificación de grasas y aceites	30
3.1 Hidrogenación	32
3.2 Interesterificación	36
3.3 Fraccionamiento	37
OBJETIVOS	43
MATERIALES Y METODOS	
1. Muestra empleada	44
2. Fraccionamiento	44
2.1 Equipo empleado	44
2.2 Método utilizado	47
2.3 Prueba piloto	47
3. Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (GLC)	49
3.1 Preparación de la muestra	49
3.2 Equipo utilizado	49
3.3 Condiciones de corrida	49
4. Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión (HPLC)	50
4.1 Preparación de la muestra	50

4.2	Equipo utilizado	51
4.3	Condiciones de corrida	51
4.4	Cuantificación de las áreas e identificación de componentes	52
5.	Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	53
5.1	Equipo utilizado	53
5.2	Calibración del equipo	53
5.3	Condiciones de corrida	55
5.4	Interpretación de los termogramas	55
5.5	Cálculo del calor de transición	56
6.	Difractometría de Rayos X	57
6.1	Equipo empleado	57
6.2	Condiciones de corrida	57
6.3	Interpretación de los diagramas	58
7.	Espectroscopia infrarroja	59
7.1	Preparación de la muestra	59
7.2	Equipo utilizado	59
7.3	Condiciones de corrida	59
7.4	Interpretación de los diagramas	59
8.	Resonancia magnética nuclear (RMN)	60
8.1	Preparación de la muestra	60
8.2	Equipo empleado	60
8.3	Condiciones de corrida	60
 RESULTADOS Y DISCUSION		
1.	Experiencias previas al fraccionamiento	61
2.	Fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado en ausencia de solventes	65
2.1	Caracterización de las muestras originales	69
2.1.1	Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa	69

2.1.2	Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión	70
2.1.3	Calorimetría diferencial de barrido	79
2.1.4	Difractometría de Rayos X	85
2.1.5	Espectroscopía infrarroja	87
2.2	Caracterización de las fracciones sólidas	89
2.2.1	Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa	89
2.2.2	Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión	92
2.2.3	Resonancia magnética nuclear	103
2.2.4	Calorimetría diferencial de barrido	104
2.2.5	Difractometría de Rayos X	109
2.2.6	Espectroscopía infrarroja	113
2.3	Caracterización de las fracciones líquidas	115
2.3.1	Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa	115
2.3.2	Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión	117
2.3.3	Resonancia magnética nuclear	121
2.3.4	Calorimetría diferencial de barrido	122
2.3.5	Espectroscopía infrarroja	128
3.	Equilibrios sólido- líquido	131
4.	Influencia de la velocidad de enfriamiento	137
	CONCLUSIONES	149
	BIBLIOGRAFIA	151

ABREVIATURAS

P ácido palmítico

O ácido oleico

S ácido esteárico

L ácido linoleico

Ln ácido linolénico

Pt ácido palmitoleico

A ácido araquídico

min minutos

seg segundos

m metros

cm centímetros

mm milímetros

Psi libras fuerza/pulgada cuadrada

ml mililitros

SSO diestearoleína

S00 dioleoestearina

P00 dioleopalmitina

000 trioleína

L00 dioleolinoleína

LLP dilinoleopalmitina

PPP tripalmitina

SSS triestearina

LLL trilinoleína

POP dipalmitoleína

PSP dipalmitoestearina

MMM trimiristina

AAA triaraquidina

ESS diestearoelaidina

POS palmitoestearoleina

SOS diestearoleina

EEE trielaidina

SEE dielaidinestearina

OPO dioleopalmitina

Introducción

1. CARACTERISTICAS GENERALES DE GRASAS Y ACEITES

1.1 Importancia comercial

Desde el punto de vista químico las grasas son ésteres del glicerol y ácidos grasos. Las grasas empleadas para consumo humano son mezclas de diferentes sustancias: pueden contener ácidos grasos libres, mono y diglicéridos, proteínas, vitaminas, antioxidantes, pigmentos, savorizantes, sales minerales e incluso en los productos manufacturados pueden formar emulsiones acuosas. Las grasas son llamadas aceites cuando son líquidas a temperatura ambiente, alrededor de 25°C. La mayoría de las grasas vegetales y marinas se encuentran dentro de esta categoría. Sin embargo las grasas de palma, coco y nuez de palma son sólidas a esta temperatura. Algunas grasas vegetales como la de cacao se llaman mantecas por su aspecto semejante a este producto de origen animal.

En algunas zonas templadas y frías de Europa y Estados Unidos el tipo de producto graso más utilizado por el público es el aceite para ensalada (Schwitzer, 1951). En estas regiones los aceites también son extensamente usados en la industria para el fritado, para conservar sardinas, anchoas, pescados y productos cárneos. En el mediterráneo y regiones de clima cálido se usan principalmente para cocinar aceites de algodón, girasol, soja y oliva. Con igual fin, el aceite de girasol es muy empleado en algunos países orientales, en el este de Europa así como también en Estados Unidos.

El girasol es originario de América Central y se utilizó por

primera vez para obtener aceite en Rusia (Diccionario Enciclopédico Monitor, 1960). El cultivo de girasol ha cobrado gran importancia en estos últimos años. La producción mundial estimada de semilla de girasol en el ciclo 89/90 es de 21,8 millones de toneladas según datos aportados por la Bolsa de Cereales de Buenos Aires con un aumento de 1,8 millones de toneladas respecto del ciclo previo. La conjunción de excelentes rindes y la decidida expansión de las siembras en los tres países productores más importantes, Unión Soviética, Argentina y Francia contribuyó al aumento de la oferta total. En la Argentina, segundo productor mundial, la mayor rentabilidad que ofrecen las oleaginosas está marcando una derivación de áreas en favor de las mismas. En el período mencionado la producción girasolera resultó de 3,9 millones de toneladas. El girasol tiene dos destinos principales: la producción de aceite y la producción de harinas. La producción mundial de aceite (ciclo 89/90) resultó ser de 7,6 millones de toneladas un 7,8% mayor que en el ciclo previo y la de harina 8,9 millones de toneladas (Bolsa de Cereales de Buenos Aires, 1990). El aceite a su vez, puede ser empleado para la preparación de productos como la mayonesa o ser modificado por ejemplo hidrogenado y utilizado en la preparación de materias grasas denominadas shortenings y en margarinas. Los dos aceites más empleados en Argentina con este fin son el de girasol y el de soja.

1.2 Importancia Nutricional

Los lípidos permiten al organismo viviente un almacenamiento

y transporte económico de la energía. Por otra parte son importantes por las vitaminas liposolubles que contienen y por los ácidos grasos esenciales que aportan. 25-35% de las calorías totales requeridas por un individuo normal deben provenir de los lípidos. Al combustionarse un gramo de grasa se liberan 9,0 Kcal. Proteínas y carbohidratos liberan sólo 4,0 Kcal/g. Aun conociendo la importancia de los lípidos, el consumidor no tiene en cuenta estas afirmaciones. Lo que le interesa conciente o inconcientemente son las reacciones sensoriales. El sentido del gusto es capaz de distinguir sabores ácidos, dulces, amargos y salados y el tacto bucal diferencias de temperatura, viscosidad, estado granulométrico, resistencia a la deformación de los alimentos, etc. Desde el punto de vista del gusto las moléculas de ácidos grasos son neutras. En efecto tienen un peso molecular elevado y son poco polares, poco solubles en la saliva y no penetran en las papilas gustativas para impresionarlas. Son poco volátiles y no llegan a las extremidades del nervio olfativo en el fondo de las fosas nasales. Pero desde el punto de vista táctil somos sensibles a la viscosidad de los aceites y emulsiones, a las diferencias de temperatura provocadas por la fusión de las grasas que intercambian su calor latente de cambio de estado con la lengua y paladar, a la deformación de los cuerpos grasos sólidos o semisólidos. Apreciamos por ejemplo la untuosidad de una mayonesa, la frescura de una manteca o de una margarina que funde en la boca, el crocante de una barra de chocolate en los dientes. La demanda de grasas sólidas es superior a la de grasas líquidas; sin embargo en la naturaleza se encuentra mayor cantidad de aceites.

2. OPERACION DE CRISTALIZACION

2.1 Etapas involucradas

Cuando se calienta un sólido cristalino puro se alcanza una temperatura a la cual cambia a líquido; este es el denominado punto de fusión, que tiene un valor definido dependiente de la presión externa. Si se enfría el líquido, se produce la solidificación a la misma temperatura para una presión dada; por tanto, en una sustancia pura el punto de fusión y el de congelación son idénticos. Es importante distinguir aquí los fenómenos de cristalización y de fusión. La cristalización se puede comparar a una reacción química en el sentido que una cierta barrera energética debe ser franqueada para permitir la formación de agregados moleculares que se transforman en cristales cuando alcanzan un tamaño crítico. Se necesita un sobreenfriamiento porque este primer estado requiere una gran energía de activación. La fusión de un cristal se produce espontáneamente sin esperar que un nivel energético suficiente para desagregarlo sea alcanzado. El sobrecalentamiento en el cambio de sólido a líquido sólo se ha observado en determinados polímeros en los que el proceso de fusión implica posiblemente la ruptura de enlaces (Glastone, 1979).

El proceso de cristalización es un fenómeno brusco. Se pueden distinguir en él dos etapas: la nucleación y el crecimiento de los cristales. La nucleación es el proceso de formación de los agregados moleculares que darán origen al cristal. Por debajo de la temperatura de fusión, T_f , el pasaje de átomos de la fase lí-

quida a la sólida disminuye la energía del sistema. Sin embargo la solidificación no comienza espontáneamente a temperaturas inmediatamente inferiores a T_f ya que es necesario primero crear una interfase que exige un aumento de energía del sistema. Cuando se forma un núcleo sólido esférico de radio, r , la disminución de energía libre del sistema debido al cambio de fase es:

$$\Delta F_1 = -\frac{4}{3} \pi r^3 \Delta F_v \quad (1)$$

donde:

ΔF_v : variación de energía libre por unidad de volumen que solidifica.

en tanto que el aumento de energía libre debido a la creación de la superficie del núcleo es :

$$\Delta F_2 = 4 \pi r^2 \sigma \quad (2)$$

donde:

σ : energía superficial unitaria.

La variación total de energía es:

$$\Delta F = \Delta F_1 + \Delta F_2 \quad (3)$$

o sea que:

$$\Delta F = -\frac{4}{3} \pi r^3 \Delta F_v + 4 \pi r^2 \sigma \quad (4)$$

Hay un radio r^* mínimo por encima del cual los núcleos ten-

derán espontáneamente a crecer ya que ese proceso disminuye la energía del sistema. Núcleos de radio menor que r^* tienden espontáneamente a disolverse. A medida que disminuye la temperatura (o aumenta el sobreenfriamiento) el tamaño mínimo que debe tener un núcleo para crecer espontáneamente disminuye.

Para ejemplificar lo que ocurre durante la nucleación tomemos el caso de los metales líquidos los cuales están formados por pequeños agrupamientos de átomos con estructura semejante al metal sólido. Estos agrupamientos son los que actúan como núcleos. Para cada temperatura hay un tamaño "máximo razonable" de agrupamiento que puede existir. Para que los núcleos crezcan este tamaño debe ser igual a r^* . Esta nucleación que ocurre en el seno del líquido se llama homogénea y es un caso simple que sirve para comprender el problema. Solo se produce en condiciones controladas en laboratorio. En condiciones ordinarias, los núcleos se forman en las paredes del recipiente en que está contenido el líquido o sobre partículas extrañas. Esto disminuye el grado de sobreenfriamiento necesario para formar núcleos. Este tipo de nucleación se llama heterogénea.

Los constituyentes principales de las materias grasas son los triglicéridos. A pesar del número relativamente restringido de ácidos grasos que los forman tienen una gran variabilidad de composición a consecuencia de la isomería de posición de las cadenas de los ácidos grasos sobre el glicerol. La interacción entre los triglicéridos es uno de los factores esenciales en el comportamiento de las materias grasas en la cristalización y fusión. Las propiedades físicas, las temperaturas de fusión, la estabilidad de los cristales, su aspecto, la velocidad de crecimiento dependen

entre otras cosas de la naturaleza de los componentes, del aporte energético, de la historia anterior de los triglicéridos y de la mezcla de materias grasas. Cuando los triglicéridos cristalizan aparecen arreglos moleculares regulares que marcan la formación de ligaduras más estrechas que en el estado líquido. Se observa una liberación de energía en el curso del fenómeno (15 Kcal/mol para triestearina, para citar una magnitud). La sobresaturación creada en la solución provoca la formación de pequeños cristales que están en equilibrio en la solución a una temperatura dada T_c (Van Den Tempel, 1968; Knoester y col., 1968). La ecuación que interpreta este fenómeno es la siguiente:

$$\Delta T = T_c - T = \frac{2 \sigma V T_c}{r \Delta H} \quad (5)$$

$$y \quad \frac{2 \sigma V}{r} = R T \ln \frac{C_r}{C} \quad (6)$$

donde:

T_c : temperatura de sobresaturación ($^{\circ}\text{C}$)

T : temperatura operacional ($^{\circ}\text{C}$)

σ : tensión interfacial cristal solución (ergs/cm²)

V : Volumen molar del compuesto cristalizado (cm³/mol)

r : radio del cristal (cm)

ΔH : calor de fusión (erg/mol)

C_r : Concentración de los cristales a la temperatura de

sobresaturación (mol/cm^3)

C : concentración de equilibrio de los cristales en la
solución (mol/cm^3)

La segunda etapa de la cristalización, el crecimiento de los cristales, depende de la sobresaturación. Para pasar de un estado de dispersión aleatoria a una dispersión ordenada es necesario que las moléculas tengan tiempo de desplazarse. Un enfriamiento intenso provoca un cambio de estado mas rápido y puede dificultar la cristalización sea porque las moléculas no tienen la movilidad suficiente sobre todo en un medio en el cual la viscosidad es grande, sea porque las moléculas no tienen el tiempo necesario para cambiar de estado. De aquí que se obtenga un estado vitroso. Hay una competencia entre la velocidad con que las moléculas pueden desplazarse y la incorporación a la red cristalina, de manera que la velocidad de crecimiento de los cristales pasa por un máximo en función de la temperatura.

Cristalización y fusión en el caso de las grasas no se presentan como fenómenos simples. En estos procesos influyen preponderantemente las condiciones prácticas (velocidad de transferencia de calor, materia y movimiento, gradientes de temperatura, viscosidad, agitación del medio) y las condiciones de procesamiento (procesos a que son sometidas las materias grasas en la industria) según los cambios de estado se produzcan en rangos de temperaturas más o menos amplios. Todos estos factores influyen en forma diferente sobre fusión y cristalización.

2.2 Polimorfismo

Los triglicéridos al cristalizar presentan el fenómeno de polimorfismo es decir, en el estado sólido poseen más de una forma cristalina dependiendo de la velocidad de cristalización y de su naturaleza química. Las formas cristalinas de los triglicéridos pueden ser estudiadas por una variedad de métodos entre los que pueden citarse determinación del punto de fusión, difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja, análisis térmico diferencial, métodos microscópicos, dilatómétricos y resonancia magnética nuclear.

Dos nomenclaturas son usadas en la actualidad para designar a las formas polimórficas de los triglicéridos: la propuesta por Malkin (1954) basada en el orden de los puntos de fusión (la forma de mayor punto de fusión es designada β , la de menor punto de fusión α y la de punto de fusión intermedio β' . Las modificaciones se designan con números romanos) y la propuesta por Lutton (1955), basada en los espaciamientos cortos que se presentan en los diagramas de rayos X. En este tipo de diagramas se miden dos clases diferentes de distancias; los espaciamientos cortos: distancia entre las moléculas adyacentes de una capa cristalina y los espaciamientos largos: espesor de una capa cristalina. En esta nomenclatura se usan también las designaciones α , β' y β . La forma α presenta una línea fuerte a 4,15 Å. La β' dos o tres líneas fuertes a 4,2 Å y 3,5 Å y la forma β una línea fuerte a 4,6 Å, usualmente la más fuerte. En adición a estas tres formas cristalinas se han observado otras modificaciones. Larsson (1964) ha completado esta última nomenclatura. Cuando la forma α es enfriada las molé-

culas se empaquetan en estructuras más cerradas y tienen menor movilidad dando lugar a una forma sub- α con un diagrama de rayos X correspondiente a la forma β' . Esta forma sub- α es llamada vítrea por Malkin y a veces también denominada γ por otros autores (Suzuki y col., 1985).

Chapman (1957) sugirió que se usaran las letras M o L para indicar si se trata de la nomenclatura de Malkin o la de Lutton. En el caso de PSP, la forma cristalina de mayor punto de fusión funde a 68,6°C y puede llamarse βM pero presenta en su diagrama de rayos X dos picos a 3,87 Å y 4,18 Å. Según la nomenclatura de Lutton se trata de la forma $\beta'L$. Este mismo autor ha desarrollado con posterioridad un método propio para la clasificación de los cristales de triglicéridos basado en la absorción infrarroja de las distintas formas a 720 cm^{-1} (Chapman, 1960). La forma sub- α presenta un doblete a 719 y 727 cm^{-1} , la forma αL una banda simple a 720 cm^{-1} , la forma $\beta'L$ un doblete a 719 y 727 cm^{-1} y la forma βL una banda simple a 717 cm^{-1} . La transición $\alpha \rightarrow$ sub- α es reversible, pero en las otras formas las transiciones son en un solo sentido $\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. La subcelda de la forma α es hexagonal y los átomos de carbono tienen un cierto grado de movilidad. La subcelda de la forma β' es ortorrómbica y tienen lugar dos orientaciones de planos de cadena que son perpendiculares entre sí. En la forma β todos los planos de cadena son paralelos y la subcelda más usual en triglicéridos es triclinica. La fase sub- α tiene menor estabilidad térmica que la fase α y se cree que posee un empaquetamiento de cadena tipo β' . Se han encontrado también fases con empaquetamiento de cadena mezclado. Fases con el mismo tipo de empaquetamiento de cadena pero con diferente estabilidad térmica

que tienen lugar en la misma muestra se distinguen por subclases $\beta'1$, $\beta'2$, etc, en el orden de estabilidad térmica decreciente. Como resultado del tipo de empaquetamiento de las cadenas de ácidos grasos la forma más estable posee el mayor punto de fusión, la mayor densidad, la mayor dilatación y el mayor calor específico. Para la forma β' se suele encontrar más de un punto de fusión. Esto es debido a que la celda unidad es suficientemente larga para contener dos o tres cadenas de ácidos grasos. La presencia de doble o triple cadena puede detectarse por medio de los espaciamientos largos de los diagramas de rayos X.

Numerosos autores han estudiado las formas polimórficas de los ácidos grasos. Los ácidos grasos más estudiados dada su importancia son esteárico (C18:0); oleico (C18:1-cis) y erucídico (C18:1-trans). Para el ácido esteárico se encontraron dos formas polimórficas B y C que se transforman una en otra cuando se hallan en solución (Sato y col., 1985). Esta transformación ocurre cuando la forma más estable (la forma C por encima de 32°C y la forma B por debajo de dicha temperatura) crece a expensas de la menos estable. La velocidad con que ocurre esta transición depende del solvente y de la temperatura. La propiedad más importante a tener en cuenta en lo que al solvente se refiere es su polaridad. Garti y Sato (1986) estudiaron el efecto de los detergentes en la velocidad de transición de las formas cristalinas en solución. Encontraron que algunos detergentes monoiónicos retardan las transiciones B-C o C-B, es decir entre la forma inestable y la estable del ácido esteárico en soluciones de metanol, n-hexano y decano. Este efecto depende de la naturaleza química del detergente y del solvente. Mediante calorimetría diferencial de barrido y difracto-

metría de rayos X se estudiaron las formas polimórficas de ácido oleico ultrapuro (99,99%) y se las comparó con los resultados hallados para ácido esteárico (Suzuki y col., 1985). El espectro de rayos X reveló tres formas cristalinas α , β y γ . Las formas α y β mostraron concordancia con las descritas por Lutton (1955). Coincidieron también con las formas polimórficas de bajo y alto punto de fusión definidas por Malkin. La forma γ se identificó por primera vez en esta ocasión. Se corroboró además que la forma β es estable mientras que las formas α y γ son metaestables. La forma α se obtiene cristalizando a mayor velocidad que la necesaria para la obtención de la forma β . Sus puntos de fusión son $13,3^{\circ}\text{C}$ y $16,2^{\circ}\text{C}$ respectivamente. Es importante destacar que se puso de manifiesto aquí la importancia de las condiciones de cristalización y su estrecha relación con la forma polimórfica obtenida. De acuerdo a los estudios realizados por Sato y Suzuki (1986) la forma β del ácido oleico es menos soluble que las formas α y γ en acetona y decano a cada temperatura ensayada. En las cercanías de la saturación de la solución se observaron transiciones $\alpha \rightarrow \beta$ o $\gamma \rightarrow \beta$. Se produce nucleación de la forma β a expensas de las formas menos estables. Los citados autores determinaron por primera vez los hábitos cristalinos de las formas describiendo los cristales α , β y γ .

Se han hecho gran cantidad de estudios de los triglicéridos puros en especial de los saturados. A modo de ejemplo citaremos los trabajos de Schlichter y colaboradores (1986) quienes mediante calorimetría diferencial de barrido de SSS determinaron los calores específicos de la forma α a 223 y 323K ($0,3129$ y $0,5757$ cal/g/K) y de la forma β ($0,2795$ y $0,4157$ cal/g/K) a las mismas

temperaturas. Hampson y Rothbart (1983) informaron valores concordantes con los hallados por Schlichter para ambas formas α y β . Para este mismo sistema a estas mismas temperaturas Simpson y colaboradores (1984) hallaron valores de 0,2890 y 0,3350 cal/g/K para la forma α y 0,4300 y 0,5770 cal/g/K para la forma β , discrepando con los dos autores anteriormente citados. Schlichter y colaboradores (1987) estudiaron además el efecto de los emulsificantes sobre el calor específico. Para ello utilizaron Span 60 y Span 65. Los emulsificantes incrementan los calores específicos de la forma β a partir del punto en el cual la curva de calor específico en función de la temperatura cambia de pendiente. Por debajo de esta temperatura los valores no se ven afectados. Para la forma α en cambio, no se observan modificaciones en los calores específicos por el agregado de emulsificantes. Los emulsificantes tienen la capacidad de retardar transformaciones polimórficas indeseables. Este efecto inhibitorio en las transformaciones de la forma α a la β no es absoluto, presenta variaciones a diferentes velocidades de calentamiento. Este hecho confirma la suposición que existen mecanismos de transformación alternativos bajo diferentes condiciones cinéticas. Walker (1987) estudió el comportamiento de SSS por calorimetría diferencial de barrido. Identificó las formas α y β pero no pudo probar la presencia de formas β' . En contraste con estos resultados Dafler (1977) explicó el comportamiento térmico de SSS sugiriendo que la forma α se convierte rápidamente en β' y esta a su vez se transforma en β por dos mecanismos separados cada uno con una constante de velocidad diferente. Por su parte, Azoury y colaboradores (1988) estudiaron el efecto de los detergentes sólidos sobre las formas polimórficas α y β de

SSS efectuando medidas de resonancia magnética del protón. Encontraron que el tiempo de relajación de la forma β se afectaba en presencia de los detergentes no así el de la forma α . Se han descrito para Triheptadecanoína y para SSS cuatro fases sólidas α , $\beta'1$, $\beta'2$ y β . Las temperaturas de fusión de estas fases fueron 65, 62, 60 y 50°C para las fases β , $\beta'2$, $\beta'1$ y α de Triheptadecanoína y 72, 64, 61 y 55°C para las mismas fases de SSS (Simpson, 1983). El mencionado autor concluyó además que las propiedades polimórficas de los triglicéridos resultan del balance de tres tipos predominantes de interacciones: entre los grupos terminales planares, entre las cadenas hidrocarbonadas laterales e interacciones intermoleculares de las unidades de glicerol. Esto contradice la creencia general que las interacciones entre los grupos terminales planares dictan el comportamiento físico de los lípidos. Simpson y colaboradores (1984) también calcularon los calores específicos para esas formas polimórficas en un rango de 190 a 320 K. Encontraron que las fases α y β de trimargarina y triestearina tenían valores semejantes en contraste con las formas $\beta'1$ y $\beta'2$ que presentaban valores diferentes. Así mismo, se han estudiado las formas polimórficas de PPP y SSS obteniéndose información sobre las distintas orientaciones de las cadenas, movilidad relativa de regiones particulares de estas moléculas para las distintas formas polimórficas (Bociek y col., 1985). Gibon y colaboradores (1986) por su lado estudiaron las formas polimórficas de PPP, PSP y POP y sus mezclas en diferentes proporciones. Estos triglicéridos permiten poner en evidencia factores como la longitud de las cadenas hidrocarbonadas (P y S) y la presencia de una insaturación sobre el polimorfismo y la intersolubilidad de estas moléculas. PPP y

PSP presentan una temperatura de fusión comprendida entre 65 y 70°C mientras que POP funde alrededor de temperatura ambiente. Los estudios realizados por difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido permitieron construir diagramas binarios de PPP-PSP y PPP-POP. Dichos diagramas muestran el rol que juega una doble ligadura cis en una red de cadenas saturadas. En el diagrama PPP-POP se observa la formación de una solución sólida y una transformación monotéctica (un líquido da origen a un sólido y otro líquido de composición diferente) para la forma β' . Para el sistema saturado sólo se forma solución sólida para esta fase. Es decir que la presencia de una insaturación modifica la solubilidad de estos dos triglicéridos entre sí. Las temperaturas de fusión similares de PPP y PSP así como la saturación de las cadenas es lo que posibilita, a pesar de sus longitudes diferentes, conservar una solución sólida β' hasta la fusión total de los componentes. Sin embargo se observa una transición a dos fases cuando aparece la forma β . Los glicéridos mixtos se solidifican difícilmente bajo esta forma. Cuando los cristales de PPP, SSS y sus mezclas con OOO en diferentes proporciones se estudiaron por difracción de rayos X, calorimetría diferencial de barrido y resonancia magnética nuclear se encontró que enfriando muy rápidamente las muestras, los triglicéridos cristalizaban en la forma α . Pocos minutos después, ésta se transformaba en β' . Luego se observaba una disminución gradual de los espaciamentos largos alcanzando los valores correspondientes a la forma β (Norton y col., 1985). Hampson y Rothbart (1983) estudiaron por calorimetría diferencial de barrido los calores específicos de LLL, MMM, PPP y SSS al igual que Charbonnet y Singleton (1947). Estos autores encontraron valores dis-

cordantes entre sí. Todos los estudios citados anteriormente como ejemplos y muchos otros no siempre han llegado a las mismas conclusiones. Esta controversia ha influido desfavorablemente en la comprensión del comportamiento de grasas y aceites.

Los resultados obtenidos con triglicéridos puros se han volcado posteriormente en el estudio de sistemas complejos. Schlichter y colaboradores (1988) estudiaron la cristalización de manteca de cacao por calorimetría diferencial de barrido en presencia y ausencia de monoestearato de sorbitan a diferentes velocidades. La velocidad de enfriamiento afecta las entalpías y temperaturas de las transiciones de fases. Una velocidad muy lenta de enfriamiento causa un descenso significativo en la entalpía de cristalización sugiriendo que el fraccionamiento de los glicéridos ocurre bajo esas condiciones. En presencia de 5% de monoestearato de sorbitan el punto de solidificación es mayor y el de fusión más bajo. Ambas entalpías de cristalización y fusión son menores que la de manteca de cacao pura. La presencia de emulsificantes parece promover la cristalización fraccionada. Las curvas de fusión después de diferentes períodos de cristalización isotérmica sugieren que las formas polimórficas de alto punto de fusión difieren de las de bajo punto de fusión y que la presencia de monoestearato de sorbitan afecta el fraccionamiento de grasas. También se ha estudiado el efecto de los emulsificantes en las transiciones polimórficas en manteca de cacao (Garti y col., 1986) haciendo hincapié en las formas IV, V y VI que son significativas para la industria. Los emulsificantes sólidos son los más eficientes en evitar la transición de la forma V a la VI. Estas formas polimórficas de la I a la VI fueron caracterizadas por Wille y Lutton en 1966.

El polimorfismo de aceite de nabo ha sido estudiado empleando difracción de rayos X y microscopía de luz polarizada (Naguib y col., 1985). Para ello se utilizaron muestras de aceites hidrogenados de índice de iodo 60 y 70. Ambas muestras se hidrogenaron de manera selectiva y no selectiva. En un primer momento todas las muestras cristalizaban en la forma β' pero luego ocurrían transiciones $\beta' \rightarrow \beta$. La muestra hidrogenada no selectivamente presentó un comportamiento distinto según la extensión de la hidrogenación, no encontrándose diferencias en la muestra hidrogenada selectivamente. En ambos casos la hidrogenación selectiva demoró la transformación polimórfica. Las formas polimórficas se caracterizaron por microscopía teniendo como patrón SSS pura cristalizada en las formas α , β' y β . Cuando el aceite de mayor índice de iodo se fraccionó con detergente, se lavó, se secó y se fijó se obtuvo predominantemente la forma β .

Debido a la gran expansión en los volúmenes de producción experimentada por el aceite de palma numerosos autores se han dedicado a su estudio. Los termogramas de fusión obtenidos por calorimetría diferencial de barrido a partir de aceite de palma cristalizado rápidamente muestran dos transiciones endotérmicas una de bajo punto de fusión denominada líquida y otra de alto punto de fusión llamada sólida. En general, la mayoría de los autores llama oleína a la fracción de menor punto de fusión y estearina a la fracción de alto punto de fusión. Cuando el aceite de palma es enfriado muy rápidamente cristaliza en las formas α y β simultáneamente. Deroanne (1975 a,b,c,d, 1976 a,b, 1977) hizo corresponder la forma α a la fracción líquida y la β a la sólida. Este fenómeno llamado doble cristalización fue observado por este autor

también en manteca con lo que concluyó que la doble cristalización ocurriría en todas las grasas que contuvieran dos tipos de cristales mixtos. Estos resultados son importantes desde el punto de vista tecnológico ya que el éxito del fraccionamiento de una grasa es función en primer lugar de la calidad de la filtración. Esta sólo se puede realizar en la industria si los cristales son de la forma β' . La relación entre el polimorfismo, la morfología y la filtración de los cristales debe ser conocida para poder poner a punto la tecnología del fraccionamiento sin solvente de una grasa. Deroanne describió los cristales α como de estructura laxa pero dada su inestabilidad influyen poco en la filtración. Los cristales β' son fuertemente ramificados, forman esferulitas compactas que filtran muy bien. Los cristales β son filamentosos y colman rápidamente el filtro (Deroanne, 1977).

Perron (1978 a,b, 1984, 1986) estudiando aceite de palma por calorimetría diferencial de barrido observó que cuando este se fundía aparecían las dos transiciones endotérmicas mencionadas por Deroanne en sus trabajos. Por resonancia magnética nuclear determinó el contenido de sólidos y lo relacionó con el diagrama calorimétrico. La primera transición endotérmica correspondía a una pequeña diferencia de variación en el contenido de sólido sin embargo era muy endotérmica. De acuerdo a la interpretación dada por el autor el fuerte intercambio calórico observado se debería a la transformación de la forma α inestable en formas más estables. La segunda transición endotérmica en cambio correspondería a formas de mayor estabilidad.

Es bien conocido que el comportamiento térmico de una grasa es importante para su utilización. Sin embargo no se han estable-

cido correlaciones que permitan ligar este comportamiento a la composición en triglicéridos y poder prever así para cualquier mezclas de grasa sus propiedades. Perron (1986) ha propuesto una primera aproximación a este problema basándose en la noción de triglicéridos inductores de cristalización y en la influencia del número de carbonos e insaturaciones en relación a las propiedades de las fases sólidas engendradas por estos triglicéridos. Ha sugerido un método para predecir el tenor de sólidos en función de la temperatura a partir de la composición en triglicéridos de la grasa considerada.

Habíamos mencionado que la forma polimórfica en que cristaliza un triglicérido depende fundamentalmente de dos factores: su naturaleza química y las variables de procesamiento. Respecto de la composición química es necesario citar la tendencia a la formación de cristales mixtos cuando se hallan presentes triglicéridos asimétricos que aumentan la intersolubilidad de los cristales (Chikamy, 1967). Los fenómenos son más simples cuando la cristalización es en presencia de solventes. Dada la mayor solubilidad de las moléculas los cambios cristalinos se harán preferencialmente dando las formas más estables. Cada forma polimórfica tiene un punto de transición que corresponde al punto de intersección de las curvas de energía libre de las diferentes formas cristalinas con la curva de energía libre de la sustancia líquida. En el caso de los triglicéridos la temperatura de fusión es función de la forma polimórfica y de la naturaleza de los triglicéridos (isomería geométrica, de posición y composición en ácidos grasos).

En el caso de mezclas, es decir en la mayor parte de los casos prácticos, interviene además el grado de compatibilidad e

incompatibilidad de los triglicéridos presentes. La naturaleza química de los aceites influye en la cristalización dado que esta depende de la distribución de los ácidos grasos sobre el glicerol, de la presencia de dobles ligaduras, de la configuración geométrica y de su longitud de cadenas. Los aceites de soja y girasol son β tendientes (Madsen, 1973); en estos aceites el 90% de los triglicéridos tienen cadenas de 18 carbonos; el aceite de algodón es β' tendiente (Merker, 1958), el contenido de ácidos grasos de 16 carbonos en este aceite es superior al de girasol y soja (alrededor de 25%) y el aceite de palma presenta el fenómeno de la doble cristalización de las grasas semisólidas (Deroanne, 1874, 1976, 1977). La presencia de mono y diglicéridos influye en el tipo de cristal que se obtiene.

En el fenómeno de cristalización también influye la naturaleza de la fase líquida presente. Por ejemplo si se considera la cristalización de triestearina en aceite de maní y en parafina se observa que en ambos casos se obtienen iguales cantidades de cristales pero que estos difieren en tamaño. Si se miden las superficies específicas de los cristales a 10°C y 40°C los cristales en aceite de maní resultan tener un valor doble del correspondiente a los cristales en parafina (Knoester y col., 1968).

Entre los factores tecnológicos que influyen en el polimorfismo podemos citar la velocidad de cristalización, la agitación, la curva o gradiente de enfriamiento, el solvente de cristalización y procesos de modificación industriales de las grasas.

Las diferentes formas cristalinas (sub α , α , β' y β) pueden ser obtenidas dependiendo de la velocidad de enfriamiento. Un enfriamiento muy rápido provoca la aparición de las formas sub- α y α

mientras que un enfriamiento más lento provoca en general la aparición de las formas β' y β (Van Den Tempel, 1968). La forma α es inestable y cuando es posible un aporte de energía se transforma en β' y β . Estas transiciones se realizan más fácilmente manteniendo los cristales a una temperatura ligeramente superior al punto de fusión de la forma polimórfica deseada.

En el caso del fraccionamiento de grasas la determinación de la velocidad de cristalización permite predecir una buena o mala separación de las diferentes fracciones. Como ejemplo consideraremos la manteca de nuez de palma refinada y la manteca de sebo refinada. En el caso de nuez de palma cuando se usa un programa rápido de temperatura se observan dos fracciones. Si la velocidad es lenta se encuentra una sola fracción. Esto muestra que será difícil fraccionar la nuez de palma sin solvente. En el caso del sebo refinado la separación es neta aún con programas de temperatura lentos y el fraccionamiento sin solventes no traerá problemas.

La presencia de mono y diglicéridos modifica la velocidad de cristalización. Cuando el aceite de maní no posee mono y diglicéridos la velocidad de cristalización es más rápida que en presencia de 5% de monoglicéridos y esta velocidad se ve muy disminuida cuando el aceite contiene 5% de diglicéridos. Normalmente la concentración de diglicéridos es superior a la de monoglicéridos en los aceites no refinados.

La interesterificación puede influenciar la velocidad de cristalización aun siendo parcial. Un ejemplo clásico es la cristalización de las materias grasas después de haber sido desodorizadas. En el caso de la manteca de cacao donde la desodorización

se hace a alta temperatura, la cristalización es tan mala que no puede ser utilizada en chocolatería. Cuando se somete una mezcla de aceite de girasol no hidrogenado y aceite de girasol hidrogenado de punto de fusión 50°C a este tratamiento la separación neta de las diferentes fracciones que se encuentra antes de efectuar este procesamiento no se obtiene con posterioridad, es prácticamente imposible diferenciar las fracciones inicialmente presentes (Tafic y col., 1968). La velocidad de cristalización así como la separación de las diferentes fracciones serán totalmente diferentes antes y después de la desodorización. Aún para una materia grasa sin mezcla se obtiene una diferencia neta según la temperatura y la duración de la misma. En el caso del aceite de palma las diferencias de comportamiento son notables. La fracción de alto punto de fusión aumenta de manera sensible después de haber sido desodorizada. Aunque la interesterificación no sea completa al finalizar el proceso los cambios se manifiestan influyendo fuertemente sobre el fraccionamiento ulterior. Estos cambios que se producen al fraccionar no son reproducibles. La interesterificación durante la desodorización es catalizada por impurezas (tierras decolorantes, jabones) y esta cantidad de impurezas varía de un proceso a otro con lo cual las cinéticas de las reacciones de interesterificación son muy diferentes.

Otro proceso industrial en el cual se producen modificaciones en las características de cristalización es el templado. Este proceso consiste en colocar a temperatura entre 25°C y 35°C durante dos o tres días margarinas o materias grasas (shortenings) y otros productos con el fin de mejorar sus propiedades de plasticidad, sus propiedades cremosas y el comportamiento en el horneado

(Haighton, 1976). Shortenings mantenidos a 10°C, 23°C, 26°C y 30°C durante dos y nueve días y posteriormente almacenados a 23°C presentaron transiciones $\beta' \rightarrow \beta$ como resultado de los tratamientos indicando que el templado influye en el incremento de la firmeza. Las muestras mantenidas a mayores temperaturas por mayor tiempo se endurecen más (Moziar y col., 1989).

2.3 Cristalización de soluciones y aleaciones

La solidificación de una solución salina de agua y cloruro sódico, no se efectúa generalmente a una temperatura única, como ocurre con el agua o con los metales puros, sino que se verifica entre determinados límites comenzando la cristalización a una cierta temperatura y terminando a otra inferior. Si ensayamos una serie de soluciones de concentración creciente, comenzando por el agua pura, y continuamos luego con soluciones cada vez más ricas en sal, vemos que la temperatura a la cual comienza la cristalización disminuye de solución en solución y existe una concentración llamada eutéctica que es la concentración correspondiente a la temperatura de solidificación inferior. Al continuar enriqueciendo en sal la solución se eleva la temperatura de comienzo de la solidificación. La solución que tiene la concentración eutéctica se solidifica brusca y completamente a una temperatura determinada, como sucede con el agua o cualquier sustancia pura y su curva presenta un sólo punto de detención a -22°C para el eutéctico y 0°C para el agua. Las curvas de composición hipo e hipereutécticas presentan dos puntos de detención; el punto donde comienza la so-

lidificación que es igual a -10°C , -18°C y -8°C para soluciones con 10%, 15% y 33% P/V de ClNa respectivamente y un segundo punto igual para todas a -22°C . Las soluciones de concentración 10% y 15% de ClNa son mas diluidas que la concentración eutéctica (23,5%). En ambas en el primer punto de detención precipita una cierta cantidad de cristales de hielo. Al ir disminuyendo la temperatura se solidifica más agua y la concentración del líquido residual sigue aumentando hasta llegar a la del eutéctico en donde se solidifica bruscamente todo el líquido. Cuando se enfría una solución de concentración superior a 23,5% de ClNa los cristales que precipitan son de ClNa. Al descender la temperatura continúa solidificando hasta llegar a 23,5% y se solidifica todo de una vez.

Fenómenos similares a los descritos ocurren en las aleaciones de metales. Dichas aleaciones son totalmente solubles en estado líquido pero en el estado sólido se presentan tres casos: insolubilidad como en el caso de bismuto y cadmio, solubilidad parcial como en el de cobre y plata y solubilidad total como las aleaciones de oro y plata. Las aleaciones de bismuto y cadmio se comportan de manera similar a las soluciones salinas. Las aleaciones de cobre y plata cuando solidifican precipitan cristales que no son puros ni de cobre ni de plata sino que contienen un porcentaje de ambos. Los cristales que van precipitando son de composición diferente y existe entre ellos bastante heterogeneidad. Si el enfriamiento es lento la composición de cristales vecinos se homogeneiza. Las aleaciones de oro y plata después de solidificar tienen el mismo grado de homogeneidad que cuando estaban fundidas y todos los cristales son de la misma composición o sea que en esta-

do sólido, ambos metales son totalmente solubles uno en otro. Solidifican a temperaturas inferiores al oro y superiores a la plata. La solidificación no es brusca sino que la precipitación de cristales ocurre en un rango de temperaturas. En el caso de que la velocidad de enfriamiento sea relativamente rápida, los fenómenos se producen en forma algo diferente, la difusión es imperfecta y los granos formados por la agrupación de cristales de diferente composición están constituidos por capas concéntricas heterogéneas cuyas composiciones varían del centro a la periferia (Apraiz Barreiro, 1964).

2.4 Cristalización de grasas y aceites

En el curso de la cristalización de las grasas aunque cada triglicérido presente en la mezcla tiene una forma cristalina preferencial, los mismos no cristalizan en forma independiente sino que varios de ellos de diferente punto de fusión forman una red cristalina común. Los triglicéridos en base al grado de saturación pueden dividirse en los siguientes grupos: triglicéridos trisaturados que juegan un papel importante en la formación de la estructura sólida, los disaturados que participan en la formación de la estructura y en el deslizamiento y el resto que son encontrados en la fase de grasa continua participando en el deslizamiento. Los cristales se hallan rodeados de grasa líquida. La posibilidad de deslizarse depende de la solidez de la estructura (Chikámy, 1965).

En general las grasas vegetales y en especial aquellas que

contienen en su mayoría ácidos grasos de idéntico número de carbonos tienden a presentar un mayor polimorfismo que las grasas animales. La transesterificación varía mucho las características polimórficas y aumenta la asimetría de los triglicéridos. Los triglicéridos además del carácter polimorfo son de carácter monotropo o sea que las transformaciones de una forma cristalina a otra ocurren en la dirección de las formas más estables, es decir la transformación se produce en el sentido $\alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. La transformación $\alpha \rightarrow \beta'$ es rápida mientras que la $\beta' \rightarrow \beta$ es lenta por lo tanto este fenómeno no influye tanto en la producción sino durante el almacenamiento y a menudo va acompañado de textura desagradable (arenosa al tacto).

Si bien las grasas y aceites son mezclas complejas de especies químicas pueden analizarse en diagramas de dos componentes como sistemas binarios o ternarios tomando los componentes mayoritarios como rectores del comportamiento de la mezcla. Las variaciones de composición de una mezcla repercuten proporcionalmente sobre sus componentes. Los triglicéridos presentan un comportamiento térmico muy complicado; los fenómenos explicados para aleaciones y soluciones salinas se presentan todos simultáneamente. Se encuentran tres tipos de sistemas dependiendo del par de triglicéridos rectores del comportamiento de la mezcla: solución sólida continua, eutéctico y pseudocompuestos.

Estas interacciones pueden diferenciarse mediante el conocimiento de la relación sólido líquido de la grasa en cuestión. Para ello pueden ser empleados diversos métodos: dilatación, microcalorimetría dinámica y espectroscopía de resonancia magnética nuclear. La dilatación se basa en la diferencia entre el volumen

específico de las grasas en estado líquido y sólido. Con los datos de los volúmenes específicos se construye un diagrama temperatura en función de los porcentajes de cada componente para cada relación sólido líquido (Chikámy, 1966). Los diagramas de isodilatación ilustran bien el comportamiento de fusión de las mezclas de materias grasas (Bailey, 1950). Estos diagramas se pueden construir de manera análoga a partir de los datos obtenidos con los otros métodos mencionados.

En un sistema en el cual los componentes forman solución sólida continua es decir cuando la compatibilidad es total entre los dos componentes cualquiera sean las proporciones de la mezcla considerada no se ven variaciones importantes en los puntos de fusión. Es el caso de SSS/ESS; POS/SOS y POP/POS. Un eutéctico presenta un punto de fusión mínimo para una concentración dada lo que se traduce en una dilatación mínima. Para citar ejemplos, forman eutécticos los pares PPP/SSS; EEE/SOS; PPP/LLL y SEE/SOS. La formación de pseudocompuestos se manifiesta por el contrario por la aparición de un punto de fusión y de dilatación máximos. No se trata de formación de compuestos de naturaleza química sino de un arreglo cristalino preferencial; es el caso de SSO/SOS y POP/OPO. Triglicéridos parecidos no son necesariamente compatibles así hay una compatibilidad mayor entre PPP/SOS que entre PPP/POP y el comportamiento es corrientemente imprevisible. Por ejemplo: se obtiene una fracción sólida por la simple mezcla a temperatura ambiente de fracciones líquidas de tocino y aceite de palma. Se trata de un pseudocompuesto que no se forma en los componentes tomados individualmente. La compatibilidad, la incompatibilidad y la existencia de los diversos sistemas están ligadas al polimorfismo

de los cristales y a la orientación de las cadenas glicerídicas en la red cristalina. Las distintas configuraciones estereoquímicas de la molécula en el cristal con diferentes orientaciones del arreglo en zig zag de las cadenas glicerídicas conducen a las formas cristalinas más o menos compactas ya descritas. La configuración menos compacta es la α y la más compacta es la β . Las formas β' son intermedias. Se admite actualmente que salvo en el caso de triglicéridos de cadena corta (C:12, C:14) un enfriamiento rápido produce un estado vidrioso y que aportando energía calórica pasa por las siguientes etapas: $\gamma \rightarrow \alpha \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. La energía necesaria para estas transformaciones depende de la estructura cristalina. Así la transición de una forma cristalina a otra es relativamente rápida en el caso de las cadenas con número par de carbonos y de los glicéridos simétricos y lenta en el caso de las cadenas con número impar de carbonos y de los triglicéridos asimétricos (Chikány, 1966). Evidentemente la velocidad de transición disminuye con el aumento de la longitud de la cadena. En los diagramas obtenidos por rayos X de los triglicéridos los espaciamientos largos son función de la longitud de las cadenas de los ácidos grasos y del ángulo de inclinación con respecto al plano de los grupos metilos. Lutton (1967, 1972) ha propuesto una representación en silla para los triglicéridos en concordancia con los resultados hallados por Rossel (1973) y por Knoester y colaboradores (1972) y han sido confirmados por medida de los cristales de triglicéridos saturados de largas cadenas. Existen diferentes arreglos posibles de las moléculas de triglicéridos en el cristal. Se encuentran más corrientemente las estructuras en doble o en triple cadena. Si los ácidos grasos solo difieren en longitud de cadena en dos carbonos

se encuentra una estructura de doble cadena donde los triglicéridos se disponen cabeza cola sea verticalmente (forma α y ciertas formas β') o con un ángulo de inclinación más marcado (β' y β). Si los ácidos difieren en longitud de al menos cuatro carbonos los espaciamentos largos aumentan generalmente para formar una estructura en triple cadena. Esta se produce también cuando está presente un ácido graso insaturado. En el caso de triglicéridos con largos de cadena muy diferentes tales como los acetoglicéridos la estructura es de simple cadena (Simpson y Hagemann, 1975).

En triglicéridos el pasaje de una forma a otra es a veces lento porque las formas cristalinas pueden corresponder a arreglos moleculares muy diferentes. Es así que los triglicéridos SOP en la manteca de cacao pasan muy lentamente de una estructura del tipo doble cadena a una estructura del tipo triple cadena lo que podría explicar los períodos de revenido prolongados que son necesarios para esperar la forma estable de los cristales de manteca de cacao (Paulicka, 1973) y de la fracción intermedia del aceite de palma, rica en POP y POS. Las velocidades de transición dependen en parte de las longitudes de las cadenas y por supuesto de la temperatura. Los fenómenos se complican por la interacción de los ácidos grasos libres y glicéridos parciales como los diglicéridos que se producen en el fraccionamiento del aceite de palma. Estos dan lugar a la formación de eutécticos y por otra parte prolongan la duración de la vida de las formas inestables (Persmark y colaboradores, 1974; Riiner, 1971; Jacobsberg, 1976).

3. MODIFICACION DE GRASAS Y ACEITES

El aceite puede obtenerse de diversas especies vegetales. A partir de leguminosas como por ejemplo la soja o de oleaginosas como girasol y maní y otras menos frecuentes en nuestro país como tung, nabo y colza. A su vez puede provenir de diferentes partes del vegetal como frutos por ejemplo el aceite de oliva o semilla como girasol, algodón, soja, etc. Los distintos aceites se procesan en forma diferente según su origen. Pocos pueden ser consumidos tal como se extraen. La mayoría de los aceites crudos contienen apreciables cantidades de impurezas, tienen con frecuencia colores oscuros, son turbios y poseen olores desagradables. Por lo tanto deben ser sometidos a una serie de transformaciones para ser utilizados en productos manufacturados o como aceites de cocina.

En el caso del aceite de girasol el contenido de aceite extraído por prensado o extracción con solvente de las semillas depende fundamentalmente del tamaño de partícula resultante de la molienda. Esto se ve influenciado por la homogeneidad de la masa molida de la que se extrae. Ensayando diversos métodos de molienda Kochhar y Rossell (1987) llegaron a la conclusión que para optimizar la extracción la mezcla debe tener un tamaño de partícula no mayor de dos milímetros y menos del 12% de las partículas no mayores que 1,18 mm.

Las etapas de refinación para aceite de girasol, tomado a modo de ejemplo se pueden esquematizar de la siguiente manera: Extracción- desgomado- neutralización- lavado con agua- secado- blanqueado- filtración- desodorización- segunda filtración.

El objetivo de cada una de estas etapas es el siguiente:

Desgomado: permite la remoción de fosfolípidos, azúcares, resinas, compuestos proteicos, trazas de metal, etc.

Neutralización: posibilita la eliminación de ácidos grasos, pigmentos, fosfolípidos, compuestos sulfurados, compuestos insolubles en aceites y solubles en agua.

Lavado: mediante este procedimiento se separan los jabones.

Secado: permite la remoción del agua.

Blanqueado: posibilita la eliminación de pigmentos, productos de oxidación, trazas de metales y jabones.

Filtración: permite la separación de las tierras de blanqueo y los insolubles.

Desodorización: mediante este procedimiento se eliminan sustancias volátiles como ácidos grasos libres, mono y diglicéridos, aldehídos y cetonas, hidrocarburos, compuestos sulfurados y productos de descomposición de pigmentos que le confieren al aceite un olor desagradable.

Segunda filtración: se realiza antes de almacenar, con filtros que retienen partículas de entre 30 a 10 micrones (Hamilton y Bhati, 1980).

El aceite de girasol que se usa para cocina sufre estos procesos de refinación y se obtiene un líquido entre pálido y amarillo brillante. Además es sometido a un proceso que no es común a todos los aceites: la winterización. Este proceso consiste en cristalizar las ceras a baja temperatura las que luego son removidas por filtración. Esto hace que al colocarlo en el refrigerador a 5°C el aceite permanezca límpido, sin turbiedad. Por esta característica son ideales aceites de mesa (Drachmann, 1932; Jamieson, 1942; Eckey, 1954).

Cuando la tecnología estaba poco avanzada se utilizaban materias grasas sin modificar para usos determinados por ejemplo manteca para untar el pan, aceite de oliva para la preparación de mayonesas, manteca de cacao para la fabricación de chocolate, etc. La utilización de grasas y aceites estaba limitada por la producción y los precios fluctuaban en consecuencia. La mezcla de los cuerpos grasos ha permitido la elaboración de productos aprobados por el consumidor y que poseen una gran versatilidad en cuanto a su formulación lo que representa una enorme ventaja económica para la industria. Un ejemplo de esto es la margarina (Jacobsberg, 1976; Jacqmain, 1977).

Para obtener cuerpos grasos con características diferentes a las de las materias primas pueden ser aplicados tres métodos: hidrogenación, interesterificación y fraccionamiento.

3.1 Hidrogenación

En 1902 se patentó un método de hidrogenación de grasas y

ácidos grasos en fase líquida usando níquel como catalizador lo que amplió las posibilidades de empleo de las materias grasas (Norman, Patente DP 141029, 1902). Desde ese entonces el proceso se utiliza en la industria para transformar aceites insaturados líquidos en materias grasas más saturadas. En esta operación el punto de fusión del producto final se ve incrementado respecto del punto de fusión inicial, junto con el punto de fusión la estabilidad de grasas y aceites se ve aumentada.

Para llevar a cabo este proceso es necesario dispersar hidrógeno en aceite en presencia de un catalizador. El aceite usado es generalmente pretratado, esto es, neutralizado y blanqueado dado que debe estar limpio y seco. El nivel de ácidos grasos libres no debe ser mayor que 0.15% y debe estar libre de otros venenos del catalizador como gomas, jabones y sulfuros. El hidrógeno debe tener una pureza del orden de 99,5%. El catalizador más empleado es níquel con un soporte de tierras de diatomeas y generalmente el contenido de níquel empleado es del 20%.

Las funciones del catalizador son fundamentalmente modificar la velocidad de reacción y dirigir la reacción en forma específica. La catálisis puede ser de tipo homogéneo o heterogéneo. En la catálisis homogénea ambos reactivos se hallan en la misma fase, en estado gaseoso o lo que es más usual en materias grasas en solución. Este tipo de catálisis es de poca importancia. En catálisis heterogénea los reactantes y el catalizador pueden encontrarse en dos o tres fases. La mayoría de las reacciones de hidrogenación son de la siguiente clase: el catalizador es sólido, el hidrógeno gaseoso y la sustancia a hidrogenar es un líquido.

Lo más destacable de este proceso es la selectividad del ca-

talizador es decir este es capaz de distinguir entre los diferentes ácidos grasos. En primer lugar el catalizador debe atacar los ácidos grasos más insaturados y luego otros más saturados hasta alcanzar el grado de insaturación deseado. La hidrogenación total no es un caso frecuente. La selectividad es muy importante desde el punto de vista nutricional; el ácido linoleico es un ácido graso esencial para los animales y debe estar presente en la alimentación. Un ejemplo en el cual la importancia de esta selectividad se ve manifiesta es la hidrogenación de aceites de pescado proceso en el que se saturan selectivamente los ácidos clupanodónicos, araquidónico y linolénico produciéndose oleico y linoleico, dando como resultado un producto final de alto valor nutritivo.

El cobre tiene una selectividad apreciablemente mayor que el níquel pero no es empleado por ser un poderoso pro-oxidante y por la dificultad de su remoción luego de finalizada la reacción; además su actividad y propiedades al ser reemplazado son muy inferiores a las del níquel.

Para conocer las condiciones en las cuales debe proceder la reacción, en particular la temperatura y la presión óptimas de operación, es indispensable un estudio termodinámico. Sin catalizador la hidrogenación procede a velocidad lenta; sólo pocas moléculas de sustancia reactiva tienen niveles de energía suficientemente altos para reaccionar. El efecto del catalizador es la disminución de la energía de activación. Si la energía de activación es conocida y también la concentración de reactivos puede calcularse la constante de equilibrio. Dado que su valor depende de la temperatura se puede determinar las condiciones óptimas de reacción. Para la mayoría de las reacciones de hidrogenación las

bajas temperaturas son termodinámicamente favorables. Si la temperatura es elevada la hidrogenación aún es posible si la presión de hidrógeno es suficientemente alta. En muchos casos un incremento relativamente bajo de la presión impide la hidrogenación. Sin embargo el aumento de presión tiene en otros casos un efecto cinético: se incrementa la velocidad de reacción. Dado que la hidrogenación es una reacción exotérmica en operaciones prácticas debe tenerse cuidado proveyendo un buen enfriamiento. El calor de hidrogenación de las grasas es de 25 Kcal/mol/doble ligadura que se satura entre 130°C y 200°C.

El mecanismo de reacción propuesto es el siguiente: durante la absorción de hidrógeno se forma probablemente un complejo π entre el centro reactivo del catalizador y la olefina. Es interesante destacar que pocos elementos actúan como catalizadores en la hidrogenación (Fe, Co, Ni, Cu y los metales nobles). Todos ellos tienen distancias entre metales de 2,47Å- 2,54Å o 2,70Å- 2,80Å. La responsable de la formación de la ligadura metal-olefina es la donación de electrones en orbitales π de la olefina a orbitales aceptores vacantes tipo σ del átomo de níquel en la superficie del catalizador y una unión tipo retrodonación de los orbitales d_{xy} o de los orbitales híbridos $d\pi-p\pi$ del níquel a orbitales aceptores π^* de la olefina. Esto involucra un carácter de doble unión en la unión metal olefina. La olefina que forma parte del complejo es hidrogenada y luego desadsorbida con lo cual el nivel energético decrece y es fácil retener un átomo de hidrógeno. La hidrogenación del complejo olefina no es absolutamente necesaria, si el H_2 no es suficiente la olefina se separa del catalizador sin hidrogenar. En este caso la isomerización tiene lugar en cierta extensión. Los

ácidos grasos insaturados cis durante el proceso son transformados en derivados trans de mayor punto de fusión que no se hallan en los aceites naturales en cantidades significativas. Los hidrogenados producidos por catálisis a partir de aceites son luego usados para la preparación de productos manufacturados tales como margarinas y shortenings (Zschau, 1976).

3.2 Interesterificación

La interesterificación es un proceso de menor importancia industrial que la hidrogenación. Como su nombre lo indica consiste en obtener ésteres diferentes a los iniciales. En la industria de grasas y aceites este proceso se usa para producir mezclas de grasas de distintos orígenes que posean características diferentes a las grasas originales. También se emplea para enriquecer mezclas grasas en un ácido graso en particular.

Los catalizadores más empleados en la actualidad para interesterificar grasas son los siguientes:

- a) Metóxido o etóxido de sodio a 80°C- 100°C.
- b) Sodio metálico a 100°C- 120°C.
- c) Sodio/Potasio 22/78% P/P de punto de fusión -12,5°C a temperaturas alrededor de cero grado.
- d) Butóxido de Potasio.

Este proceso se aplica tanto a aceites como a sus mezclas siendo posible predecir la composición en triglicéridos resultante conociendo la composición en ácidos grasos del aceite o

la mezcla de partida. Se conocen dos formas de efectuar esta reacción: en una fase llamada "al azar" y en dos fases denominada interesterificación dirigida. La reacción dirigida es un caso especial de la reacción "al azar" en la cual mediante la disminución de la temperatura de la mezcla de reacción se consigue la cristalización de los triglicéridos saturados modificando el equilibrio de la fase líquida causando la formación de una fracción de más alto punto de fusión. De esta manera por ejemplo el aceite de algodón que contiene 28% de ácidos grasos saturados pero que es líquido a temperatura ambiente en su estado natural puede transformarse en sólido a dicha temperatura. Para que la reacción sea completa es necesario comenzar con un aceite seco, con un contenido de ácidos grasos preferentemente inferior a 0,05% y libre de peróxidos dado que ellos reaccionan con el catalizador. El tiempo de reacción cuando se trabaja en vacío es de 30 min al final del cual se detiene la catálisis por adición de agua, soda caústica, ácido diluido o CO₂. La mayoría de las plantas usadas son piloto y su uso más común es modificar en batch las características de neutralizantes y blanqueadores. Sin embargo se han construido unidades de uso semicontinuo y continuo (Von Speisefetten, 1973).

3.3 Fraccionamiento

El fraccionamiento permite obtener aceites y fracciones sólidas en las cuales las propiedades físicas son netamente diferentes de las del aceite original.

Esta técnica ha sido muy empleada en el estudio de diversos

sistemas y para usos industriales. La posibilidad de obtener una separación neta entre las fracciones sólidas y líquidas de una mezcla grasa depende fundamentalmente del método de enfriamiento, el cual induce la forma y tamaño de los cristales de grasa obtenidos (Kreulen, 1976). El enfriamiento rápido causa gran sobresaturación y origina una enorme cantidad de cristales pequeños amorfos con pobres propiedades de filtrado. Esta forma microcristalina se transforma en la forma metaestable α que presenta las mismas características de cristalización y tendencia a desarrollar cristales mixtos. Un enfriamiento gradual de un aceite produce formas β y β' , macrocristalinas que pueden ser separadas fácilmente de la fase líquida. La cinética de cristalización de grasas y aceites puede ser descrita por ecuaciones frecuentemente usadas para sistemas inorgánicos (Van Putte y Bakker, 1987).

Las propiedades químicas y físicas de las fracciones separadas dependen de las condiciones de fraccionamiento y del destinado a la grasa. Las propiedades de las fracciones pueden modificarse por hidrogenación, interesterificación y mezclas o combinaciones de estas técnicas. El fraccionamiento se ha aplicado a muchos sistemas complejos. Los ejemplos que figuran a continuación fueron seleccionados por el avance que representaron en el campo de las grasas y aceites y por su relación con el estudio realizado por nosotros.

Se han desarrollado técnicas de fraccionamiento de aceites vegetales, animales y de pescado, y en particular de aceite de palma en presencia de mezclas binarias de solventes que se basan en las diferencias de solubilidad de la fracción estearina y oleína las cuales se separan por centrifugación (Ong, 1983). Amer

(1985) ha estudiado el fraccionamiento de mantecas fabricadas en invierno y en verano. Básicamente el proceso consiste en un enfriamiento lento y controlado y una pequeña estabilización a la temperatura de fraccionamiento con posterior separación de los cristales de la fase líquida por filtración al vacío. Las fracciones fueron caracterizadas por sus ácidos grasos, triglicéridos y procesos de fusión y cristalización. Los resultados obtenidos mostraron que las fracciones sólidas revelaban en sus termogramas la presencia de un contenido importante de líquidos y que existían pequeñas diferencias entre las composiciones químicas de las fracciones entre sí. Arul y colaboradores (1988) fraccionaron grasa anhidra de leche por destilación molecular obteniendo dos fracciones líquidas, una semisólida y una sólida a temperatura ambiente. Las fracciones fueron caracterizadas con perfiles de fusión, índice de grasa sólida y composición en ácidos grasos y triglicéridos. Encontraron que la temperatura del pico que representa la fusión se incrementaba progresivamente desde 8,8°C a 38,7°C de las fracciones líquidas a las sólidas. El contenido de grasa sólida resultó de 27,5% a 20°C en la fracción sólida mientras que en la leche inicial fue de 15,4%. Los triglicéridos de cadena corta (C₂₄- C₃₄) se concentraron en las fracciones líquidas, los de cadena intermedia (C₃₆- C₄₀) en la fracción semisólida y los de cadena larga (C₄₂- C₅₄) en la fracción sólida. Los ácidos grasos de cadena corta (C₄- C₈) gradualmente decrecen de líquido a sólido. También se han realizado experiencias con aceite de frito comercial (Sebedio y col., 1986). En este caso se emplearon dos métodos de fraccionamiento: el método estandarizado DGF-IUPAC-AOAC y empleando cartuchos rellenos. Se deseaba encontrar un método más

rápido y económico que el método IUPAC para evaluar el deterioro de los aceites comerciales al ser usados para freír. Los resultados obtenidos con cartuchos rellenos (sep-pak) y por los métodos estandarizados fueron similares demostrando que estos últimos podrían ser reemplazados por el primero. A efectos de obtener ácido γ linolénico (cis 6,9,12-octadecatrienoico) a partir de aceite de grosellas se han ensayado diferentes posibilidades (Traitter y col., 1988). El fraccionamiento con úrea en metanol dió buenos resultados para separar α y γ linolénico pero el ácido estearidónico no pudo ser separado con esta técnica. Mediante HPLC semi-industrial preparativa se obtuvieron fracciones de ácido linolénico de 95% de pureza. En el caso de aceite de palma se ensayaron distintos métodos de fraccionamiento: rápido sin solvente, lento sin solvente y mediante el empleo de detergentes. Las tres formas de procesamiento permiten obtener productos de diferente calidad, empleados con diferentes fines y con diferentes costos operativos (Deffense, 1985). Dimick y Manning (1987) estudiaron el fraccionamiento de manteca de cacao por cristalización en condiciones estáticas a distintas temperaturas: 26,0; 28,0; 30,0; 32,0 y 33,0°C. Encontraron que para cada temperatura los cristales formados diferían en su composición en triglicéridos. Por ejemplo los cristales formados a 26,0°C tienen un incremento significativo en SOS y disminución significativa en POP comparado con la manteca original. El porcentaje de SOS se incrementa de 26,0°C a 32,0°C.

De todo lo expuesto surge que el fraccionamiento sin solvente presenta ventajas respecto de otros métodos de fraccionamiento. Es el más barato, fácil de llevar a cabo pero desgraciadamente el menos selectivo y limitado a ciertos productos simples como el

aceite de palma, grasa de vaca y ciertos aceites hidrogenados. La retención de la fase líquida en la fase sólida después de la filtración es siempre superior a la de otros métodos de fraccionamiento (Hinnekens, 1976). Existen dos clases de equipos comúnmente empleados para este tipo de fraccionamiento: los que se emplean en procesos discontinuos como por ejemplo un sistema de cubas con doble pared o con serpentines, o una cuba de cristalización clásica con bomba de agitación y los utilizados en la cristalización en continuo entre los que se encuentran los cristalizadores cilíndricos horizontales. El sistema que consiste en una cuba de cristalización clásica agitada por una bomba tiene el inconveniente de que la circulación de cristales que se provoca con la bomba frecuentemente conduce a una mala filtración. En el caso de los cristalizadores cilíndricos horizontales, los factores más importantes a tener en consideración son la agitación y la relación superficie volumen de enfriamiento. La cristalización de las materias grasas exige tiempos de residencia suficientemente largos y una débil agitación. El inconveniente mayor en estos sistemas es la cristalización en las paredes. El rascado de los cristales provoca una turbulencia de los mismos que hace difícil el filtrado.

La programación de temperaturas utilizada en el fraccionamiento de una grasa depende del tipo de materia prima y del sistema de programación de temperatura. Hay diferentes métodos empleados para regular el enfriamiento: en el caso de fraccionamiento con un sistema "tirtiaux" la programación de temperatura se logra con una diferencia constante entre la solución a cristalizar y el líquido de enfriamiento. Otro sistema consiste en emplear una

programación de temperatura lineal hasta el momento de la nucleación. El crecimiento de los cristales es provocado por un enfriamiento lento hasta el fin de la primera cristalización (Jaroslov, 1971).

En el caso de fraccionamiento sin solventes se obtiene siempre una mezcla de formas cristalinas.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es estudiar el fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado por cristalización. Así mismo se desea determinar las relaciones existentes entre las características de cristalización de cada fracción y su composición química y establecer su posible aplicación a nivel industrial.

Materiales
y
Métodos

1. MUESTRA EMPLEADA

La experiencia de fraccionamiento se efectuó por duplicado. En ambos casos la muestra utilizada fue provista por Molinos Río de La Plata S.A.. La misma estaba compuesta por aceite de girasol hidrogenado llamado girasol 35°C utilizado para la preparación de la fase grasa de margarinas comerciales. En la primer experiencia se cargaron al tanque del equipo fraccionador 50 Kg de aceite hidrogenado de índice de iodo 65 y punto de goteo 35,5°C y en la segunda experiencia 27 Kg de aceite hidrogenado de índice de iodo 68 y punto de goteo 35,4°C.

2. FRACCIONAMIENTO

2.1 Equipo empleado

El equipo utilizado se construyó en nuestro laboratorio. Sirvió de inspiración para el mismo una prensa diseñada por Haighton que fue empleada por Van der Hoek (1969) para estudiar la estabilidad estructural de margarina. El esquema del equipo se muestra en la Figura 1. La bomba succiona el fluido del tanque y este pasa luego por un filtro MP 40-1 con malla de acero inoxidable. El fluido penetra a la carcasa del filtro, atraviesa el malla donde quedan retenidos los sólidos y regresa al tanque por un caño conectado al interior del filtro. Los líquidos son así devueltos al tanque. El aceite hidrogenado de girasol que se frac-

cionó circuló durante doce horas en un circuito cerrado a cada una de las temperaturas de fraccionamiento. Para mantener la temperatura constante se utilizó un criostato en el cual se hallaba contenido el tanque; en su tapa se colocó una resistencia (2 KW) y un termómetro de contacto (Frovi FW-21) conectados a un controlador de temperatura (CIDCA Modelo BC 07). Como líquido refrigerante se empleó agua enfriada por un serpentín por el que circulaba freón. La temperatura del agua se mantuvo a 2°C es decir 10°C por debajo de la última temperatura a la que se fraccionó el aceite hidrogenado. El controlador encendía y apagaba la resistencia según la temperatura subiera o bajara con una sensibilidad de medio grado centígrado. La agitación obtenida dada por la potencia de la bomba y los agitadores hizo que los equilibrios establecidos entre sólidos y líquidos fueran dinámicos.

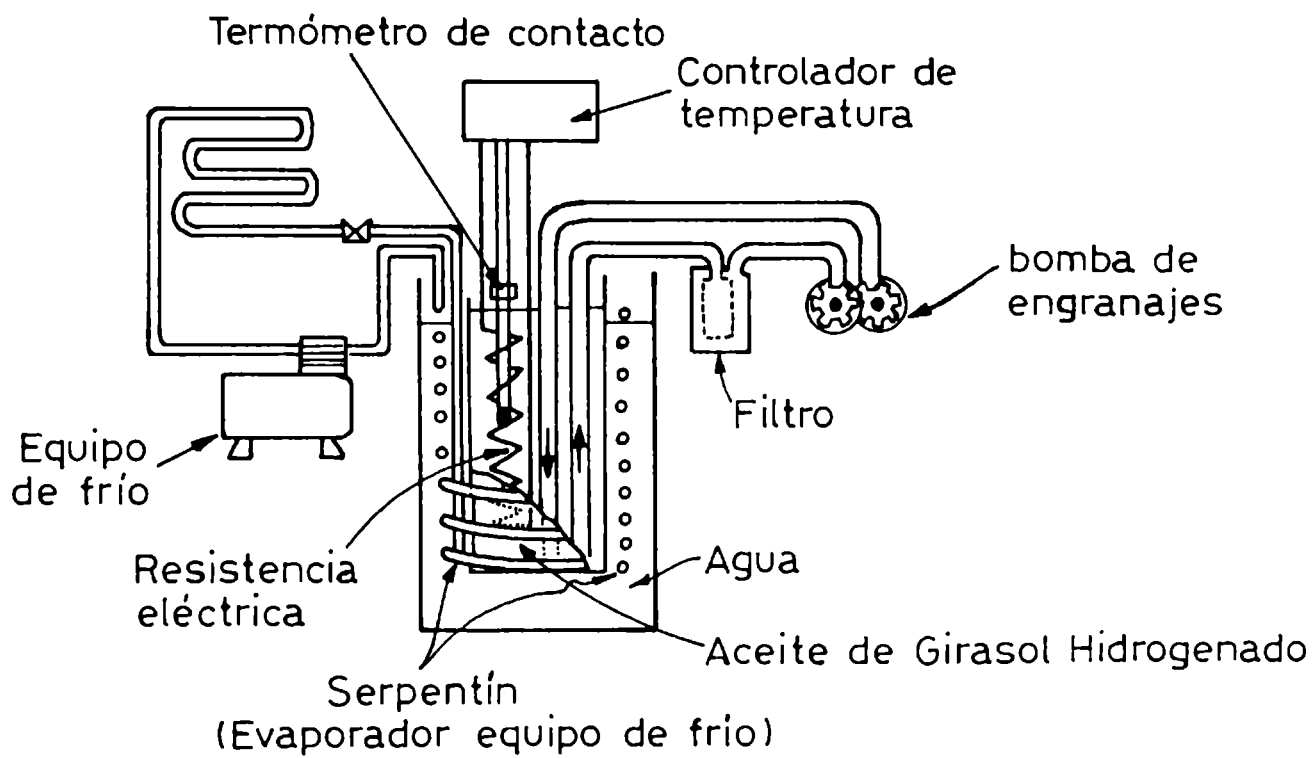


Figura 1. Equipo empleado en el fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado

2.2 Método utilizado

El fraccionamiento se comenzó en la primer experiencia a 41°C y en la segunda a 38°C. El aceite hidrogenado se fundió en el tanque a 45°C en forma controlada para evitar en lo posible su oxidación. Luego se hizo circular durante media hora y se descendió la temperatura hasta alcanzar la temperatura de inicio de la experiencia, se dejó cristalizar y se extrajo la totalidad del sólido acumulado en el filtro y una porción representativa del líquido del tanque. Después se bajó la temperatura en 2°C en ambos casos y se procedió de igual manera siguiendo escalones de 2°C hasta llegar a una temperatura de 19°C en la primer experiencia y 12°C en la segunda. Las muestras fraccionadas a 3°C y 7°C correspondientes a la primer experiencia se obtuvieron en forma estática en un baño Haake F3 colocando el remanente del tanque en un cilindro cribado que permitía escurrir el líquido. Primero se obtuvo la fracción de 7°C y el líquido se volvió a fraccionar a 3°C. Estas fracciones se estudiaron en cuanto a composición química (HPLC, GLC, RMN y IR) y estructura cristalina (DSC y Rayos X).

2.3 Prueba piloto

El equipo luego de haber sido construido fue probado con aceite de girasol hidrogenado. A lo largo de las pruebas el diseño debió ser optimizado con el objeto de conseguir un mejor fraccionamiento. El equipo original constaba de una bomba centrífuga. En este tipo de bomba el aceite cristalizaba en su interior interrumpiendo el flujo.

piendo el proceso. Debía desarmarse para limpiar y de esa manera la cristalización no correspondía al fin buscado, es decir que fuera muy gradual y que cada fracción tuviera una historia térmica similar a la anterior. Además presentaba el problema de tener que fundir cada vez al comenzar toda la masa del aceite hidrogenado con el consiguiente deterioro de la muestra. Esta bomba fue cambiada por una bomba de engranajes de 1HP y 1" de salida y entrada. La potencia de esta bomba obligó a cambiar los caños por otros de diámetro superior (3/4") que permitieron un mayor flujo. La posición del filtro en el circuito debió ser modificada. En un principio estaba colocado después de la bomba. En esta posición la temperatura en el filtro era superior a la del tanque. El filtro fue colocado antes de la bomba e inmediatamente a la salida del tanque. Al no pasar el fluido por la bomba antes de ser filtrado, la temperatura pudo ser controlada en los valores deseados.

Se había pensado que el equipo funcionara dentro de una cámara a 0°C. El sensor de temperatura daría la orden a la resistencia de calentar y el calentamiento se detendría al alcanzar la temperatura deseada. Como el aire es mal conductor, si bien la temperatura exterior era de 0°C, la temperatura del fluido no descendía de 30°C. Para subsanar esta dificultad el tanque fue colocado en un criostato y a continuación el filtro. El equipo así rediseñado fue probado con buenos resultados (Figura 1).

3. DETERMINACION CUANTITATIVA DE ACIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFIA GASEOSA (GLC)

3.1 Preparación de la muestra

Se colocaron 10 gotas de extracto graso con 40 ml de una mezcla de metanol: benceno y SO_4H_2 concentrado 3% P/V y se mantuvo a reflujo 30 min. Seguidamente se dejó enfriar y luego se extrajo con 50 ml de hexano, agitando 1 min. Se lavó hasta neutralidad con ClNa al 10% y naranja de metilo como indicador. Se secó con SO_4Na_2 anhidro. Se evaporó el hexano a baja presión, se hizo una dilución 1:10 en hexano y se inyectó 1 μl de la muestra en el cromatógrafo gaseoso.

3.2 Equipo utilizado

Las corridas cromatográficas se llevaron a cabo en un equipo Hewlett Packard modelo 5890 A. Las áreas correspondientes a cada pico se determinaron en forma relativa con un integrador Hewlett Packard 3392.

3.3 Condiciones de corrida

Las condiciones de corrida en las que se encontró mejor resolución para una mezcla de cantidades equimoleculares de los éste-

res metílicos de los ácidos linoleico, linolénico, oleico, palmítico y esteárico (patrones marca Sigma de 99,99 % de pureza) fueron un caudal de N₂ de 20 ml/min, una temperatura del inyector de 250°C y una temperatura de columna 188°C. La columna usada fue 10% SP 2330 en 100/120 Chromosorb WAW de 1,70 m de largo y 0,3 cm de diámetro interno.

Los tiempos de retención de los componentes de la muestra original y de las fracciones sólidas y líquidas fueron coincidentes con los de los patrones utilizados en idénticas condiciones. Los cromatogramas se efectuaron por triplicado encontrando una alta reproducibilidad entre las repeticiones. El error en las áreas en todas las determinaciones resultó menor que 0,5%.

Los ácidos grasos identificados fueron: 12:0 (laúrico), 14:0 (mirístico), 16:0 (palmítico), 18:0 (esteárico), 18:1 (oleico) y 18:2 (linoleico).

4. DETERMINACION CUANTITATIVA DE TRIGLICERIDOS POR CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION (HPLC)

4.1 Preparacion de la muestra

40 µg de triglicéridos se disolvieron en 2 µl de cloroformo. La disolución resultante se filtró con jeringa Luer Lock y filtros HF para solventes orgánicos. Luego se desgasificó en un sonicador durante 3 min. La muestra así tratada estuvo en condiciones de ser inyectada. Los solventes constituyentes de la fase móvil recibieron el mismo tratamiento que las muestras, siendo filtrados a través de un filtro Millipore adosado a una bomba de vacío.

4.2 Equipo utilizado

Los experimentos fueron realizados con un cromatógrafo líquido Waters modelo 6000 A con sistema de mezclado de solventes; inyector universal de cromatografía líquida modelo U6K; detector UV-visible 450 Waters con longitud de onda variable. Los cromatogramas fueron impresos e integrados con un equipo Waters Data Module M 730.

4.3 Condiciones de corrida

La columna utilizada fue una microBondapak C18 Waters de 30cm de longitud y 4 mm de diámetro interno. La corrida se llevó a cabo a temperatura ambiente. El sistema de solventes utilizado consistió en una mezcla binaria de acetona, acetonitrilo (1:2 V/V), caudal 1,1 ml/min. Todos los solventes eran de grado espectroscópico de la firma Carlo Erba.

El solvente usado para solubilizar triglicéridos determina la extensión con que las moléculas del soluto interactúan con la fase móvil y ligandos hidrocarbonados (Singleton and Pattee, 1984). Las pruebas con los solventes habituales para lípidos tales como cloroformo, acetona, acetonitrilo-metanol (50/50), acetonitrilo-etanol (80/20), hexano, etc, arrojaron como resultado que de todos estos solventes el que mantenía una relación lineal entre cantidad de muestra inyectada y respuesta (absorción de luz ultravioleta a 210 nm) era el cloroformo.

La elección de la fase móvil se realizó corriendo en idéntico

ticas condiciones 2 μ l de muestra en la concentración ya especificada con los distintos sistemas de solventes empleados en la bibliografía para separar triglicéridos. Los resultados encontrados son coincidentes con los de Kimmey y Perkins (1984).

La detección fue realizada utilizando una longitud de onda de 210 nm. Cada cromatograma fue repetido tres veces y las diferencias entre las áreas de los picos medidas por el integrador no fueron superiores al 1%. Los valores que se informan son los promedios de estas medidas.

4.4 Cuantificación de las áreas e identificación de componentes

Para cuantificar las áreas se conocen cuatro métodos: normalización de área (que supone que todos los componentes que eluyen en la muestra han sido detectados y con igual respuesta), standard interno, standard externo y una combinación de ambos llamado adición de standard (un constituyente de la muestra pero agregado en cantidades conocidas) (Johnson and Stevenson, 1978). El integrador Waters Data Module M 730 utiliza el primer método.

Los tiempos de retención fueron calculados restándole al tiempo total que marcaba el integrador el tiempo que tarda en salir el volumen muerto (Done y col., 1974).

Para identificar los picos del cromatograma se usaron patrones de triglicéridos saturados marca Sigma y los métodos propuestos por Nawar (1985) y Takahashi y col. (1984,1985,1986). A cada pico constituyente de un cromatograma se le asigna un número equivalente de carbono ECN el que se calculó de la siguiente manera:

$$ECN = Cn - 2N \quad (7)$$

donde N es el número de insaturaciones y Cn la longitud de cadena (Johnson y Stevenson, 1978).

Los ácidos grasos insaturados (oleico y linoleico) constituyentes de los triglicéridos eluyen a tiempos menores que los que corresponden a la longitud de sus cadenas; así el triglicérido tripalmitina tiene un tiempo de retención mayor en el mismo sistema que el correspondiente a trioleína.

En la práctica se ha visto que el ácido oleico se comporta como si su longitud de cadena fuera 15,5 (Frede y Thiele, 1988).

5. CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

5.1 Equipo utilizado

El equipo de análisis calorimétrico usado fue un calorímetro diferencial programado Du Pont 910 acoplado a un accesorio mecánico de enfriamiento y un analizador térmico modelo 99. Los diagramas calorimétricos fueron impresos en un registrador Hewlett Packard 7046 B.

5.2 Calibración del equipo

El equipo fue calibrado usando indio como patrón. 15 mg de

indio se calentaron de 45°C a 170°C a la misma velocidad con que se realizaron las corridas calorimétricas de las fracciones obtenidas (10°C/min).

La celda del calorímetro se alineó electrónicamente mediante el coeficiente de calibración E. Este coeficiente es nominalmente 200 $\mu\text{W}/\text{mV}$ (o adimensionalmente 1,0). El valor de E debe ser determinado para cada celda en particular. La fórmula que permite calcularlo es la siguiente:

$$E = \frac{\Delta H m}{60 A B \Delta q_s} \quad (8)$$

donde:

ΔH es el calor de fusión en joule/g (mcal/mg)

m es la masa de muestra en mg

A el área del pico en cm^2

B el tiempo base en cm/min

Δq_s es la sensibilidad en ordenadas en mV/cm

E es el coeficiente de calibración de la celda

El patrón de indio tiene un valor de $\Delta H = 28,4$ Joule/g, una temperatura de fusión de 156,8°C y la masa pesada fue 15,0 mg. Midiendo el área bajo la curva de fusión de indio y con los valores de B y Δq_s se determinó antes de cada experiencia el valor de E.

5.3 Condiciones de corrida

Muestras de 15-20 mg fueron colocadas en cápsulas de aluminio herméticamente selladas y fueron sometidas a un programa de temperatura que comprendía una isoterma a -40°C de 5 min, un calentamiento de -40°C a 80°C a una velocidad de 10°C/min y una isoterma final a 80°C de 2 min. En los diagramas se representa dQ/dt en ordenadas versus tiempo en minutos. La sensibilidad usada en ordenadas varió entre 0,414 mJoule/seg y 1,038 mJoule/seg según la cantidad y calidad de la muestra. Cada muestra se corrió por lo menos por triplicado.

5.4 Interpretación de los termogramas

La interpretación de los termogramas fue hecha con un modelo matemático desarrollado por Donovan (1975) para estudiar el comportamiento térmico de conalbumina. Segura y colaboradores (1990) en nuestro laboratorio lo aplicaron por primera vez a lípidos. El modelo supone que las mezclas complejas se pueden interpretar según sus componentes principales. Cada uno de estos componentes presentaría una distribución gaussiana. Todos los componentes sumados deben coincidir con la curva experimental. La expresión matemática propuesta que interpretó la curva experimental fue la siguiente:

$$H = a \cdot \exp(-(t-b)^2/\sigma) + c \cdot \exp(-(t-d)^2/\sigma) + \dots \quad (9)$$

la misma posee tantos términos como componentes se rebelen en el análisis ya se trate de un pico perfectamente individualizado o un hombro. H es la suma de las áreas de cada componente y coincide con la curva experimental. $a, c, e,$ etc son las alturas de las curvas en la temperatura de pico; $b, d, f,$ etc son las temperaturas de pico y σ es el desvío standard.

Una vez obtenido el termograma se realizó la corrección por temperatura y se midieron las alturas de cada transición endotérmica cada 1°C . Se construyó una tabla temperatura (T) altura (h). Como el número de parámetros a iterar en la función H era muy grande ($a, c, e,$ etc y $b, d, f,$ etc) se realizó primero un ajuste con un programa gráfico en Basic y luego a partir de esos parámetros la computadora encontró los valores que ajustaban mejor. El desvío standard en las temperaturas máximas resultó en todos los casos entre $0,1^{\circ}\text{C}$ y $0,5^{\circ}\text{C}$ mientras que en las alturas el valor era del orden del 2%.

Cada término de la expresión era el área de un componente, entendiéndose por tal una solución sólida, eutéctico o pseudocompuesto. Con las temperaturas de pico (T_p) y las alturas calculadas, utilizando un programa estadístico (SYSTAT, módulo 3) se hallaron las áreas bajo las curvas de cada componente y el área total.

5.5 Cálculo del calor de transición

Los valores determinados de las áreas fueron empleados para obtener el ΔH de cada componente según la fórmula:

$$\Delta H = \frac{A \text{ (cm}^2\text{)} E \text{ (mW/mV)} B \text{ (min/cm)} S_y \text{ (mV/cm)} 60 \text{ (seg/min)}}{m \text{ (mg)}} \quad (10)$$

donde S_y es la sensibilidad en mV/cm en ordenadas, E es la constante de la celda de DSC que resultó ser igual a 0,20089 en la primer experiencia y 0,20800 en la segunda, B es la base tiempo (en absisas), A es el área en cm^2 y m la masa de la muestra en miligramos.

6. DIFRACTOMETRIA DE RAYOS X

6.1 Equipo empleado

Para el estudio del polimorfismo de aceite de girasol hidrogenado y de las fracciones obtenidas por cristalización se utilizó un equipo Phillips 1730 adosado a un sistema de control de temperatura. Las muestras fueron colocadas en una cámara de refracción fabricada en nuestro laboratorio que permitía mantener constante la temperatura con una solución de etilenglicol 3:1 proveniente de un criostato Lauda UK 30.

6.2 Condiciones de corrida

Se empleó radiación de cobre $K\alpha_2$ con 40 Kv, 20 mA y una

velocidad de corrida de 1°/min barriendo ángulos de 5° a 25°.

Se realizaron diagramas de rayos X de las muestras originales, de las fracciones así como fueron obtenidas y de las fracciones fundidas y cristalizadas a diferentes velocidades. En todas las oportunidades el equipo fue calibrado con un patrón de silicio puro. Las muestras se corrieron por duplicado encontrándose repetitividad.

6.3 Interpretación de los diagramas

Los diagramas impresos en el registrador del equipo fueron interpretados mediante la ecuación de Bragg:

$$n\lambda = 2d\text{sen}\theta \quad (11)$$

donde $n\lambda$ es el camino que recorre el haz de luz incidente; λ la longitud de onda; d la distancia interplanar y θ el ángulo de incidencia.

En los espectros se ha registrado intensidad en ordenadas y ángulos de 2θ en abscisas. Para obtener el valor de θ se midieron los grados recorridos a partir de 5° y se dividieron por dos. Para este sistema $n\lambda/2$ resultó ser 1,54 Å. A partir de este valor y conociendo el ángulo θ se calcularon las distancias d que definen las diferentes formas cristalinas.

7. ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

7.1 Preparación de la muestra

Las muestras fueron preparadas en films puros entre dos ventanas de K Br.

7.2 Equipo utilizado

El espectrofotómetro empleado fue un Beckman IR 10 de doble haz.

7.3 Condiciones de corrida

Los espectros se obtuvieron barriendo longitudes de onda entre 600 y 4000 cm^{-1} . Como patrón para la calibración del equipo fue empleada Trioleína de 99,95% de pureza (Sigma).

7.4 Interpretación de los diagramas

Las áreas fueron calculadas en forma relativa tomando como total la suma de las áreas de los picos correspondientes a los dos isómeros.

8. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR (RMN)

8.1 Preparación de la muestra

20 mg de cada muestra fueron disueltos en Cl_4C .

8.2 Equipo empleado

El equipo utilizado fue un espectrómetro de resonancia magnética nuclear de H_1 marca Varian EM-360 A.

8.3 Condiciones de corrida

Tetrametilsilano al 3% fue usado como referencia interna. Se empleó un filtro 0,05 seg; poder de radiofrecuencia 0,06 mGauss; tiempo de barrido 2 min; amplitud 100×6 ; ancho de barrido 10 Hz; final de barrido 0 Hz.

Resultados
y
Discusión

1. EXPERIENCIAS PREVIAS AL FRACCIONAMIENTO

A efectos de determinar las condiciones que se deberían emplear en el fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado se llevó a cabo una experiencia de cristalización estanca. Para ello se fundió fase grasa a 80°C en ocho recipientes pequeños. Los mismos se colocaron en un criostato regulado a -30°C. En todos los casos se registró la historia térmica de la muestra; al alcanzarse 20°C, 15°C y 5°C se extrajeron dos recipientes por vez. Uno de ellos se transfirió a un baño termostático cuya temperatura era próxima a la temperatura de extracción de la muestra (22°C, 17°C y 7°C) y el otro se mantuvo a 5°C durante el término de 24 hs. En todos los casos las muestras se analizaron mediante calorimetría diferencial de barrido. Las condiciones empleadas fueron las siguientes:

Muestra	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Velocidad de calentamiento (°C/min)
1	20	80	10
2	19	80	10
3	9	80	10
1, 2 y 3	5	80	10

Dado que las muestras fueron enfriadas en forma exponencial

se calculó en cada caso la velocidad de enfriamiento empleando la expresión:

$$\ln \frac{T_A - T_F}{T_i - T_F} = -K t_A \quad (12)$$

donde:

T_F es la temperatura del fluido refrigerante

T_A y t_A la temperatura y el tiempo en un punto cualquiera de la curva

T_i la temperatura inicial

Se escogió como temperatura inicial 80°C , temperatura a la cual toda la muestra ha fundido. En todos los casos se alcanzó una velocidad de enfriamiento del orden de 10^{-2} seg^{-1} . Los resultados obtenidos en el primero y segundo día se resumen en las Tablas 1 y 2. El análisis de las mismas señala que en todos los casos las muestras presentaron un pico y un hombro bien diferenciado. Las temperaturas de inicio del hombro disminuyeron al disminuir la temperatura a la que las muestras fueron retiradas del criostato. Considerando los valores absolutos de las áreas es notorio que al disminuir la temperatura de extracción el área del hombro aumenta así como el área total, lo que indicaría una mayor cantidad de sólidos a menor temperatura. Durante el almacenamiento a 5°C cristalizaron triglicéridos con puntos de fusión comprendidos entre 20°C y 5°C . Se observa además que los triglicéridos tienden a buscar las formas cristalinas más estables hecho que se verifica

con las modificaciones de las áreas relativas correspondientes a pico y hombro.

Tabla 1

Análisis calorimétrico realizado el primer día

Muestra retirada a:	Temperatura inicial Hombro (°C)	Temperatura Pico (°C)	Areas Hombro Pico (mm ²)		Areas Hombro Pico (%)	
	20°C	20-22	29	74,0	184,0	27,6
15°C	19-23	31	73,2	178,9	29,0	71,0
5°C	9-23	29	284,2	155,8	64,6	35,4

Tabla 2

Análisis calorimétrico realizado el segundo día

Muestra retirada a:	Temperatura inicial Hombro (°C)	Temperatura Pico (°C)	Areas Hombro Pico (mm ²)		Areas Hombro Pico (%)	
	20°C	5-13	28	36,2	288,2	11,2
15°C	5-15	26	55,3	301,2	15,5	84,5
5°C	5-15	27	47,5	355,7	13,3	86,7

Los resultados de esta experiencia sirvieron para diseñar la experiencia de fraccionamiento por temperatura.

2. FRACCIONAMIENTO DE ACEITE DE GIRASOL HIDROGENADO EN AUSENCIA DE SOLVENTES

En la primer experiencia de fraccionamiento realizada se cristalizaron 50 Kg de aceite hidrogenado de girasol (muestra 1) retirándose la totalidad del sólido acumulado en el filtro del equipo empleado a cada intervalo de temperaturas seleccionado (Materiales y Métodos punto 2.1). La experiencia se comenzó a 41°C y se finalizó a 19°C siguiendo escalones de 2°C. A cada temperatura se extrajo además una porción del líquido presente en el tanque.

Una porción representativa del remanente del tanque se fraccionó en forma estática en un cristalizador sumergido en un baño a temperatura constante a 7°C y 3°C.

La Figura 2 muestra el contenido de sólidos y líquidos para cada intervalo de temperaturas seleccionado. En todos los casos se consideraron los sólidos acumulados desde la temperatura de fusión hasta la temperatura de cristalización elegida.

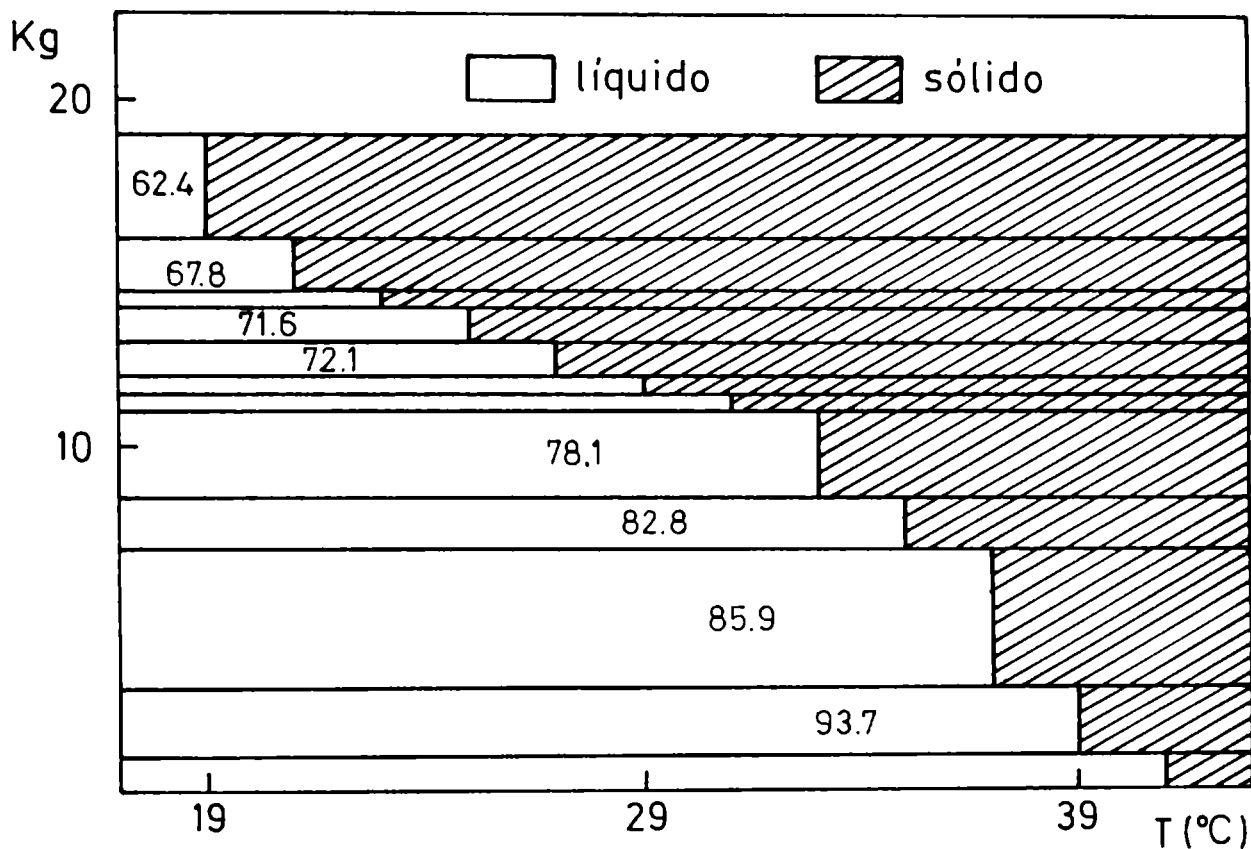


Figura 2. Sólidos y líquidos totales correspondientes a cada intervalo de temperaturas de cristalización seleccionado (Primera experiencia)

En la segunda experiencia de fraccionamiento se cristalizaron 27 Kg de aceite hidrogenado de girasol (muestra 2) y se recogieron los sólidos cristalizados entre 38°C y 12°C a intervalos de 2°C y una porción representativa del líquido presente en el tanque a las mismas temperaturas. Los resultados obtenidos se presentan en la **Figura 3**. Al igual que en el caso anterior se consideraron los sólidos acumulados desde la temperatura de fusión hasta la temperatura de cristalización elegida.

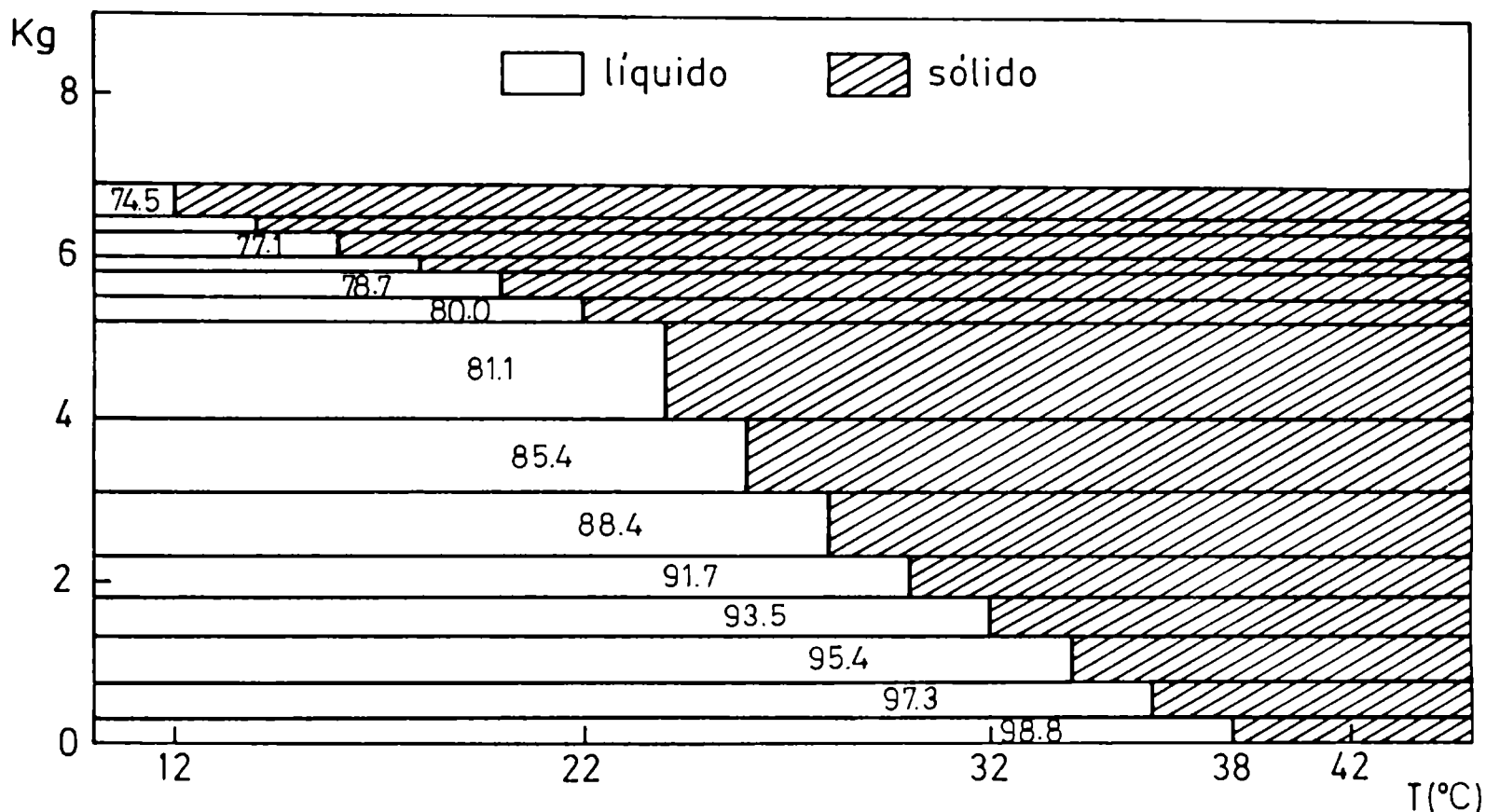


Figura 3. Sólidos y líquidos totales correspondientes a cada intervalo de temperaturas de cristalización seleccionado (Segunda experiencia)

El análisis de dichos resultados arroja como conclusión que el contenido de sólidos totales se incrementa al descender la temperatura de cristalización, hecho que ya había sido observado en las experiencias preliminares. Por otra parte se encuentra que el contenido de sólidos totales es superior en la muestra 1 que en la muestra 2. Esto haría suponer que la hidrogenación procedió en mayor extensión en el primer caso.

Si analizamos la cantidad de sólidos que cristaliza en cada

intervalo de temperatura empleado (Figura 4) observamos que en ambas experiencias se puede dividir el perfil de la figura en tres zonas.

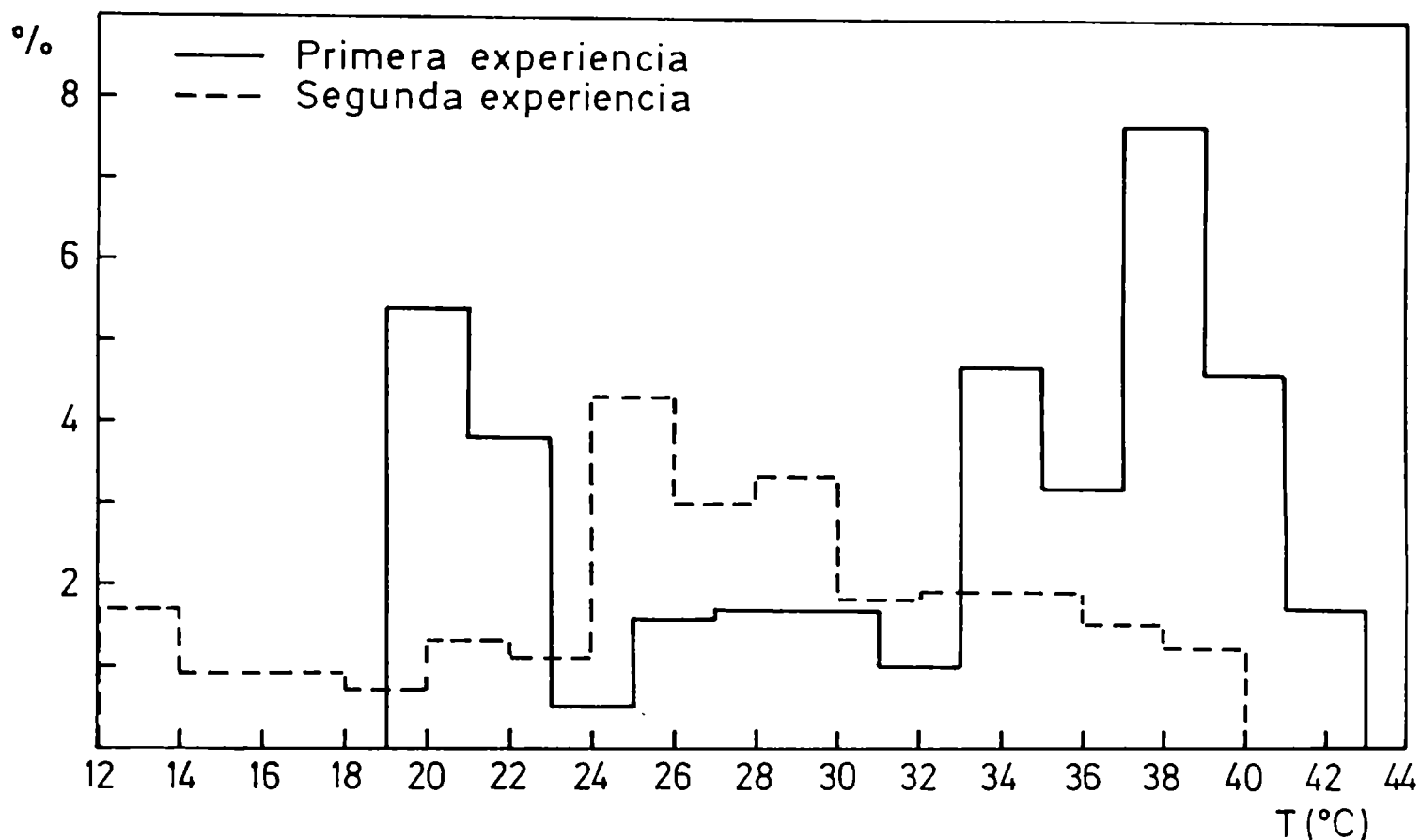


Figura 4. Sólidos cristalizados en cada intervalo de temperatura

En la primera zona (por encima de 31°C) en la muestra 1 se produce un aumento importante del contenido de sólidos de fracción en fracción mientras que en la muestra 2 este incremento es pequeño. La segunda zona (de 31°C a 23°C) presenta un comportamiento inverso a la anterior. La muestra 2 aumenta en el contenido de sólidos en mucho mayor grado que la muestra 1. La tercer zona comprende las temperaturas por debajo de 23°C y en ella se verifi-

ca para ambas muestras el mismo comportamiento correspondiente a la primera zona. De acuerdo a estas figuras se puede esperar que la muestra 1 contenga mayores porcentajes de triglicéridos saturados.

2.1 Caracterización de las muestras originales

Para poder evaluar los cambios en la composición química y en el comportamiento térmico de las diferentes fracciones obtenidas en estas experiencias es necesario conocer las características de las muestras originales. A continuación se resumen los resultados hallados al analizar los aceites hidrogenados de girasol que se emplearon.

2.1.1 Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa

El análisis de la muestra 1 arrojó la siguiente composición en ácidos grasos: palmítico 8,3%, esteárico 11,5%, oleico 76,4% y linoleico 3,7% y 0,1% de otros ácidos grasos tales como mirístico y laúrico. Para la muestra 2 los resultados hallados fueron los siguientes: ácido palmítico 6,7%, ácido esteárico 11,0%, ácido oleico 69,8% y ácido linoleico 12,2% y un 0,2% de ácido mirístico y laúrico. El aceite de girasol puro presentó un 6,7% de ácido palmítico, 3,8% de ácido esteárico, 30,5% de ácido oleico, 57,8% de ácido linoleico, y 1,2% de otros ácidos grasos. La comparación de ambas muestras originales permite ver que en la muestra 1 el á-

cido palmítico se encuentra en mayor porcentaje que en la muestra 2 así también como el ácido oleico, mientras que el ácido linoleico se halla en menor porcentaje. De acuerdo a estos resultados se esperaría que el punto de fusión de la muestra 1 fuera superior al de la muestra 2 lo que es concordante con el contenido de sólidos.

Ambos hidrogenados son más ricos en ácidos esteárico y oleico que el aceite sin hidrogenar y poseen mucho menor cantidad de ácido linoleico lo cual es esperable ya que en el proceso de hidrogenación el ácido linoleico reacciona con el hidrógeno para dar lugar a ácido oleico o esteárico. El contenido de ácido palmítico en cambio se mantuvo en el mismo orden.

2.1.2 Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión

Uno de los objetivos planteados es la identificación tentativa de los triglicéridos presentes en cada fracción obtenida, para ello empleamos cromatografía líquida de alta presión. A efectos de poder asignar un determinado triglicérido o mezcla de triglicéridos a cada pico obtenido en un cromatograma es necesario contar con patrones de triglicéridos que tengan probabilidad de hallarse presentes en la mezcla. Por esta razón realizamos corridas cromatográficas con patrones de triglicéridos saturados (SSS y PPP) y analizamos los resultados por el método matricial de Takahashi y colaboradores (1984, 1985, 1986). Ante la imposibilidad de contar con todos los patrones de triglicéridos necesarios se buscó una solución alternativa para ello. Analizamos aceites cuya

composición en ácidos grasos y triglicéridos ya ha sido determinada y se compararon los resultados obtenidos con los existentes en bibliografía. De acuerdo a los resultados obtenidos por Dong y Di Cesare (1983), quienes emplearon una columna C18, fase móvil acetona: acetonitrilo 7:3 con un caudal de 2,0 ml/min, los aceites de algodón, girasol, maíz y oliva poseen la composición en triglicéridos que figura a continuación:

Aceite	Tiempos de retención														
	(min)														
	2,8	3,1	3,5	4,0	4,6	4,9	5,4	5,5	5,6	5,8	6,5	7,7	8,3	9,8	
oliva	---	LLO	LLP	LOO	PLO	PPL	OOO	---	---	POO	PPO	SOO	SOP	SOS	
maíz	LLL	LLO	LLP	LOO	PLO	---	---	SOL	SPL	---	---	---	---	---	
palma	---	---	---	LOO	PLO	PPL	OOO	---	---	POO	PPO	SOO	SOP	SOS	
girasol	LLL	LLO	LLP	LOO	---	---	OOO	---	---	POO	---	---	---	---	

Los resultados del análisis del aceite de oliva mencionados se obtuvieron mediante una corrida cromatográfica de alta resolución colocando tres columnas en serie; por esta razón se detectaron al final del cromatograma cuatro triglicéridos de tiempos de retención largos.

Abu-Hadeed y Kaotb (1988), Takano y Kondoh (1988), Takahashi y colaboradores (1984), Kimney y Perkins (1983) entre otros han analizado diversos aceites vegetales con resultados coincidentes.

Estos aceites se analizaron en nuestro laboratorio encontrándose los resultados que se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3

Composición en triglicéridos de algunos aceites vegetales

Aceite	Tiempo de retención (min)											
	2,8	3,6	4,6	5,9	6,3	6,8	7,4	7,7	8,1	8,9	10,9	11,7
oliva	---	LLO	LLP	LOO	PLO	PPL	000	---	---	P00	S00	SS0
girasol	LLL	LLO	LLP	LOO	---	---	000	---	---	P00	---	---
gir. hid.	LLL	LLO	LLP	LOO	---	---	000	---	---	P00	S00	---
algodón	LLL	LLO	LLP	LOO	---	---	000	---	---	P00	---	---
alg. hid.	LLL	LLO	LLP	LOO	---	---	000	---	---	P00	S00	---
maíz	LLL	LLO	LLP	LOO	PLO	---	---	SOL	SPL	---	---	---

Los cromatogramas se realizaron con una sólo columna por esa razón no se detectaron los triglicéridos PPO y SOP que informaron Dong y Di Cesare en el aceite de oliva. Las diferencias en los tiempos de retención que se observan entre los valores que se presentan en la **Tabla 3** y los hallados en bibliografía se deben a diferencias en el flujo de los solventes empleados. El flujo utilizado en las corridas cromatográficas efectuadas en nuestro laboratorio fue 1,3 ml/min. Un flujo de 2,0 ml/min como el empleado por Dong y Di Cesare elevaba la presión en la columna a un valor cercano a 3000 Psi considerado como el límite de seguridad. Las correcciones por diferencias de flujo de los tiempos de retención arrojaron los resultados hallados por los mencionados autores. La

concordancia entre los cromatogramas presentados por ellos y los realizados en nuestro laboratorio nos permitió asignar a cada pico un triglicérido mayoritario.

Si se modifica la relación de solventes en la fase móvil se modifican los tiempos de retención. Cuando estos aceites se analizaron empleando como fase móvil acetona:acetonitrilo 1:2 (sistema de solventes empleado para analizar todas las muestras recogidas en la experiencia de fraccionamiento dada la mejor resolución hallada) los tiempos de retención encontrados fueron mayores: 5,1; 6,5; 8,8; 12,5; 16,4; 21,5; 29,1 y 39,8 para LLL, LLO, LLP, LOO, OOO, POO, SOO y SSO respectivamente. Si bien los tiempos de retención son muy diferentes a los encontrados con una mezcla de elución 7:3 los perfiles presentados por la muestra no se modifican; es por esta razón que podemos mantener las asignaciones hechas previamente.

Otra forma de verificar si se ha asignado correctamente un triglicérido a un pico determinado es calcular la composición aproximada de los aceites analizados. De acuerdo con Nawar (1985) este cálculo se efectúa multiplicando los porcentajes en que se hallan presentes los ácidos grasos en el aceite. Sin embargo se ha observado en la naturaleza que es rara la ocurrencia de un triglicérido formado por ácidos grasos idénticos si el porcentaje de ese ácido graso en la muestra es inferior al 65%. A continuación se resumen las composiciones en ácidos grasos que figuran en bibliografía de los aceites mencionados anteriormente.

Aceite	P	Pt	S	O	L	Ln	otros
Algodón	24,5	1,3	1,8	16,3	55,4	---	0,7
Girasol	6,7	---	3,8	30,5	57,8	---	1,2
maiz	13,6	0,4	1,7	37,3	48,0	0,6	0,4
oliva	10,0	1,5	1,7	68,5	20,3	---	---

Según estos contenidos en ácidos grasos y siguiendo el procedimiento de Nawar los triglicéridos más probables para el aceite de oliva serán LOO, OOO, y POO los cuales eluyen en ese orden cuando son analizados por Cromatografía Líquida. En el cromatograma que se obtuvo en nuestro laboratorio estos tres triglicéridos mencionados correspondieron a los picos mayores. Graciani Constante (1987) estudió extensamente la separación de triglicéridos en aceite de oliva encontrando resultados concordantes con los nuestros. En sus cromatogramas sólo los mencionados triglicéridos presentaron picos importantes. Los restantes presentaron picos menores.

En orden de probabilidad decreciente según datos bibliográficos los triglicéridos mayoritarios presentes en el aceite de maiz deben ser LOO, PLO, LLO, SOL, LLP, SPL y un pequeño pico de LLL. En la Figura 5 se presenta el cromatograma obtenido en nuestro laboratorio. La figura es concordante con la composición calculada.

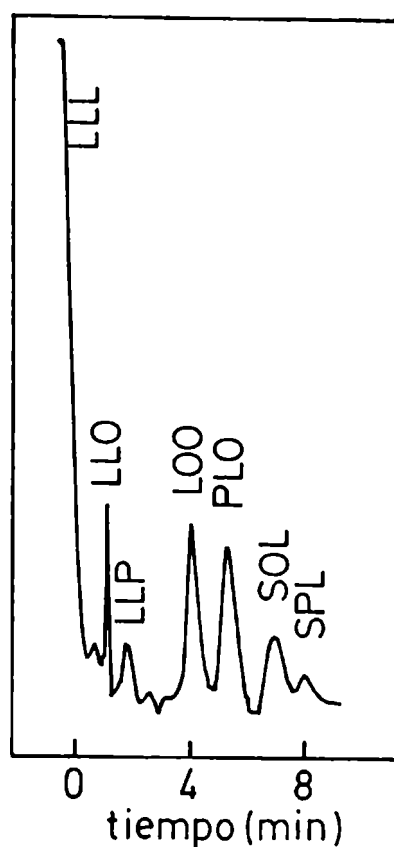
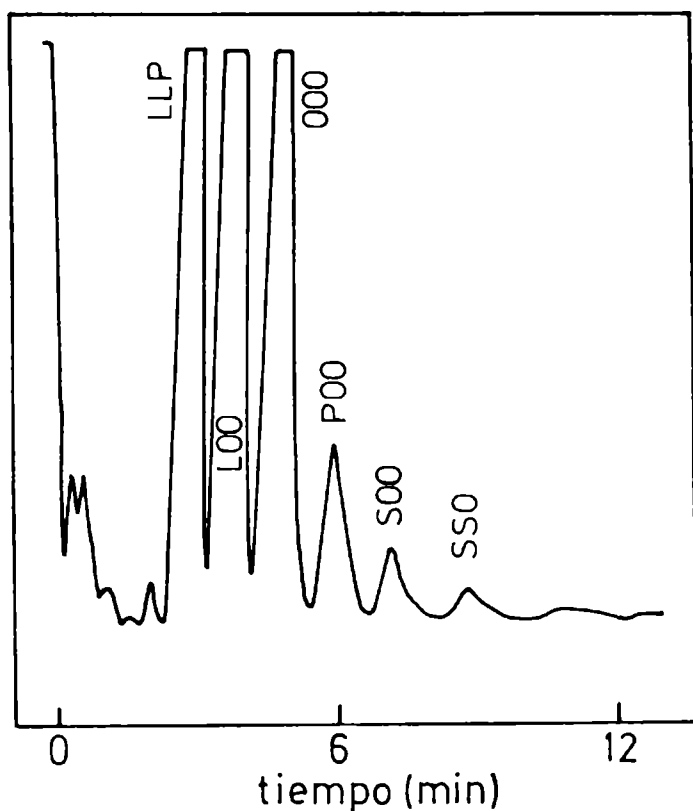
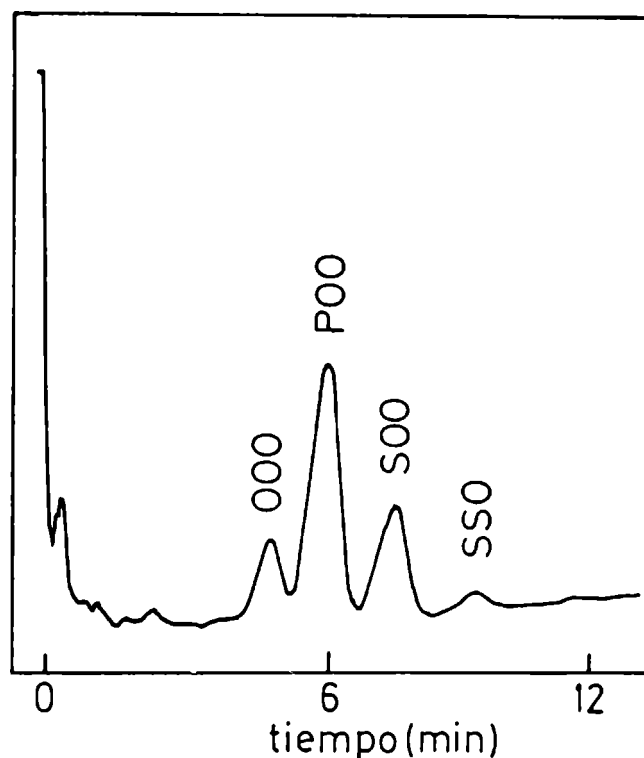


Figura 5. Cromatograma de aceite de maiz. Fase móvil acetona: acetonitrilo 7:3; flujo 1,3 ml/min

Las Figuras 6 a y b corresponden a dos cromatogramas de aceite de algodón, sin hidrogenar e hidrogenado. En el aceite sin hidrogenar, según la composición informada, los triglicéridos con mayor probabilidad de formación son LLP, LLO, L00 y en menor proporción deberían encontrarse 000, P00 y S00. En el aceite hidrogenado se produce una notable disminución en los picos correspondientes a LLO, LLP y L00 y un aumento en la probabilidad de los picos 000, P00 y S00. Es claro en las figuras el cambio en la composición química que se produce durante la hidrogenación.



(a)



(b)

Figura 8. Cromatograma de aceite de algodón (a) y aceite de algodón hidrogenado (b). Se emplearon iguales condiciones que en la figura 5

Cromatogramas de aceite de girasol fueron analizados en forma semicuantitativa (Materiales y Métodos sección 4.4). El aceite de girasol hidrogenado arrojó la siguiente composición en triglicéridos: 3,7%, 21,7%; 50,5%, 20,6%, y 2,1% para los picos de tiempos de retención 5,9; 7,4; 8,9; 10,9 y 11,7 min correspondientes a

L00, 000, P00, S00 y S50 respectivamente (Figura 7). El cromatograma de aceite de girasol normal presentó cuatro picos principales de tiempos de retención 3,6; 4,6; 5,9 y 7,4 min los que representaron un 37,2%, 39,4%, 16,6% y 1,2% respectivamente (Figura 8). La comparación de ambos cromatogramas destaca el hecho que en el aceite hidrogenado el pico de 8,9 min es el mayor mientras que en el aceite sin hidrogenar es muy pequeño y que los picos de 3,6; 4,6 y 5,9 min disminuyen en forma notable aumentando los picos de 7,4; 10,9 y 8,9 min este último anteriormente mencionado los cuales eran sumamente pequeños en el aceite sin hidrogenar.

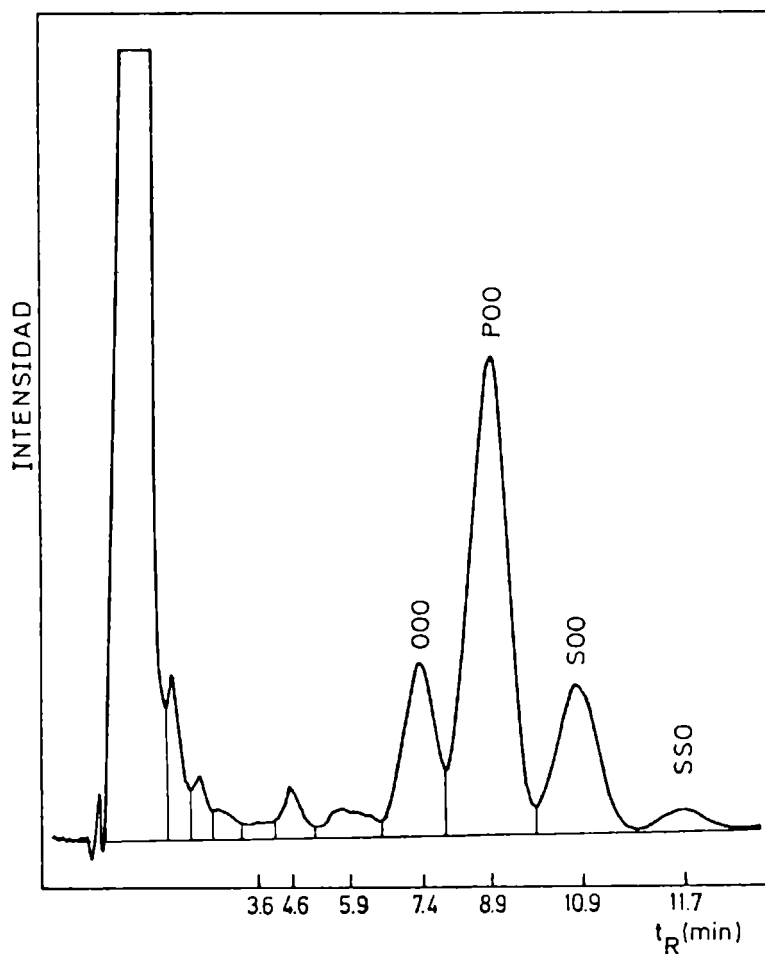


Figura 7. Cromatograma de aceite de girasol hidrogenado. Se emplearon iguales condiciones que en la figura 5

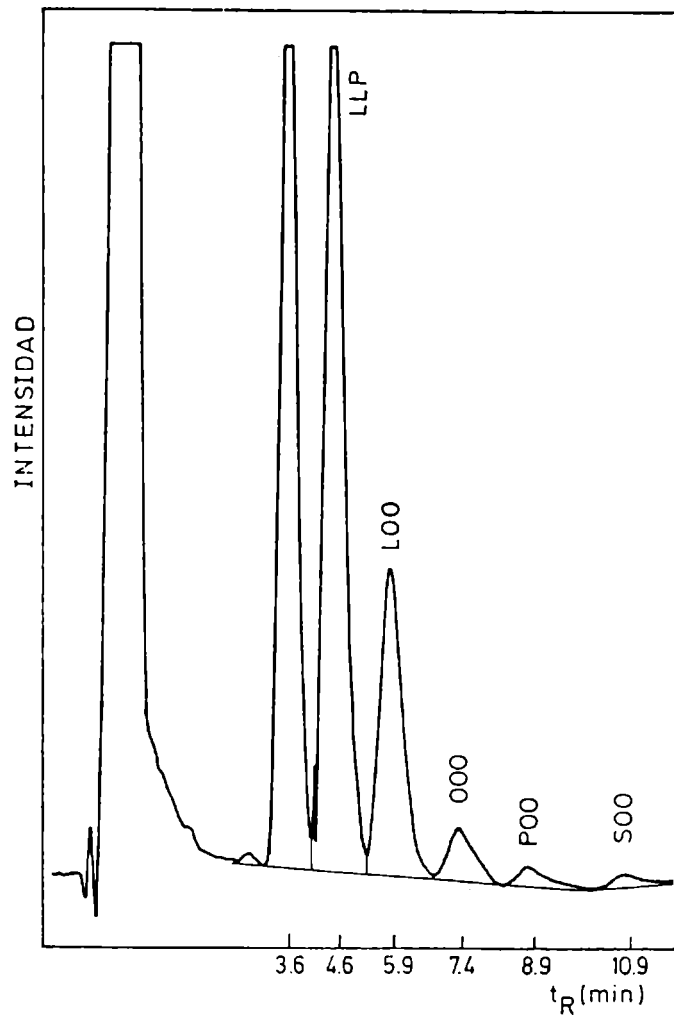


Figura 8. Cromatograma de aceite de girasol normal. Se emplearon iguales condiciones que en la figura 5

Lo discutido anteriormente nos permite estar seguros de nuestro sistema de análisis y asignación de picos. Por lo tanto procedamos a analizar las muestras empleadas en las experiencias de fraccionamiento (muestra 1 y 2). Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4**Composición en triglicéridos de las muestras originales**

	LLO	LLP	LOO	OOO	P00	S00	SS0
Muestra	Tiempos de retención (min)						
	6,5	8,8	12,5	16,4	21,5	29,1	39,8
1	0,2	2,0	4,2	7,3	25,5	48,0	12,0
2	0,3	2,8	18,1	39,5	29,4	7,0	0,8

La comparación entre ambos aceites hidrogenados permite ver que la muestra 2 contiene una mayor proporción de los triglicéridos L00, 000 y P00 y un menor porcentaje de SS0 y S00. De acuerdo a esto podría esperarse un mayor punto de fusión en la muestra 1. Estos resultados son coincidentes con la composición de ácidos grasos previamente determinada así como con el contenido de sólidos.

2.1.3 Calorimetría diferencial de barrido

Para estudiar el comportamiento térmico de las muestras originales: diferentes puntos de fusión de los constituyentes presentes, posible polimorfismo e interacciones entre los diferentes

triglicéridos (formación de soluciones sólidas, pseudocompuestos o eutécticos) se realizaron estudios de calorimetría diferencial de barrido. En la Figura 9 se presentan los diagramas obtenidos al interpretar matemáticamente los termogramas correspondientes a las muestras originales con el fin de compararlos.

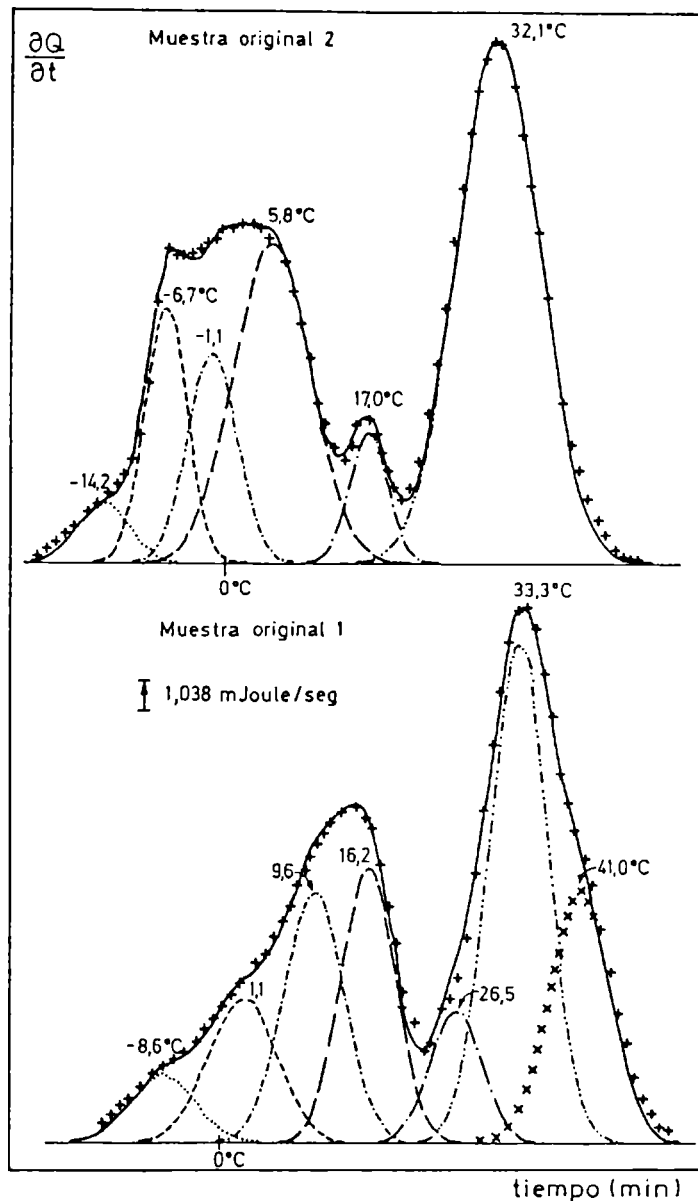


Figura 9. Termogramas interpretados matemáticamente correspondientes a las muestras originales

Los termogramas que se presentan en la Figura 9 son directamente comparables ya que las curvas representan el área por gramo de muestra empleada. Resulta evidente que los perfiles de ambas muestras son diferentes entre sí. En la muestra 1 se separaron sólo dos endotermas mientras que en la muestra 2 se detectaron tres. Así mismo la forma que presenta la primer endoterma en ambos termogramas es diferente; la endoterma de mayor temperatura en cambio es más similar. Por otra parte en la muestra original 1 las temperaturas de pico de los distintos constituyentes resultaron superiores a las correspondientes de la muestra 2. En la muestra 1 el pico de mayor temperatura representa un porcentaje mayor respecto del área total que en la muestra 2 (53% y 45% respectivamente).

Otras diferencias detectadas en las muestras surgen de la aplicación del método matemático descrito en Materiales y Métodos (sección 5.4). Los resultados obtenidos se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5

Calorimetria diferencial de las muestras originales

(1)	Primer pico				Segundo Pico		
Constituyente	1	2	3	4	5	6	7
Temperatura	-8,6	1,1	9,6	16,2	26,5	33,3	41,0
Area (mm ²)	67,9	155,4	228,0	206,2	95,1	428,7	216,6
Area (%)	4,9	11,1	16,3	14,7	6,8	30,7	15,5
ΔH (Joule/g)	4,2	9,6	14,2	13,0	5,9	26,8	13,4
ΔH Pico	41,0				46,0		
ΔH total	87,1						

(2)	Primer pico				Segundo pico	Tercer pico
Temperatura	-14,2	-6,7	-1,1	5,8	17,0	32,1
Area (mm ²)	54,3	159,8	154,0	341,9	67,0	636,3
Area (%)	3,8	11,3	10,9	24,2	4,7	45,0
ΔH (Joule/g)	3,3	10,0	9,6	21,3	4,2	39,8
ΔH Pico	44,4				4,2	39,8
ΔH total	88,3					

Del análisis de la mencionada Tabla surge que los constituyentes de cada endoterma en ambas muestras resultan diferentes

entre sí en puntos de fusión y áreas relativas; así mismo su número es superior en la muestra 1. La primer endoterma de la muestra 1 es asimétrica y pudo ser ajustada mediante la contribución de cuatro constituyentes de diferente peso. Si bien los mismos no se separan claramente en la endoterma original es posible visualizar en la misma la existencia de hombros. El ajuste de la curva mediante tres constituyentes aumenta el error en tanto que un número mayor de los mismos no permite obtener una mejor aproximación. Al segundo pico contribuirían tres constituyentes indicados por diferencias en la pendiente de la endoterma original. El primer pico de la muestra 2 presenta un perfil ajustable con cuatro componentes en tanto que el pico de temperatura máxima $32,1^{\circ}\text{C}$ pudo ser interpretado como conformado por un único constituyente. El hecho que los termogramas se ajusten a la sumatoria de un número de componentes superior a los visibles en forma directa, indicaría la presencia de fracciones de triglicéridos con puntos de fusión cercanos no diferenciables en las condiciones empleadas.

Según estos diagramas calorimétricos y considerando que solidifica todo lo que debería solidificar y que además cada endoterma representa la fusión de un componente distinto el contenido de sólidos de la muestra 1 a 19°C es del 57,7% y el de la muestra 2 a 12°C de 49,7%. Experimentalmente obtuvimos en el fraccionamiento de estas muestras a las temperaturas mencionadas valores de 37,6% y 25,5% respectivamente. Las diferencias encontradas al analizar las muestras originales por los métodos ya discutidos podrían deberse a las siguientes causas:

-los resultados encontrados por calorimetría diferencial de barri-

do y por fraccionamiento no son comparables dado que las historias térmicas de las muestras fueron diferentes. Al retirar los sólidos en la experiencia de fraccionamiento, la composición inicial de la muestra fue cambiando de fracción en fracción.

-la comparación entre los resultados obtenidos al analizar las muestras originales por cromatografía líquida de alta presión y calorimetría diferencial de barrido pone de manifiesto que solo cinco triglicéridos se encuentran en una proporción mayor al 3% (Tabla 4), mientras que en los diagramas interpretados matemáticamente se presentan un número de componentes mayor (Tabla 5). Dada las distintas solubilidades de los triglicéridos entre sí, manifiesta en los diagramas de fase presentados por Gibon (1986) y otros autores, es posible suponer que cada pico correspondiente a la interpretación matemática de los diagramas obtenidos por calorimetría diferencial de barrido puede estar formado por más de un triglicérido. Pueden ocurrir interacciones entre algunos pares de triglicéridos presentes en el aceite de girasol hidrogenado que fraccionamos que conduzcan a este resultado, por ejemplo la formación de eutécticos entre EEE/SOS y SEE/SOS. Si estos pares se encuentran en la composición eutéctica fundirán como un compuesto puro, así también lo harán aquellos pares que formen soluciones sólidas de rango extendido de temperatura o que se encuentren en proporción adecuada para formar pseudocompuestos.

-por otra parte, la técnica de cromatografía líquida empleada para analizar la composición química de las muestras no permite separar isómeros geométricos. Teniendo en cuenta la historia previa de las

muestras es lógico suponer que durante la hidrogenación se produzca isomerización. Los isómeros naturales cis y los trans producidos durante el procesamiento del aceite tienen puntos de fusión muy diferentes pero igual tiempo de retención, es decir eluyen en el cromatograma como un único pico pero aparecen como dos picos diferentes al fundir.

-además los calores de fusión de los triglicéridos puros son diferentes según de cual de ellos se trate y en que forma cristalicen; así, SSS en su forma β tiene un calor del orden de dos veces el de OOO cristalizada en la misma forma. Por esta razón un pico presente en pequeña cantidad en el cromatograma puede contribuir con un área importante al termograma. Así mismo algún pico podría corresponder a una transformación polimórfica aunque esto no es muy probable.

Todos estos factores hacen que el comportamiento de fusión de estas mezclas resulte muy complicado.

2.1.4 Difractometría de rayos X

Con el objeto de identificar las formas polimórficas presentes en las muestras originales se realizó una difractometría de rayos X.

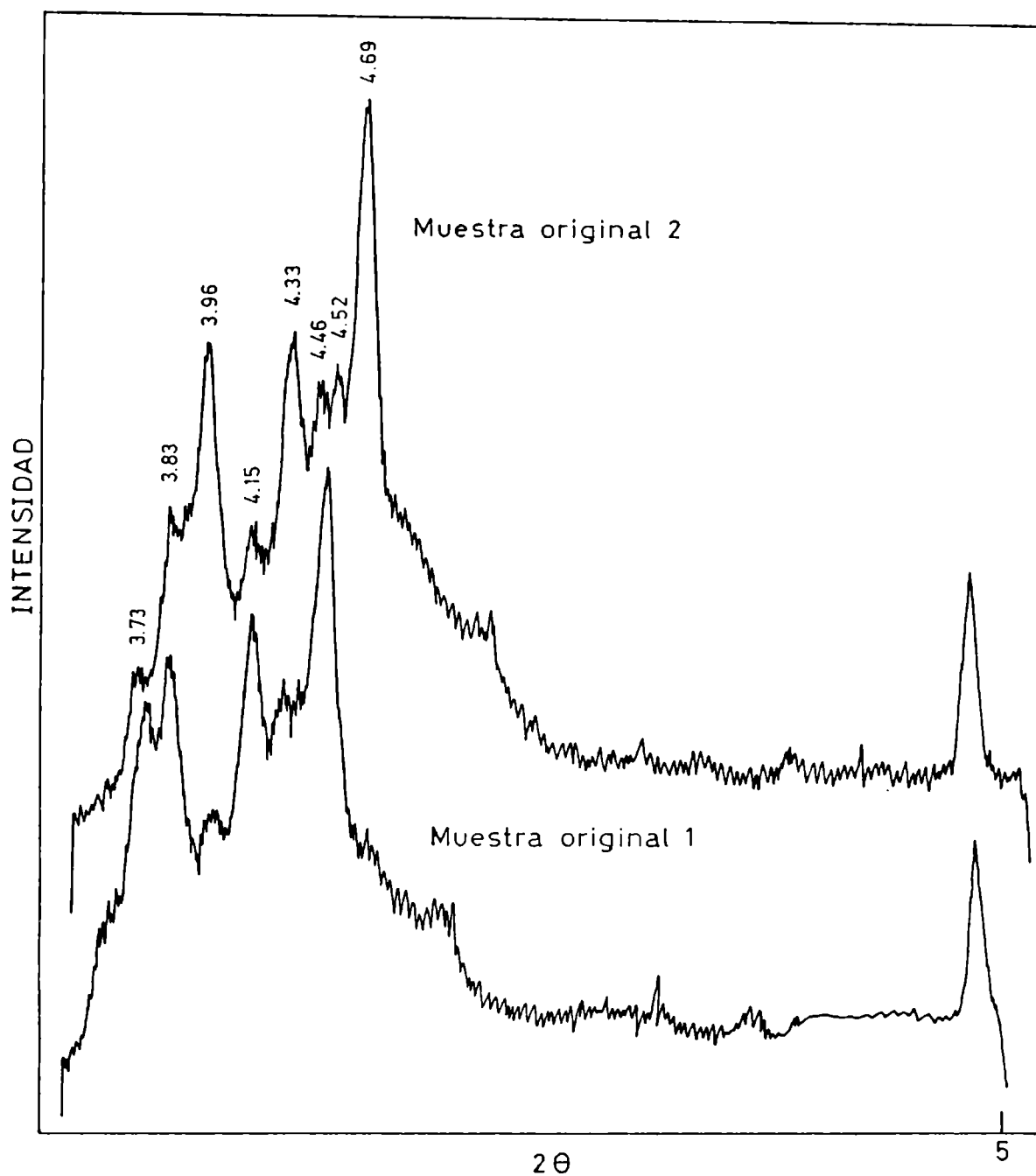


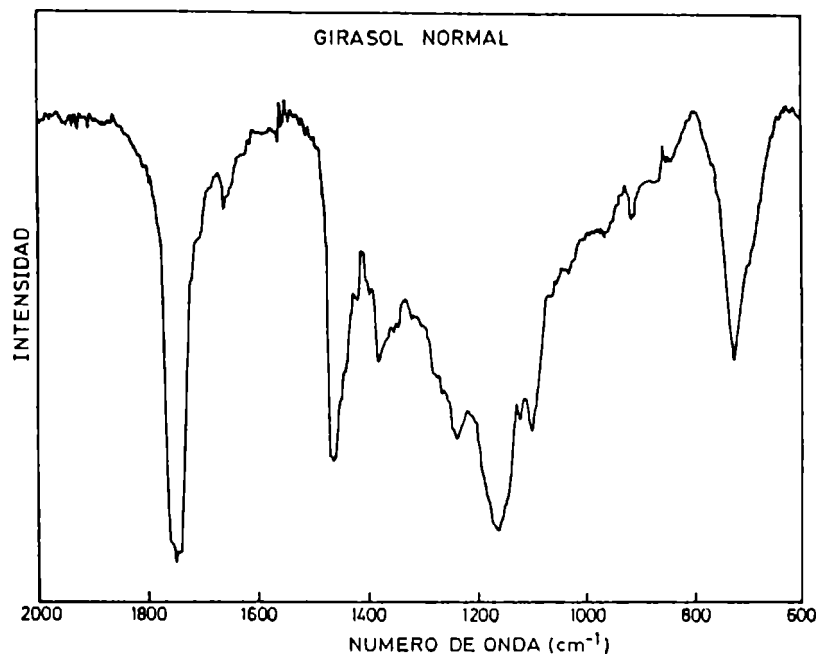
Figura 10. Diagramas de rayos X de las muestras originales

El análisis de las mismas arrojó los siguientes resultados (Figura 10): en la muestra 1 se encontraron cuatro líneas principales a 3,7 A; 3,8 A; 4,1 A y 4,5 A mientras que en la muestra 2

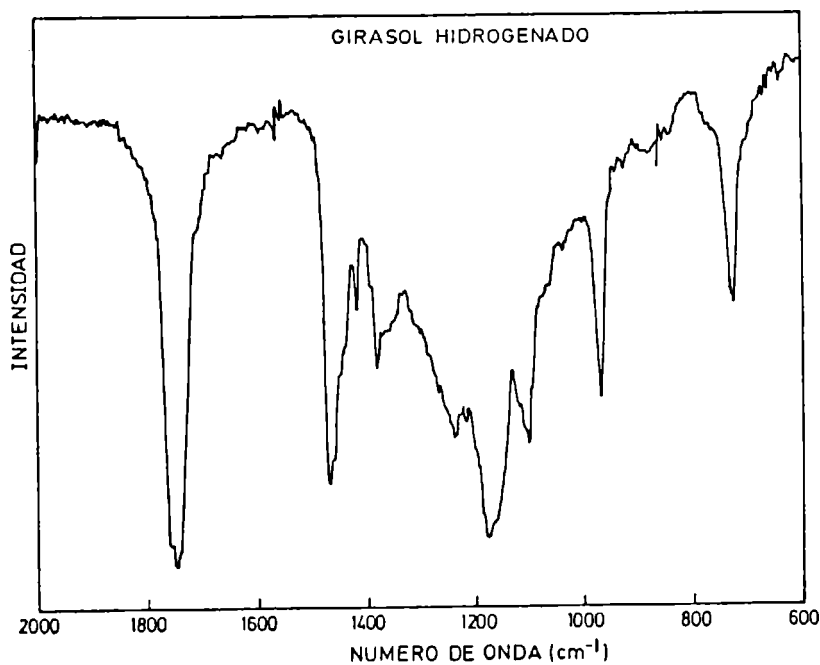
se observaron tres a 3,9 A; 4,3 A y 4,7 A y cinco líneas menores a 3,7 A; 3,8 A; 4,1 A; 4,4 A y 4,5 A. Como hemos explicado previamente según Lutton (1955) las formas β' presentan dos a tres líneas fuertes a 4,2 A y 3,5 A mientras que las formas β presentan una línea a 4,6 A, la que usualmente es la más fuerte. Las pequeñas diferencias observadas en las muestras 1 y 2 en las líneas 3,7 A y 3,8 A respecto de 3,5 A podría deberse a la presencia de distintas formas β' . La muestra 2 presenta además una línea a 4,7 A lo que indicaría la presencia de cristales β o según la clasificación de Deroanne (1976) correspondería a una forma intermedia entre ambas. Ninguno de los dos diagramas de rayos X corresponde a los obtenidos con triglicéridos puros en las formas β' o β . Esto apoya la suposición de que existe una mezcla de diferentes formas polimórficas.

2.1.5 Espectroscopia Infrarroja

Con el objeto de cuantificar el contenido de isómeros trans de las muestras originales se realizaron estudios de espectroscopia infrarroja. El aceite de girasol normal presenta un pico a 720 cm^{-1} correspondiente al isómero C 18:1 cis. Si este aceite es hidrogenado este pico se reduce apareciendo el correspondiente al isómero C 18:1 trans a 980 cm^{-1} (Figura 11). Las muestras 1 y 2 presentaron un contenido de isómeros trans de 43,4% y 44,2% respectivamente.



(a)



(b)

Figura 11. Espectros infrarrojos del aceite de girasol normal (a) y aceite de girasol hidrogenado (b)

2.2 Caracterización de las fracciones sólidas.

Al igual que en el caso de las muestras originales las distintas fracciones sólidas obtenidas en las experiencias de fraccionamiento realizadas se analizaron en términos de su composición química (HPLC, GLC, IR y RMN) y de su estructura cristalina (DSC Y Rayos X).

2.2.1 Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa (GLC).

Las Figuras 12 y 13 muestran los porcentajes de cada ácido graso en función de la temperatura de cristalización. El análisis de las mismas revela que las fracciones que cristalizan a temperaturas superiores poseen un menor contenido de ácido linoleico y un mayor contenido de ácido esteárico y oleico mientras que las que cristalizan por debajo de 33°C muestran un aumento en el contenido de ácido linoleico y una disminución en el contenido de ácido oleico. El ácido esteárico disminuye ligeramente al disminuir la temperatura. No se observaron diferencias significativas en el contenido de ácido palmítico. En general las muestras cristalizadas en forma dinámica en la primera experiencia presentaron un contenido de ácido palmítico ligeramente superior al de la muestra original.

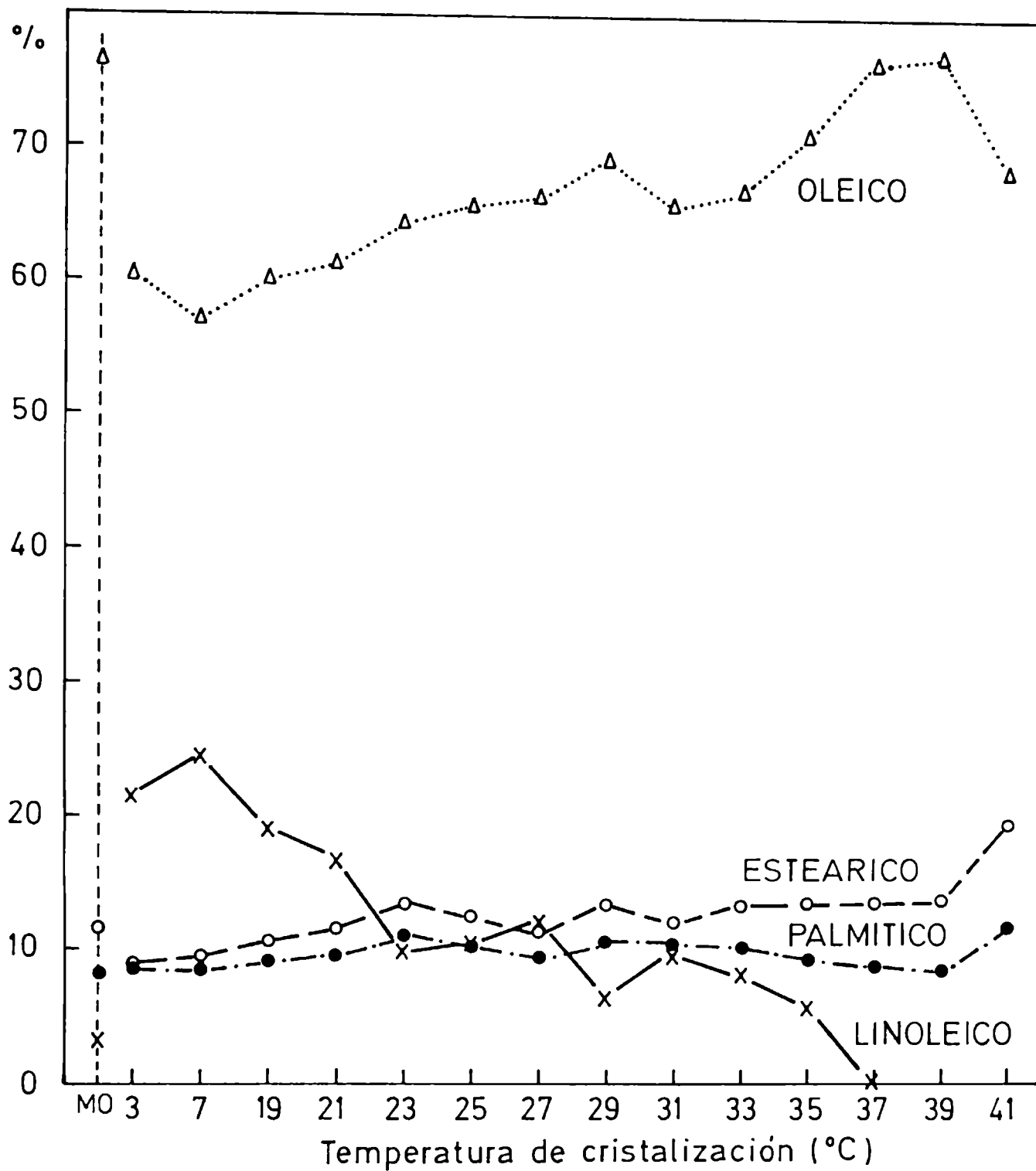


Figura 12. Porcentaje de los principales ácidos grasos detectados en función de la temperatura de cristalización (Fracciones sólidas, primera experiencia)

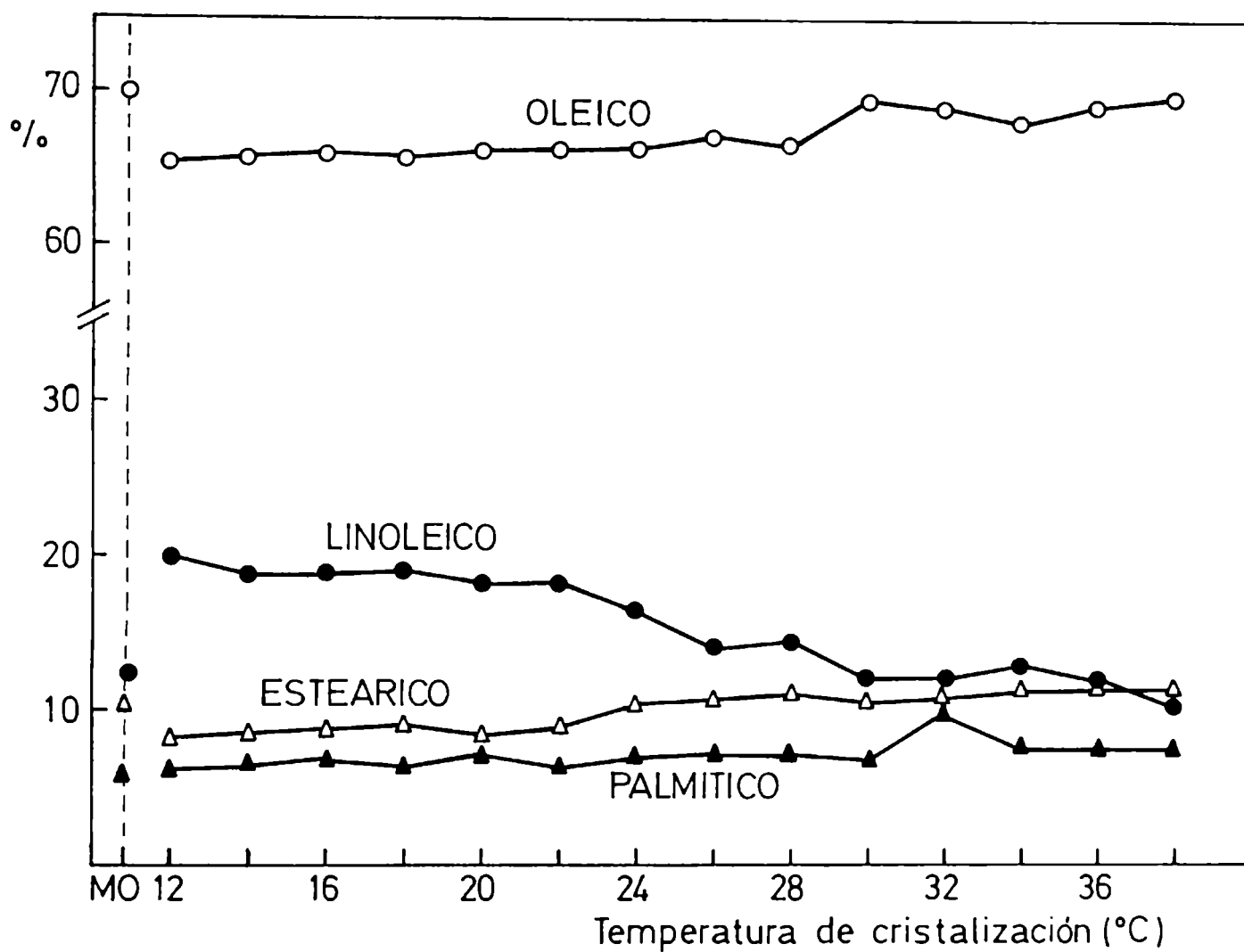


Figura 13. Porcentaje de los principales ácidos grasos detectados en función de la temperatura de cristalización (Fracciones sólidas, segunda experiencia)

2.2.2 Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión.

La cromatografía líquida de alta presión permite separar triglicéridos por su tamaño molecular es decir por los diferentes largos en las cadenas sustituyentes en el glicerol y por el número de insaturaciones que presentan estos sustituyentes. Con este método como se ha mencionado anteriormente no es posible separar isómeros cis-trans a menos que se utilicen técnicas combinadas con ésta como preparación de derivados de los isómeros cis y trans que presentan diferentes tiempos de retención cuando son analizados en el cromatógrafo líquido (Wood y Lee, 1983). En las Tablas 6 y 7 se resumen los resultados que arrojaron las muestras sólidas obtenidas por fraccionamiento por temperatura de aceite de girasol hidrogenado.

Tabla 6

Cromatografía líquida de alta presión correspondiente a la primer experiencia de fraccionamiento

Temp (°C)	Tiempos de retención (min).											
	1,7	2,3	3,0	4,0	5,1	6,5	8,8	12,5	16,4	21,5	29,1	39,8
41	---	---	1,2	<1,0	1,0	3,6	1,2	1,2	5,1	17,0	47,1	23,2
39	---	<1,0	<1,0	1,2	<1,0	1,3	1,4	3,7	7,6	24,9	47,9	10,4
37	---	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,0	1,5	2,3	6,3	25,3	52,8	8,4
35	---	<1,0	---	2,8	---	2,2	1,9	9,0	20,6	21,7	33,3	8,2
33	1,5	<1,0	---	5,9	---	7,7	4,2	9,1	21,4	18,1	31,5	---
31	1,6	<1,0	---	5,1	---	10,5	5,5	7,4	22,6	12,3	34,7	---
29	3,6	---	---	5,6	---	10,7	7,8	7,2	24,0	11,1	30,0	---
27	4,1	---	---	7,0	---	14,3	7,9	8,3	25,3	11,4	21,7	---
25	5,1	1,3	---	9,1	---	11,9	8,2	8,2	26,0	11,5	18,7	---
23	2,2	2,9	---	7,0	---	10,5	3,5	20,5	26,3	13,6	13,2	---
21	2,3	<1,0	---	9,0	---	10,7	4,8	18,9	27,3	12,4	13,9	---
19	2,0	<1,0	---	8,0	---	9,0	5,5	20,0	27,9	12,7	14,5	---
7	1,3	<1,0	---	9,3	---	9,1	4,5	20,6	28,9	13,7	12,2	---
3	1,2	<1,0	---	9,3	---	9,3	2,3	24,7	28,1	12,4	12,4	---
MO	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	2,0	4,2	7,3	25,5	48,4	12,0

MO muestra original

Tabla 7

Cromatografía líquida de las fracciones sólidas correspondientes a la segunda experiencia de fraccionamiento

Temp (°C)	Tiempos de retención (min).											
	1,7	2,3	3,0	4,0	5,1	6,5	8,8	12,5	16,4	21,5	29,1	39,8
38	---	---	<1,0	---	<1,0	<1,0	2,7	2,2	19,2	25,1	35,3	13,2
36	---	---	<1,0	<1,0	<1,0	1,1	2,4	10,6	24,2	32,6	22,1	5,7
34	---	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	2,1	2,6	16,4	26,6	29,4	17,5	3,9
32	---	<1,0	<1,0	---	<1,0	1,1	2,1	16,3	34,8	29,8	14,7	---
30	<1,0	<1,0	<1,0	---	1,7	1,6	2,8	12,8	36,3	32,4	11,5	---
28	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,6	1,6	5,8	18,6	35,6	27,6	7,8	---
26	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,7	1,6	8,4	19,1	34,8	26,0	7,0	---
24	<1,0	<1,0	4,8	0,6	1,5	1,5	9,3	18,5	34,5	21,8	7,0	---
22	<1,0	<1,0	2,7	0,6	1,2	1,2	13,4	20,6	31,4	22,3	5,8	---
20	<1,0	<1,0	2,4	<1,0	1,2	1,1	11,1	21,7	32,4	23,0	6,0	---
18	<1,0	2,4	<1,0	1,4	1,2	1,2	10,1	18,8	34,1	23,4	6,1	---
16	<1,0	<1,0	4,2	<1,0	1,8	1,8	14,2	25,5	29,4	16,5	4,6	---
14	<1,0	<1,0	5,6	1,2	1,3	1,5	15,2	25,3	28,3	15,8	4,9	---
12	<1,0	<1,0	<1,0	2,1	2,1	1,5	22,0	30,5	23,8	14,5	2,6	---
MO	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	1,1	<1,0	2,8	18,1	39,5	29,4	7,0	0,8

MO muestra original

Para facilitar el análisis de los resultados se graficó sólo para los componentes mayoritarios el porcentaje de cada uno de ellos en función de sus respectivos tiempos de retención (Figuras 14 y 15) y los mismos porcentajes en función de la temperatura de cristalización (Figuras 17 y 18) para la primera y segunda experiencia respectivamente. Para construir las Figuras 14 y 15 se ha elegido una temperatura de cristalización alta, una media y una baja. (Experiencia 1, fracciones 41°C, 31°C y 21°C; Experiencia 2, fracciones 38°C, 24°C y 14°C)

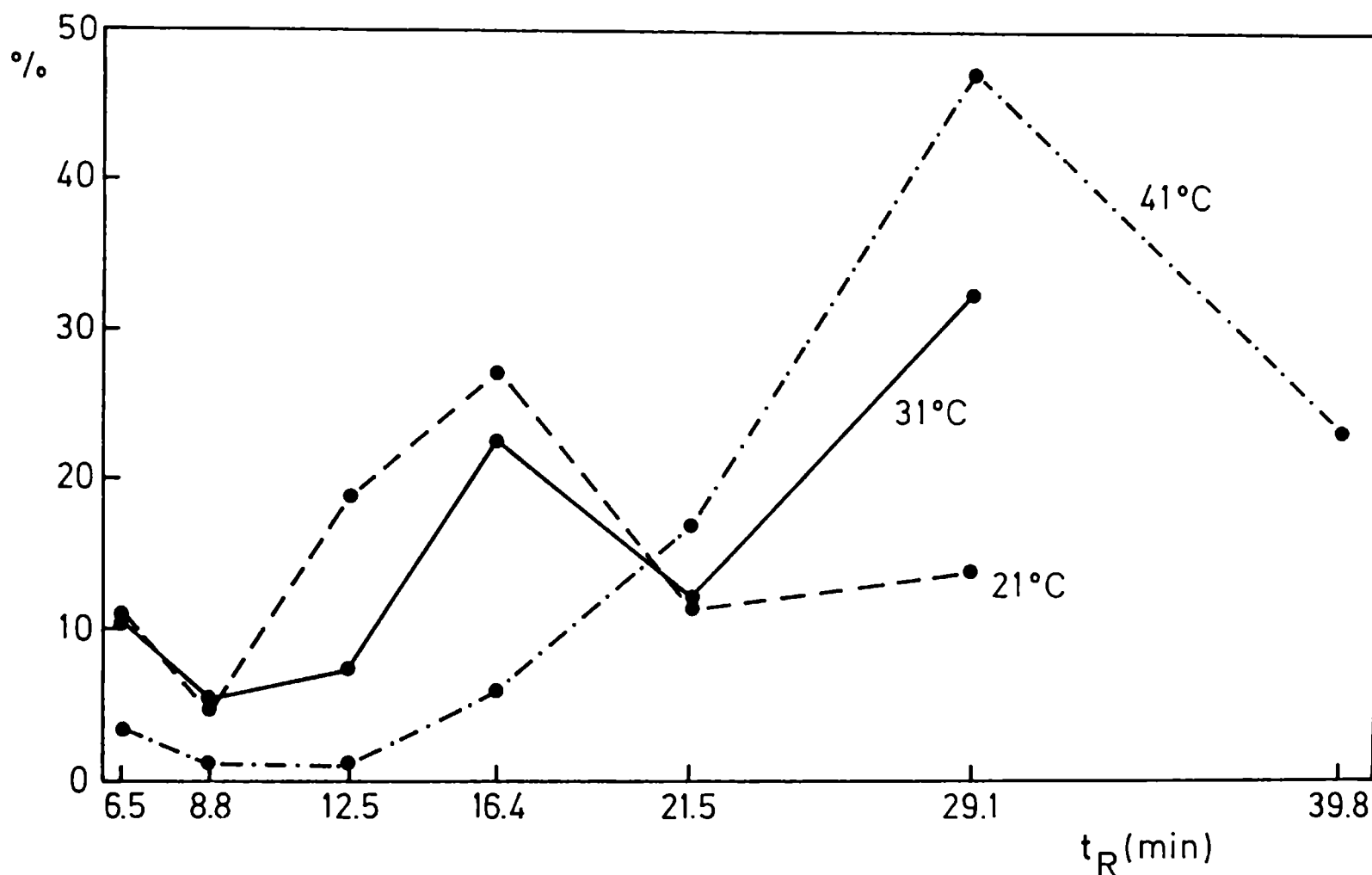


Figura 14. Porcentaje de los triglicéridos mayoritarios en función de sus tiempos de retención para las fracciones 41°C, 31°C y 21°C (Primera experiencia)

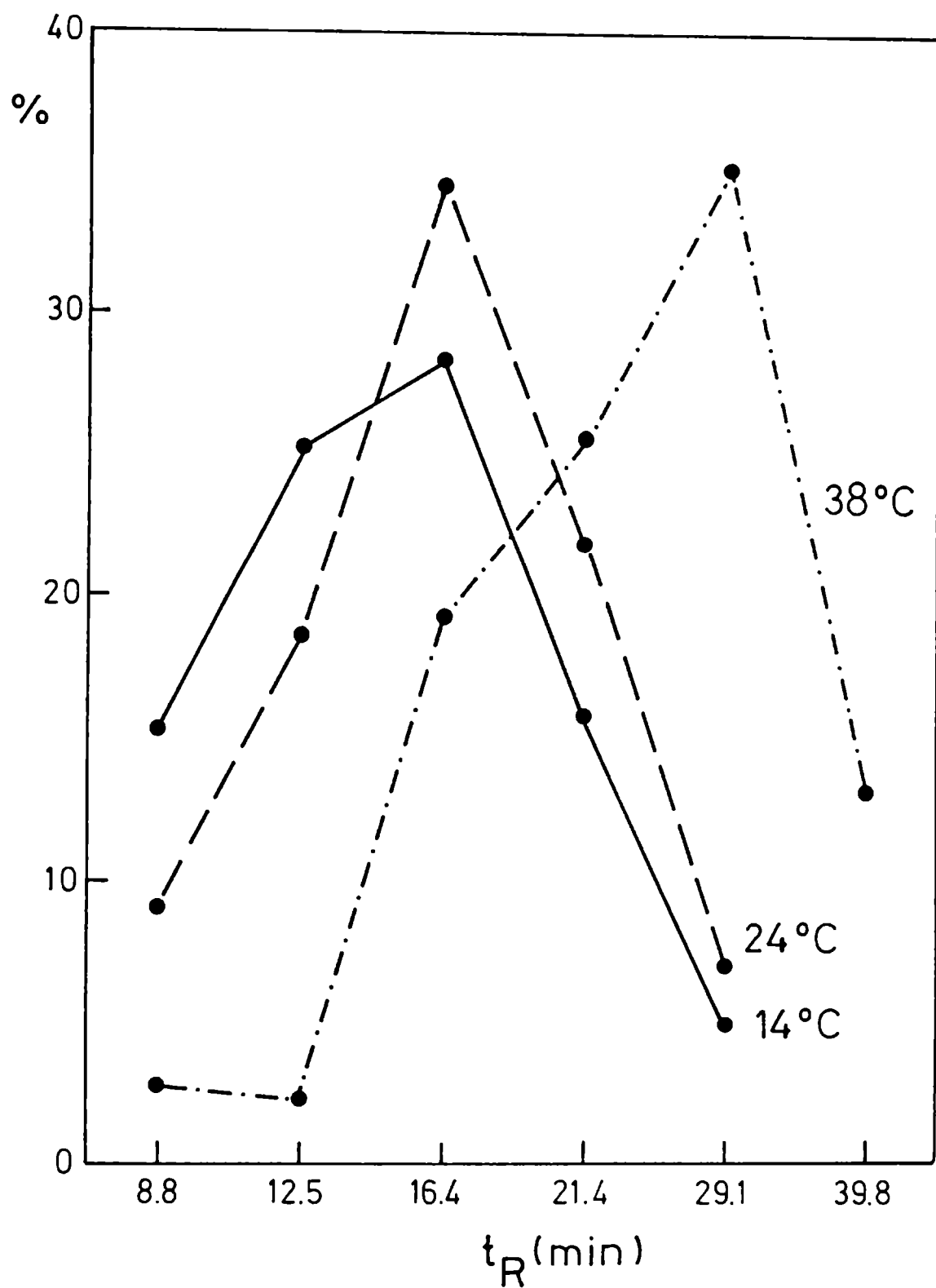


Figura 15. Porcentaje de los triglicéridos mayoritarios en función de sus tiempos de retención para las fracciones 38°C, 24°C y 14°C (Segunda experiencia)

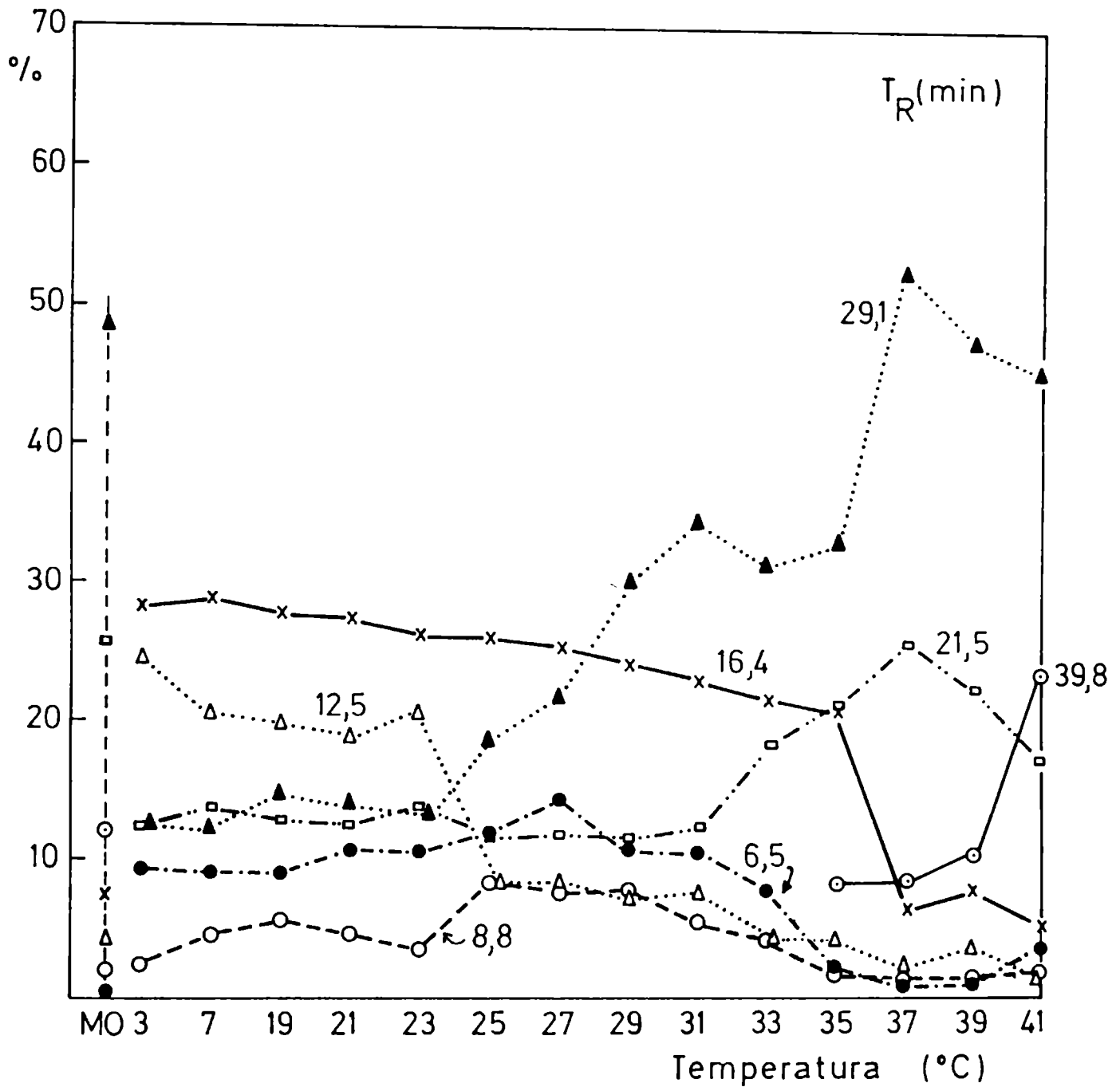


Figura 16. Porcentaje de los triglicéridos mayoritarios en función de la temperatura de cristalización. Primera experiencia.

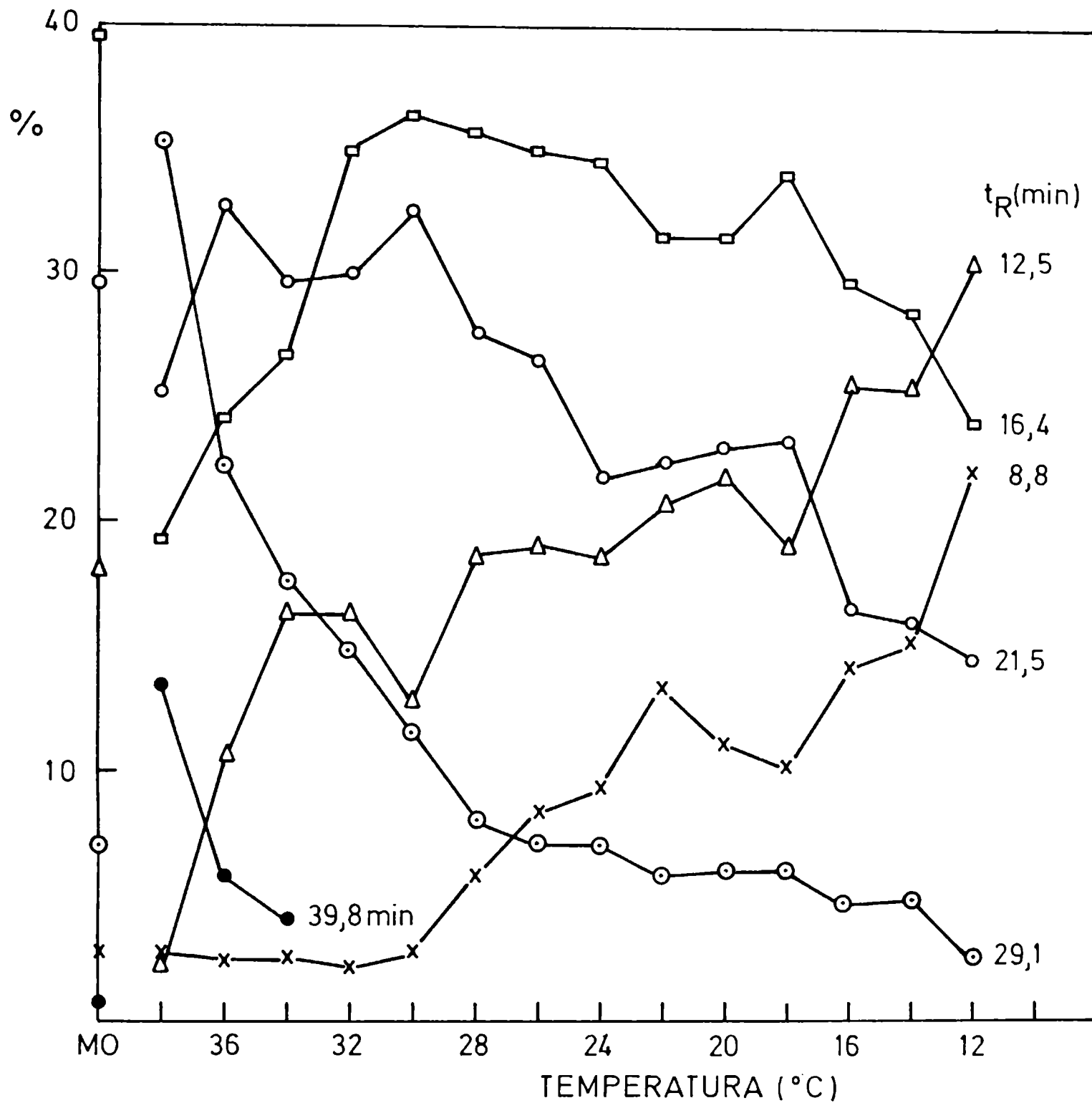


Figura 17. Porcentaje de los triglicéridos mayoritarios en función de la temperatura de cristalización. Segunda Experiencia

Los resultados obtenidos al analizar los aceites vegetales de composición conocida en triglicéridos nos ha permitido asignar tentativamente como componente mayoritario de cada uno de los picos encontrados en los cromatogramas, correspondientes a las muestras obtenidas por cristalización fraccionada, los que figuran a continuación. Sin embargo no se puede descartar la posibilidad que en cada pico esten presentes uno o más triglicéridos de ECNs equivalentes en cantidades minoritarias.

SSO: en la primera experiencia este triglicérido representó un 23,2% en la muestra cristalizada a 41°C y porcentajes del orden de 8% a 10% en las muestras cristalizadas a 39°C, 37°C y 35°C no detectándose a temperaturas inferiores; en la segunda experiencia en cambio en la única fracción en la que resultó importante fue en la extraída a 38°C. En las fracciones cristalizadas a 36°C y 34°C se encontró en el orden de 6% y 4% respectivamente no hallándose en el resto.

S00: en la primera experiencia se encontró alrededor de un 50% en las muestras recogidas a 41°C, 39°C y 37°C y fue descendiendo con la temperatura hasta un valor cercano a 15%. En la segunda experiencia resultó el componente mayoritario a 38°C y representó porcentajes superiores a la muestra original hasta 30°C. En el resto de las fracciones se encuentra en un porcentaje menor el cual disminuye al descender la temperatura de cristalización.

P00: en la primera experiencia en las fracciones cristalizadas a 39°C, 37°C y 35°C se registraron valores del orden de la muestra

original. A todas las otras temperaturas se encontraron valores inferiores. En las muestras recogidas en la segunda experiencia se halló en porcentajes altos en todas las fracciones; por encima de 28°C con un contenido similar al de la muestra original y por debajo disminuyó hasta valores de 15%.

000: en la primera experiencia de fraccionamiento se encontró que las muestras cristalizadas a 41°C, 39°C y 37°C presentaron contenidos del orden de la muestra original mientras que en las restantes fracciones el contenido aumentó al descender la temperatura. En la segunda experiencia los contenidos de todas las fracciones resultaron inferiores al de la muestra original, disminuyendo al descender la temperatura alcanzando valores cercanos a 24% a 12°C.

L00: en la primera experiencia de fraccionamiento este triglicérido representó en las fracciones superiores porcentajes menores del 10%; al disminuir la temperatura de cristalización fue aumentando hasta alcanzar valores del 20% a 19°C. En la segunda experiencia se presentó en valores menores a los encontrados en la muestra original hasta 28°C y aumentó luego al disminuir la temperatura de cristalización, alcanzando valores del 30% a 12°C.

LLP: en la primera experiencia en todas las fracciones se halló en porcentajes menores al 10%. En la segunda experiencia se registraron en cambio valores superiores al de la muestra original a partir de 28°C y fue aumentando al descender la temperatura hasta alcanzar 22% en la fracción 12°C.

Otros triglicéridos probablemente formados por ácidos grasos de cadenas más cortas o más insaturados aparecen a tiempos de retención menores pero no son importantes.

En la **Figura 18** se comparan tres cromatogramas pertenecientes a muestras cristalizadas a 37°C, 29°C y 19°C colectadas en la primer experiencia de fraccionamiento con la muestra original. De acuerdo con los perfiles y composición química obtenidos podemos dividir a las muestras en tres grupos: un primer grupo que comprende las fracciones de temperatura de cristalización entre 31°C y 41°C, un segundo grupo cristalizadas entre 23°C y 31°C y un tercer grupo entre 12°C y 23°C. En la **Figura 18** se ha incluido un cromatograma de cada grupo. Las muestras correspondientes a las fracciones 7°C y 3°C también fueron analizadas y de acuerdo con los resultados encontrados pueden considerarse como pertenecientes al tercer grupo. Es interesante destacar que estos tres grupos son coincidentes con los tres señalados al analizar el aumento del contenido de sólidos en cada fracción (**Figura 4**). El análisis de la **Figura 18** arroja como conclusión que los cortes obtenidos a mayor temperatura de fraccionamiento se enriquecen en triglicéridos de número equivalente de carbonos altos. En los cortes de menor temperatura de fraccionamiento son importantes los triglicéridos de ECN menor y las fracciones intermedias se enriquecen en los triglicéridos de tiempos de retención medio. Esto se pone claramente de manifiesto en las **Figuras 15 y 16**.

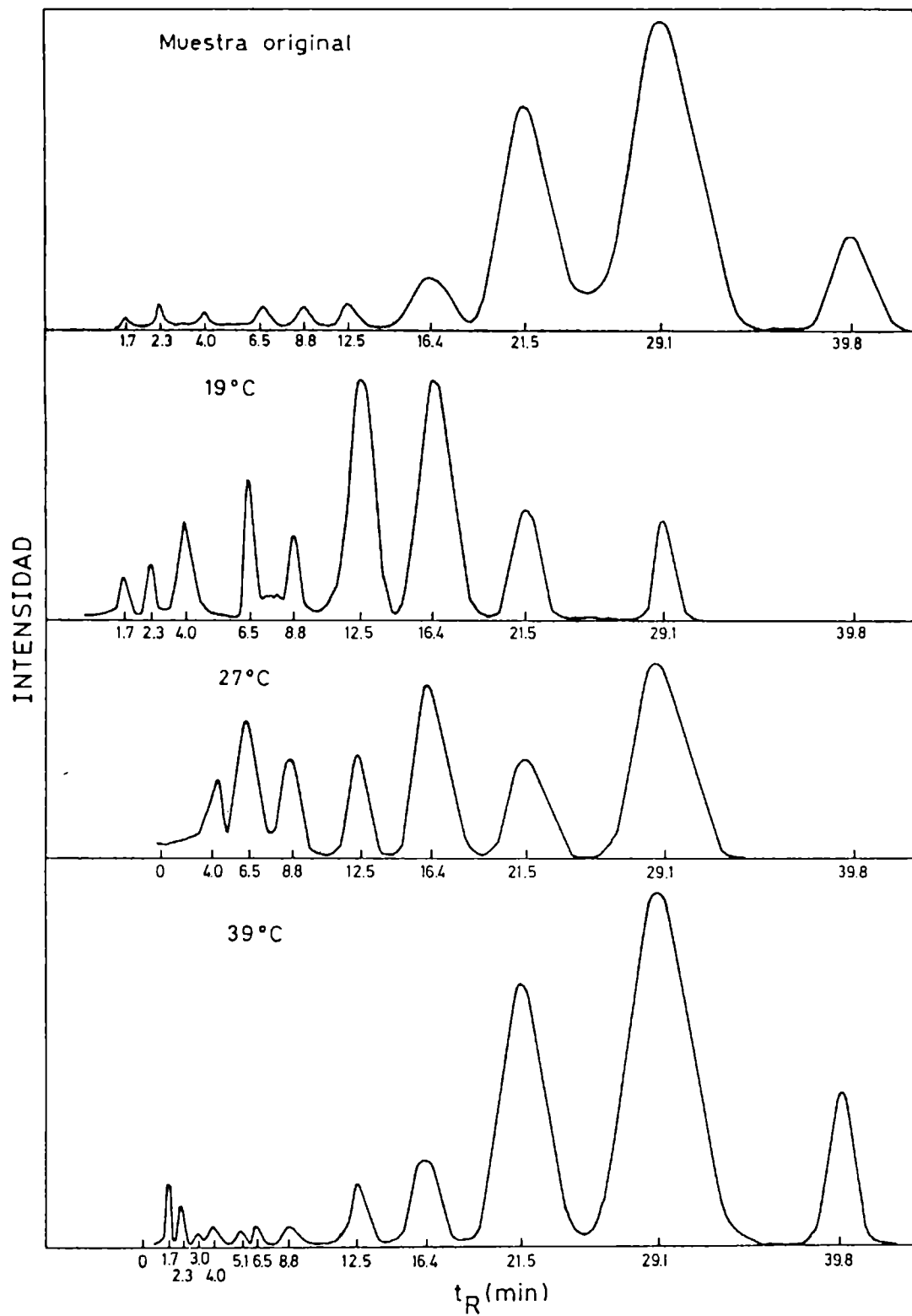


Figura 18. Cromatogramas de las muestras cristalizadas a 37°C, 29°C y 19°C y el correspondiente a la muestra original (Primera experiencia)

2.2.3 Resonancia magnética nuclear

Para verificar la composición química de las fracciones y la muestra original se realizaron estudios de resonancia magnética nuclear. En la Tabla 8 se resumen los resultados hallados tomando a modo de ejemplo una fracción de cada grupo según su composición en triglicéridos y la muestra original 2. Las fracciones de la primera experiencia así como la muestra original arrojaron resultados concordantes con los que se resumen a continuación.

Tabla 8

Resonancia magnética nuclear de las fracciones y la muestra original

Muestra	Número de protones olefinicos	Número de protones totales	PM medio	Indice de iodo
38°C	4	86	748,4	86
24°C	4	82	710,0	78
14°C	6	80	704,0	97
MO	4	86	740,0	68

MO muestra original

De acuerdo a los datos obtenidos la muestra original posee una composición semejante a las fracciones superiores, mientras que la muestra recogida a 14°C es más insaturada que las extraídas del filtro a 24°C y 38°C. Esto coincide con su mayor contenido en L00 y su menor contenido en S00 y S00.

2.2.4 Calorimetría diferencial de barrido

Todas las muestras obtenidas en estas experiencias fueron analizadas por calorimetría diferencial de barrido. Con el fin de presentar los resultados en forma clara se ha tomado como ejemplo una temperatura perteneciente a cada uno de los grupos diferenciados por su composición en triglicéridos. La Figura 19 muestra los termogramas de las muestras sólidas recogidas a 41°C, 31°C y 21°C en la primer experiencia y la Figura 20 los correspondientes a 38°C, 24°C y 14°C de la segunda experiencia. Todos los perfiles de las fracciones en ambas experiencias resultaron diferentes a los de la muestra original. Las muestras obtenidas a 38°C y 41°C tienen componentes con puntos de fusión mayores que las otras muestras. Al descender la temperatura de fraccionamiento los diagramas se van angostando. Las áreas de los picos de temperaturas más elevadas son mayores en las muestras del primer grupo y van disminuyendo al descender la temperatura. Esto coincide con el hecho que la composición en triglicéridos del primer grupo es rica en S00 y P00, la del segundo grupo en triglicéridos de tiempos de retención intermedios y las del tercer grupo en L00.

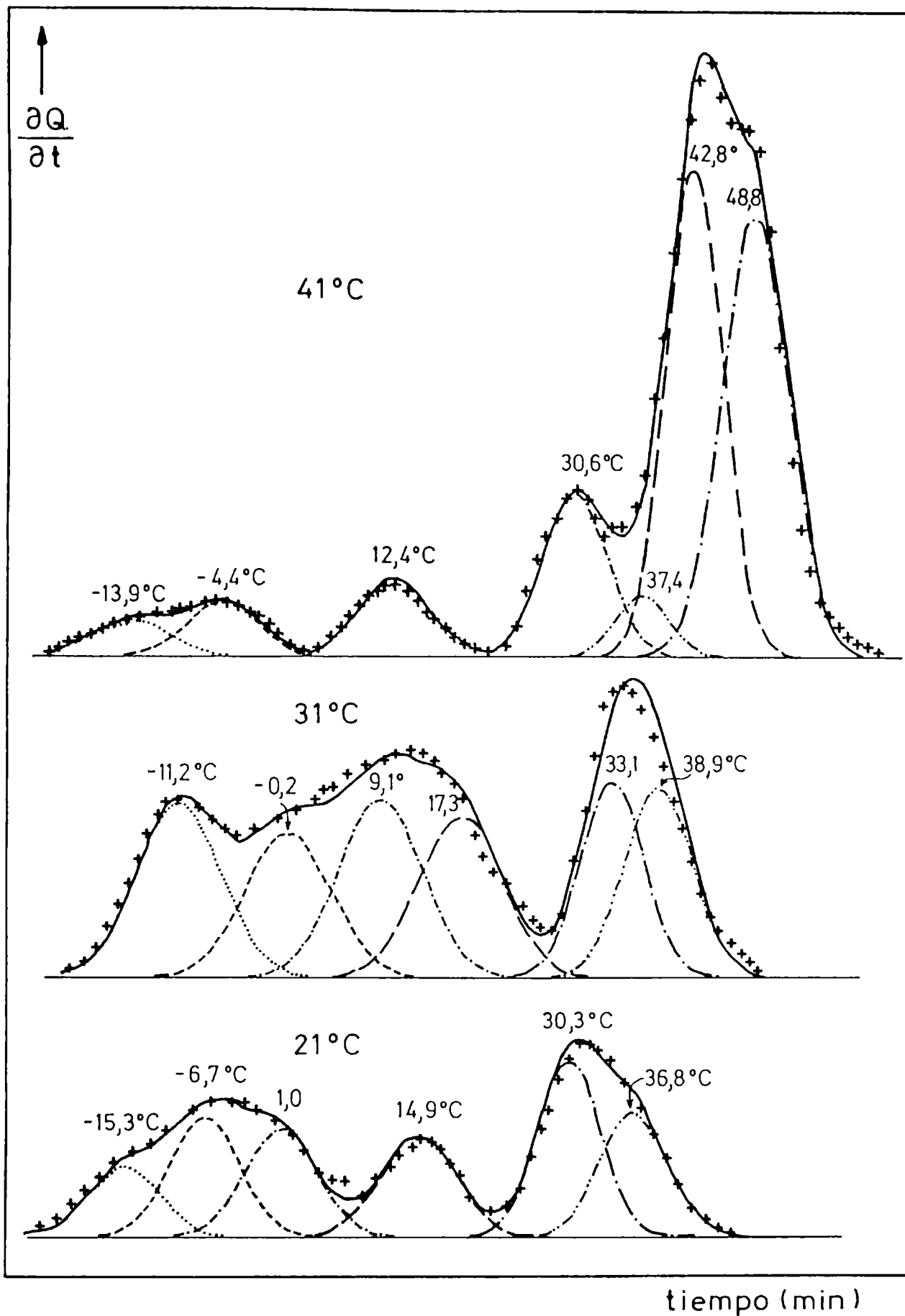


Figura 19. Termogramas interpretados matemáticamente correspondientes a las fracciones sólidas 41°C, 31°C y 21°C (Primera experiencia)

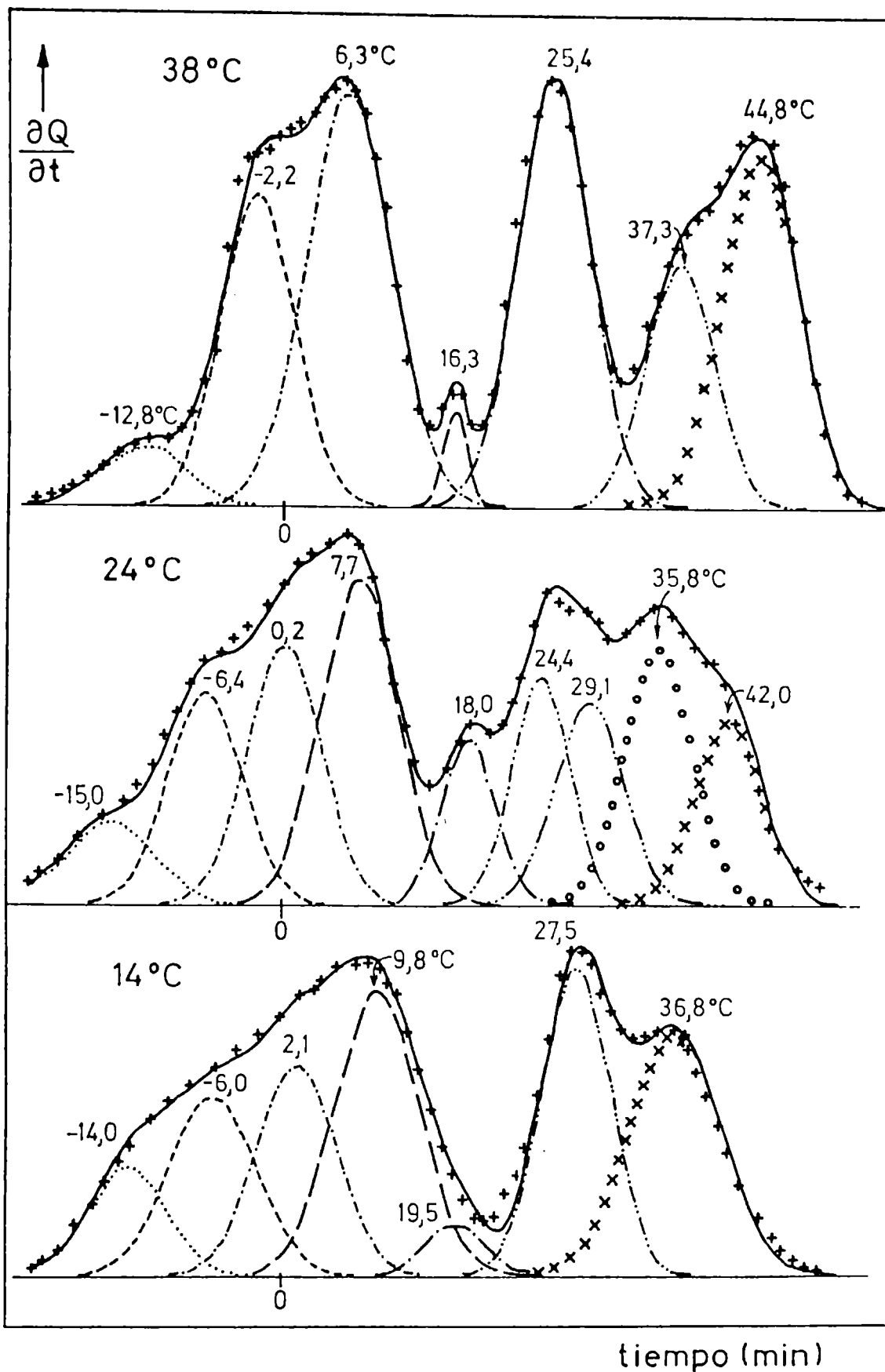


Figura 20. Termogramas interpretados matemáticamente correspondientes a las fracciones sólidas 38°C, 24°C y 14°C (Segunda experiencia)

Los termogramas fueron interpretados aplicando el modelo matemático citado anteriormente. En la primera experiencia la fracción extraída del filtro a 41°C presentó siete picos cuyas temperaturas fueron -13,9°C; -4,4°C; 12,4°C; 30,6°C; 37,4°C; 42,8°C y 48,8°C en porcentajes iguales a 3,5; 5,1; 6,4; 12,6; 4,5; 28,4 y 39,4 respectivamente. La fracción 31°C pudo ser interpretada mediante la suma de seis componentes de temperaturas de pico -11,2°C; -0,2°C; 9,1°C; 17,3°C; 33,1°C y 38,9°C y porcentajes 17,9; 15,4; 19,1; 16,4; 20,4 y 10,7. El termograma perteneciente a la fracción cristalizada a 21°C sugirió la presencia de seis picos de temperatura -15,3°C; -6,7°C; 1,0°C; 14,9°C; 30,3°C y 36,8°C y áreas iguales a 11,3%; 18,1%; 15,4%; 21,8%; 22,6% y 10,8%. Los constituyentes de 48,8°C y 42,8°C se encontraron sólo en las fracciones del primer grupo mientras que no se hallaron presentes en los otros dos grupos. Por otra parte las fracciones inferiores presentaron constituyentes con puntos de fusión menores que 0°C en porcentajes importantes.

En la segunda experiencia la fracción cristalizada a 38°C se interpretó como formada por siete constituyentes de punto de fusión -12,8; -2,2°C; 6,3°C; 16,3°C; 25,4°C; 37,3°C y 44,8°C y áreas por ciento 3,2; 16,8; 25,0; 1,5; 22,2; 11,6; y 19,7. La fracción 24°C presentó un perfil que sugirió la presencia de nueve componentes de temperatura de pico -15,0°C; -6,4°C; 0,2°C; 7,7°C; 18,0°C; 24,4°C; 29,1°C; 35,8°C y 42,0°C y áreas por ciento 6,0; 11,7; 14,4; 19,2; 6,3; 9,3; 11,1; 13,0 y 8,0. La fracción 14°C estaría formada por siete constituyentes de temperaturas de pico -14,0°C; -6,0°C; 2,1°C; 9,8°C; 19,5°C; 27,5°C y 36,8°C y áreas por ciento 7,4; 14,3; 16,2; 21,2; 2,0; 19,7 y 19,2. Las fracciones

del primer grupo presentaron un pico a $44,9^{\circ}\text{C}$ que resultó importante el que luego disminuyó en porcentaje al disminuir la temperatura no encontrándose por debajo de 24°C . A medida que la temperatura de cristalización fue descendiendo las fracciones presentaron menores contenidos de constituyentes con altos puntos de fusión y mayores cantidades de componentes insaturados.

Las entalpías de fusión de los constituyentes fueron calculadas según se explicó en Materiales y Métodos (sección 5.5). No siempre las entalpías para una misma temperatura de pico resultaron del mismo orden dado que todas las muestras diferían en composición química y posiblemente las solubilidades entre los distintos triglicéridos se vieran modificadas debido a esta diferencia en la composición, es decir que cada constituyente podría resultar formado por diferentes triglicéridos y la mezcla poseer idéntica temperatura de fusión. El cálculo de las entalpías totales arrojó los siguientes resultados: las fracciones extraídas en la primera experiencia a 41°C , 31°C y 21°C presentaron valores de 82,9; 85,7 y 67,1 Joule/g y las obtenidas en la segunda 82,9; 76,2 y 63,6 Joule/g. Las entalpías totales de las muestras descendieron al descender la temperatura de cristalización es decir que las muestras fraccionadas a menor temperatura se enriquecieron en triglicéridos insaturados los cuales poseen menores calores de fusión. La contribución a la entalpía total de los constituyentes de mayor punto de fusión fue superior en las fracciones de mayor temperatura de cristalización.

2.2.5 Difractometría de rayos X.

Las fracciones sólidas cristalizadas a 21/14, 31/24 y 41/38°C fueron estudiadas por difractometría de rayos X y comparadas con las muestras originales respectivas. En ambos casos las fracciones presentaron diferentes diagramas que las muestras originales. En la Figura 21 se muestran los diagramas correspondientes a las fracciones recogidas a 21°C, 31°C y 41°C (primera experiencia) y en la Figura 22 (a) los correspondientes a las muestras 14°C, 24°C y 38°C (segunda experiencia). Los diagramas correspondientes a las distintas fracciones fueron similares entre sí, presentando pequeñas diferencias en la importancia relativa de los picos. Las fracciones obtenidas a 21°C, 31°C y 41°C presentaron cristales tipo β' así también como las extraídas a 14°C, 24°C y 38°C. Este tipo de cristales era esperable ya que su filtración durante las experiencias de cristalización resultó fácil. La muestra obtenida a 14°C fue fundida y cristalizada en forma estática a esa temperatura, en este caso se formó una mezcla de cristales β' y β . En la Figura 22 (b) se presenta este diagrama. La diferencia entre una cristalización estática y una dinámica se pone aquí de manifiesto.

Cuando se intentó correlacionar los resultados hallados por cromatografía líquida de alta presión y por calorimetría diferencial de barrido (Resultados y Discusión sección 2.1.3) se sugirió que podían ocurrir cambios polimórficos durante la fusión de las mismas y obtener así un contenido de sólidos superior al real. Tanto los diagramas de rayos X de las muestras originales como los de las fracciones presentaron formas β' o mezclas β' - β . Según

estos diagramas no deberían esperarse transformaciones $\alpha \rightarrow \beta'$ o $\beta \rightarrow \beta'$. Sin embargo debido a la existencia de líquido ocluido por los cristales de grasa es posible que al llevar las muestras a $-40,0^\circ\text{C}$ (temperatura elegida como inicial en los termogramas) se formaran fases inestables que luego se transformarían en otras más estables. Para verificar esta suposición deberíamos tener la posibilidad de realizar diagramas de rayos X siguiendo la misma historia térmica que la empleada para obtener los termogramas.

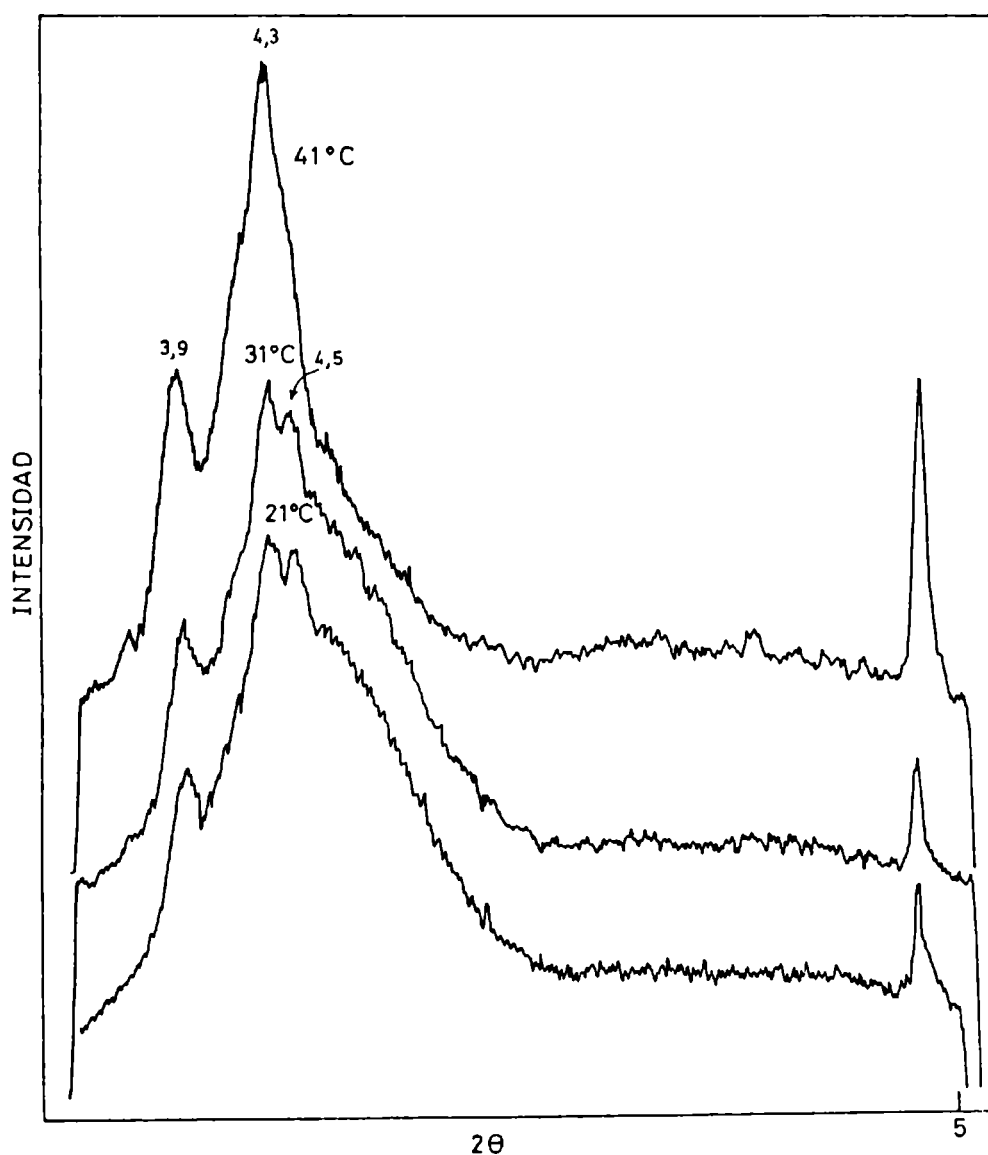
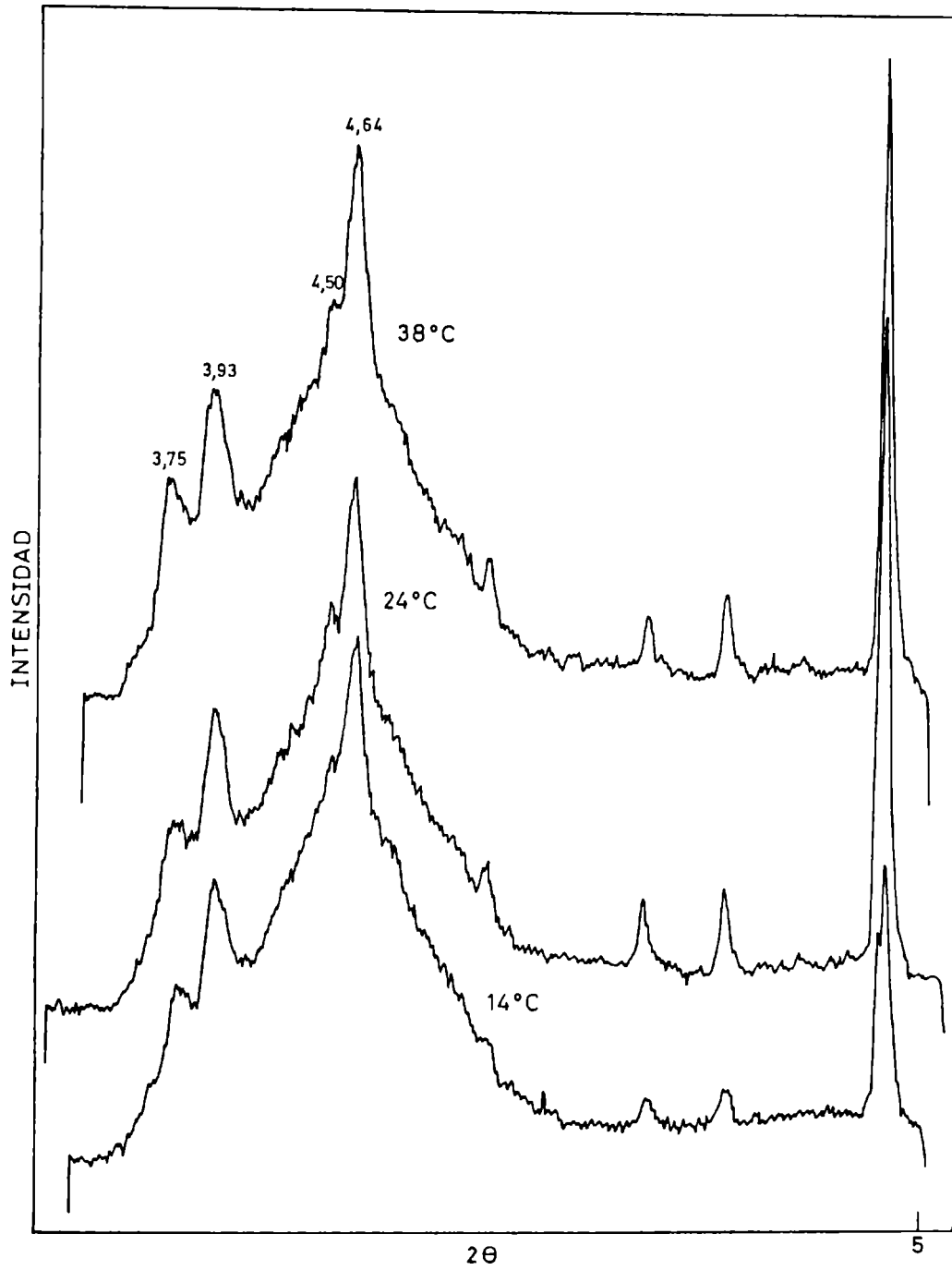
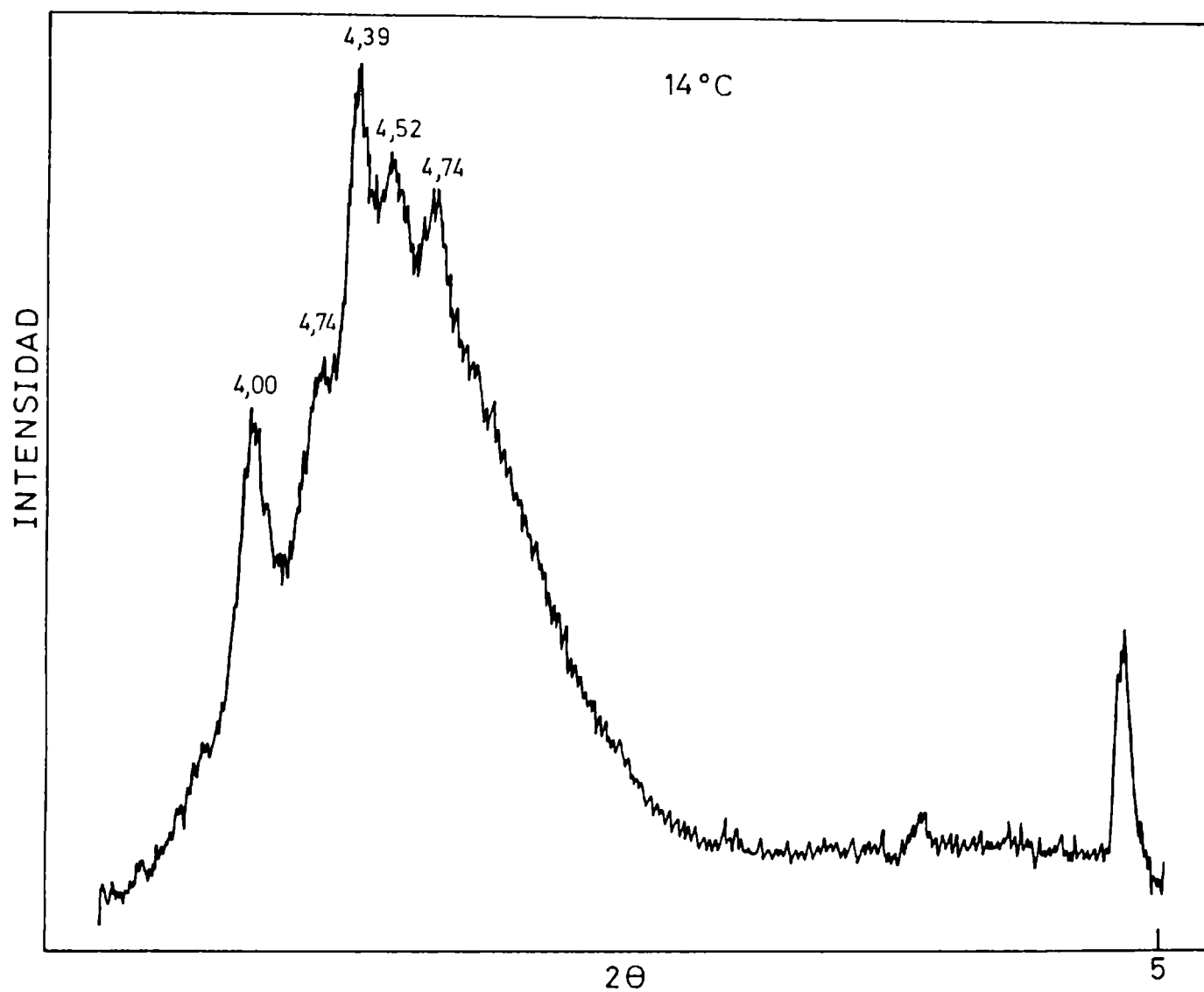


Figura 21. Espectros de rayos X de las muestras cristalizadas a 21°C , 31°C y 41°C (Primera experiencia).



(a)



(b)

Figura 22. Espectros de rayos X de las muestras cristalizadas a 38°C, 24°C y 14°C en forma dinámica (a) y de la muestra 14°C cristalizada en forma estática (b)

2.2.6 Espectroscopia Infrarroja.

Con el objeto de conocer el contenido en isómeros trans de las fracciones sólidas obtenidas en la experiencia de fraccionamiento se realizaron estudios de espectroscopia infrarroja. La **Figura 23** presenta tres espectros de infrarrojo pertenecientes a las muestras cristalizadas a 38°C, 24°C y 14°C (segunda experiencia). Las medidas de las áreas relativas señalan que la probabilidad de separar isómeros trans en los sólidos a las distintas temperaturas es del mismo orden 42,7%, 43,2% y 42,7% respectivamente. Sin embargo como habíamos explicado el contenido de ácido oleico decrece al descender la temperatura, es decir que la muestra cristalizada a 14°C presenta un contenido de isómeros trans menor que la cristalizada a 38°C. Esto es concordante con el hecho que el diagrama calorimétrico de la fracción sólida a 14°C no presenta componentes con puntos de fusión tan altos como los que se encuentran en la fracción 38°C. La temperatura de pico mayor registrada para la muestra cristalizada a 14°C es 36,8°C y para la muestra obtenida a 38°C es 44,9°C. Cuando se analizaron las muestras obtenidas en la primer experiencia se encontraron resultados similares.

Si no existiera un contenido tan elevado de ácido elaidico en las muestras sólidas no sería posible justificar los puntos de fusión encontrados por calorimetría diferencial de barrido. De acuerdo a la composición en triglicéridos propuesta por nosotros no debería haber componentes con puntos de fusión mayores de 30°C si todos los ácidos grasos fueran cis. Para ejemplificar el rol que juega una insaturación en la disminución del punto de fusión

tomemos el ejemplo del triglicérido POP. El mismo funde a temperatura ambiente, 40°C antes que PPP; es decir que el reemplazo de un ácido palmítico por un ácido oleico puede modificar en forma notoria la temperatura de fusión. El triglicérido EEE funde a 42,0°C; SSE y SEE entre 42,0°C y 73,0°C. Es por esta razón que se encuentran constituyentes con temperaturas superiores a 30°C en porcentajes importantes.

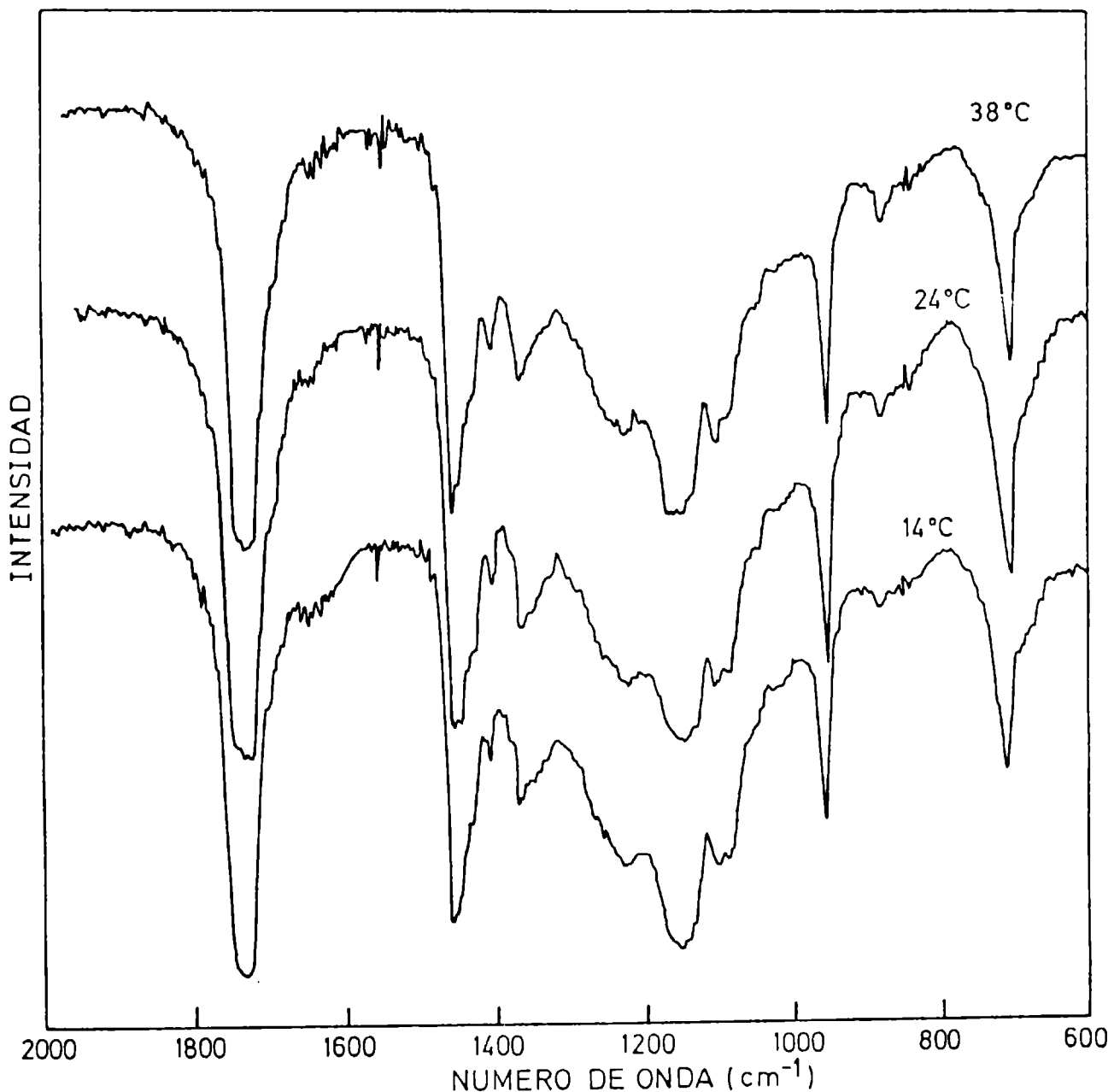


Figura 23. Espectros de infrarrojo de las fracciones sólidas cristalizadas a 38°C, 24°C y 14°C (Segunda experiencia).

2.3 Caracterización de las fracciones líquidas.

Con el objeto de completar el estudio sobre el fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado se procedió a analizar las fracciones líquidas empleando las mismas técnicas que para caracterizar las muestras originales y las fracciones sólidas. Todos los resultados que se presentan a continuación están referidos a la segunda experiencia.

2.3.1 Determinación cuantitativa de ácidos grasos por cromatografía gaseosa.

En la Figura 24 se ha graficado el porcentaje de cada ácido graso en función de la temperatura de cristalización. Las muestras líquidas mostraron hasta la fracción de 22°C un incremento del ácido palmítico respecto de la muestra original y por debajo de esta temperatura una pequeña disminución alcanzando en la fracción colectada a 12°C valores de 8,3%. El ácido esteárico para la fracción de 38°C se encontró en un valor del orden de la muestra original y luego disminuyó paulatinamente al descender la temperatura de fraccionamiento. Para la fracción de 12°C se registró un valor de 8,2%. El ácido oleico se halló en un porcentaje similar al de la muestra original en la fracción de 38°C; en el resto de las fracciones descendió al disminuir la temperatura. Para la fracción de 12°C el contenido resultó ser 65,2%. El ácido linoleico comenzó con valores semejantes al de la muestra original y se incrementó al descender la temperatura de fraccionamiento

llegando en la fracción de 12°C a un valor de 19,9%.

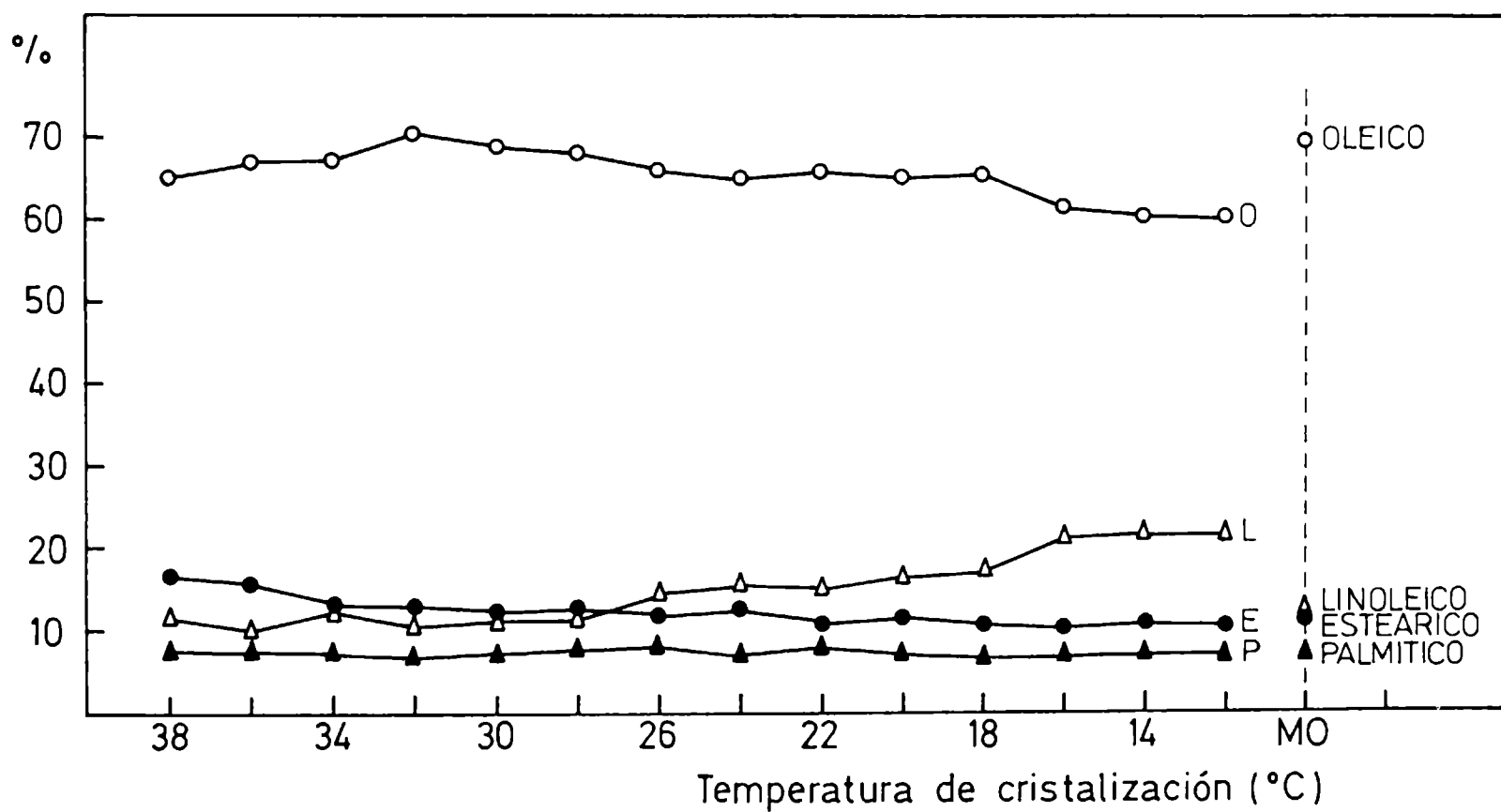


Figura 24. Porcentaje de cada ácido graso en función de la temperatura de cristalización.

La comparación entre los contenidos de ácidos grasos entre sólidos y líquidos pone de manifiesto que el ácido palmítico se encontró en cantidades iguales en sólidos y líquidos hasta la fracción de 22°C a partir de la cual se ve una pequeña disminución en las fracciones líquidas respecto de los sólidos. El contenido de ácido esteárico para todas las temperaturas fue mayor en las fracciones sólidas que en las líquidas. A modo de ejemplo en la fracción de 38°C el ácido esteárico representó el 16,3% en el sólido y el 11,3% en el líquido, mientras que en la fracción de 12°C se encontró 10,6% en el sólido y 8,2% en el líquido. La cantidad de ácido oleico presente en las fracciones líquidas colectadas a 12°C, 14°C y 16°C es superior al de las fracciones sólidas en aproximadamente 8,4%. Para las otras temperaturas las fracciones líquidas muestran un incremento pequeño respecto de las sólidas. El ácido linoleico se halla incrementado en la fracción líquida con respecto a la sólida correspondiente a la misma temperatura de cristalización, exceptuando las fracciones de 12°C, 14°C y 16°C. Las diferencias que se observaron entre sólidos y líquidos son las esperadas.

2.3.2 Determinación cuantitativa de triglicéridos por cromatografía líquida de alta presión.

Los resultados hallados al analizar los cromatogramas de las muestras líquidas se resumen en la Tabla 9. En el caso de los líquidos al igual que en los sólidos son pocos los triglicéridos presentes en porcentajes superiores al 10%.

Tabla 9

Composición porcentual en triglicéridos de las fracciones líquidas correspondientes a la segunda experiencia

Temp (°C)	Tiempos de retención (min).								
	4,0	5,1	6,5	8,8	12,5	16,4	21,5	29,1	39,8
38	<1,0	<1,0	1,1	2,8	18,3	39,7	29,4	6,6	<1,0
36	<1,0	<1,0	1,0	2,8	18,4	39,9	29,4	6,4	<1,0
34	<1,0	1,2	1,3	2,8	18,4	40,2	29,4	6,1	<1,0
32	<1,0	<1,0	1,5	2,8	18,5	40,3	29,2	6,0	<1,0
30	<1,0	<1,0	1,1	2,8	18,6	40,4	29,3	5,9	<1,0
28	<1,0	1,1	1,1	2,7	18,6	40,5	29,4	5,8	<1,0
26	<1,0	<1,0	<1,0	2,6	19,2	42,0	29,6	5,9	<1,0
24	<1,0	<1,0	2,0	2,1	18,6	41,0	29,1	5,7	<1,0
22	<1,0	1,1	1,2	2,0	18,6	41,2	30,0	5,7	<1,0
20	<1,0	1,5	1,1	1,8	18,5	41,4	30,1	5,7	<1,0
18	<1,0	1,1	1,4	1,7	18,3	41,4	30,2	5,7	<1,0
16	<1,0	1,1	1,4	1,6	18,2	41,5	30,1	5,5	<1,0
14	<1,0	<1,0	1,8	1,4	18,1	41,7	30,4	5,5	<1,0
12	<1,0	<1,0	1,0	1,0	18,1	42,1	30,9	5,6	<1,0

Al igual que se ha explicado cuando se analizaron los cromatogramas de los sólidos cabe señalar que cada uno de los picos asignado a un triglicérido mayoritario puede contener otros en

pequeñas cantidades.

S00: este triglicérido presentó un valor de 6,6% a 38°C y luego descendió en un 1% a lo largo de las fracciones registrándose en un 5,6% a 12°C.

P00: este triglicérido se encontró a 38°C en porcentajes de 29,4% y luego aumentó al disminuir la temperatura de cristalización hasta llegar a 30,9% a 12°C.

O00: su contenido a 38°C fue de 39,7% aumentando al disminuir la temperatura de fraccionamiento alcanzando a 12°C valores de 42,1%.

L00: a 38°C se presentó en un 18,3%; al descender la temperatura de cristalización y hasta 26°C fue aumentando y alcanzó un valor de 19,2%. Por debajo de la mencionada temperatura disminuyó hasta 18,1% a 12°C.

LLP: comenzando con el contenido hallado para la muestra original (2,8%) disminuyó al descender la temperatura de fraccionamiento en un 1,8% presentando a 12°C un valor de 1,0%.

LLO: permanece constante en un porcentaje pequeño, alrededor del 1%.

En la **Tabla 9** se ve claramente que los cambios en la composición química de los líquidos son extremadamente pequeños. Si tenemos en cuenta que al finalizar el fraccionamiento solo se han

retirado 7Kg de los 27Kg que se cargaron al tanque del equipo fraccionador y que los cambios en los sólidos si bien son más notorios son graduales es esperable este resultado.

El ácido graso esteárico probablemente forme parte del triglicérido SOL de igual tiempo de retención que POO por lo que eluirían como un único pico. Así en sólidos y líquidos podría modificarse las proporciones en que estos triglicéridos están presentes. En nuestros cromatogramas no fueron detectados triglicéridos formados por ácido esteárico en porcentajes significativos. Esto coincide con el hecho que se registraron porcentajes menores de ácido esteárico en los líquidos.

Comparando los resultados hallados para sólidos y líquidos se puede destacar que en los líquidos partiendo de la composición original los contenidos de triglicéridos se modificaron ligeramente mientras que en los sólidos en las fracciones superiores y hasta 30°C se registró un enriquecimiento en los triglicéridos de ECN mayor con respecto al resto de los triglicéridos componentes de las fracciones. Por debajo de dicha temperatura en cambio se incrementaron los triglicéridos con menores ECN. Por otra parte el comportamiento presentado por los distintos triglicéridos a lo largo del fraccionamiento resultó diferente. Mientras que en los sólidos POO disminuyó al descender la temperatura de cristalización en los líquidos presentó un ligero aumento. Así mismo en las fracciones sólidas OOO aumentó hasta 30°C y por debajo de dicha temperatura descendió en tanto que en los líquidos se encontró un paulatino aumento al descender la temperatura. LLP aumentó en los sólidos y disminuyó en los líquidos mientras que LOO aumentó en los sólidos a todas las temperaturas y en los líquidos hasta

26°C; por debajo de esta temperatura los líquidos registraron un descenso del 1%. S00 en cambio presentó la misma tendencia en sólidos y líquidos, disminuyó al descender la temperatura de cristalización.

2.3.3 Resonancia magnética nuclear

Las fracciones líquidas al igual que las sólidas fueron caracterizadas mediante esta técnica. En la Tabla 10 se resumen los resultados arrojados al estudiar las fracciones de 38°C, 24°C y 14°C pertenecientes a cada uno de los grupos señalados.

Tabla 10

Resonancia magnética nuclear de las fracciones 38°C, 24°C y 14°C

Muestra	número de protones olefinicos	número de protones totales	PM medio	Indice de iodo
38°C	4	86	746	68
24°C	4	80	708	84
14°C	6	78	700	101

Las muestras líquidas presentaron un peso molecular medio inferior que los sólidos cristalizados a la misma temperatura en todas las fracciones. Así mismo el índice de iodo también resultó superior es decir que los líquidos poseen un contenido mayor de ácidos grasos insaturados. Si comparamos los líquidos entre si podemos destacar que a 14°C el contenido de ácidos grasos insaturados debe ser superior que a 38°C. Esto es concordante con el hecho que el ácido linoleico se incrementa notoriamente al descender la temperatura. Como era de esperar el número de protones totales disminuye al aumentar el número de protones olefínicos.

2.3.4 Calorimetría diferencial de barrido.

La Figura 25 presenta tres diagramas correspondientes a la muestra original, la fracción sólida a 38°C y la fracción líquida colectada a la misma temperatura correspondientes a la segunda experiencia de fraccionamiento. Tanto el diagrama del sólido como el del líquido son diferentes al de la muestra original. Dado que a 38°C se extrajeron del filtro 333,0 g y en el tanque se cargaron 27 Kg de aceite hidrogenado era de esperar que el perfil de la muestra líquida colectada a 38°C fuera similar al de la muestra original. Sin embargo la extracción selectiva de triglicéridos de mayor punto de fusión de la mezcla produjo pequeños cambios en la curva de fusión. De ahí la diferencia que se observa entre ambos perfiles.

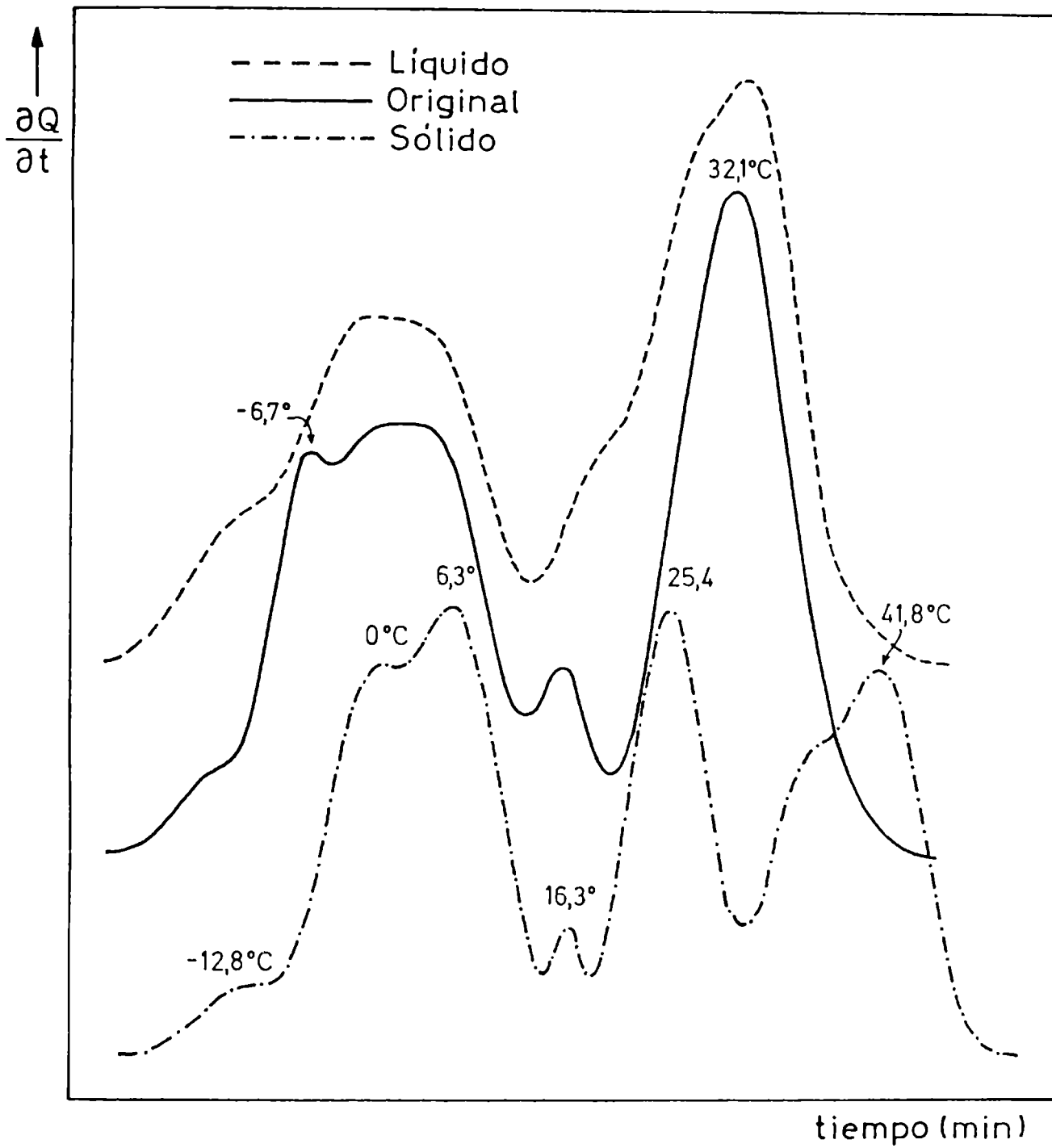


Figura 25. Ternogramas de la muestra original y las fracciones líquidas y sólidas a 38°C correspondientes a la segunda experiencia de fraccionamiento

No se obtuvieron ni para las fracciones sólidas ni para las líquidas diagramas de fusión aguda que presentaran rangos de 2°C de ancho, es decir que la fusión se produjera en los intervalos de temperaturas seleccionados en resultados y discusión sección 2. El fraccionamiento de girasol hidrogenado no arrojó los mismos resultados que se obtienen cuando se fracciona aceite de palma en el siguiente sentido: si la temperatura de cristalización seleccionada resultó por ejemplo ser 20°C, sería esperable que la fracción sólida presente constituyentes que fundan por encima de esa temperatura y la fracción líquida componentes que fundan por debajo. Sin embargo, las muestras sólidas mostraron perfiles similares a la muestra original en las temperaturas por debajo de la de cristalización y se vieron enriquecidas en sólidos por encima de dicha temperatura mientras que las muestras líquidas presentaron porcentajes bajos de triglicéridos de puntos de fusión superiores a la temperatura de fraccionamiento. El hecho que los sólidos contengan triglicéridos de menor punto de fusión que la temperatura de cristalización puede deberse a que dada la similitud de tamaño y naturaleza electroquímica de las moléculas de triglicéridos, triglicéridos de menor punto de fusión ocupen sitios en la red sustituyendo a otros de mayor punto de fusión. Además la fase sólida puede retener líquido el cual puede ser responsable de los picos de menor temperatura de fusión observados.

La Tabla 11 muestra los porcentajes de líquido correspondientes a la muestra original y a las fracciones sólidas y líquidas obtenidas a 14°C, 24°C y 38°C a diferentes temperaturas. Esta tabla fue construida integrando el área bajo la curva en los termo-

gramas hasta las temperaturas que allí figuran suponiendo que el calor intercambiado representa sólo la fusión de diferentes constituyentes. El contenido de sólidos a una determinada temperatura es mayor siempre en la fracciones sólidas que en las líquidas correspondientes y comparando las fracciones sólidas entre sí se encuentra que especialmente las de mayor temperatura están enriquecidas en sólidos respecto de las cristalizadas a temperaturas menores. Las fracciones pertenecientes al primer grupo poseen un contenido de sólidos mayor que la muestra original.

Tabla 11

Porcentaje de aceite líquido en sólidos, líquidos y muestra original

Temp (°C)	Porcentaje de aceite líquido en cada fracción						
	MO2	S38	L38	S24	L24	S14	L14
0,0	20,8	13,3	20,4	24,9	29,0	28,2	34,0
5,0	37,9	31,3	36,3	35,2	31,6	43,2	45,4
10,0	41,8	35,0	39,7	39,7	44,3	48,5	62,6
15,0	52,5	45,0	50,6	43,5	59,5	59,0	78,4
20,0	53,3	55,4	54,7	53,7	74,1	59,9	82,4
25,0	55,0	57,6	59,9	55,0	79,7	66,5	86,3
30,0	73,0	59,8	75,8	62,1	82,5	72,3	94,6
35,0	82,0	60,2	86,0	72,3	94,1	89,0	89,9
40,0	84,2	61,0	88,6	84,4	98,8	---	---

En la Figura 26 se presentan los termogramas interpretados por computadora pertenecientes a los líquidos colectados a 14°C, 24°C y 38°C. La fracción 38°C se interpretó con seis constituyentes de temperaturas de pico -11,9°C; -1,7°C; 6,7°C; 20,9°C; 28,3°C y 34,8°C con áreas por ciento iguales a 9,0; 18,5; 17,1; 10,6; 18,0 y 26,8. La fracción 24°C se ajustó sumando seis constituyentes de temperaturas de pico -13,8°C; -5,1°C; 5,5°C; 14,1°C; 28,3°C y 34,9°C y áreas por ciento 7,5; 11,5; 26,3; 31,8; 11,1 y 11,8. La fracción 14°C resultó la suma de seis componentes de temperatura de pico -16,9°C; -7,8°C; 0,9°C; 8,8°C; 23,6°C; 29,8°C y áreas por ciento 7,9; 14,6; 22,9; 34,1; 9,8 y 10,7. Las fracciones sólidas dieron diagramas más anchos que los líquidos a la misma temperatura y a medida que la temperatura de cristalización fue disminuyendo los diagramas de los sólidos se fueron angostando hasta llegar a ser menores que en la muestra original.

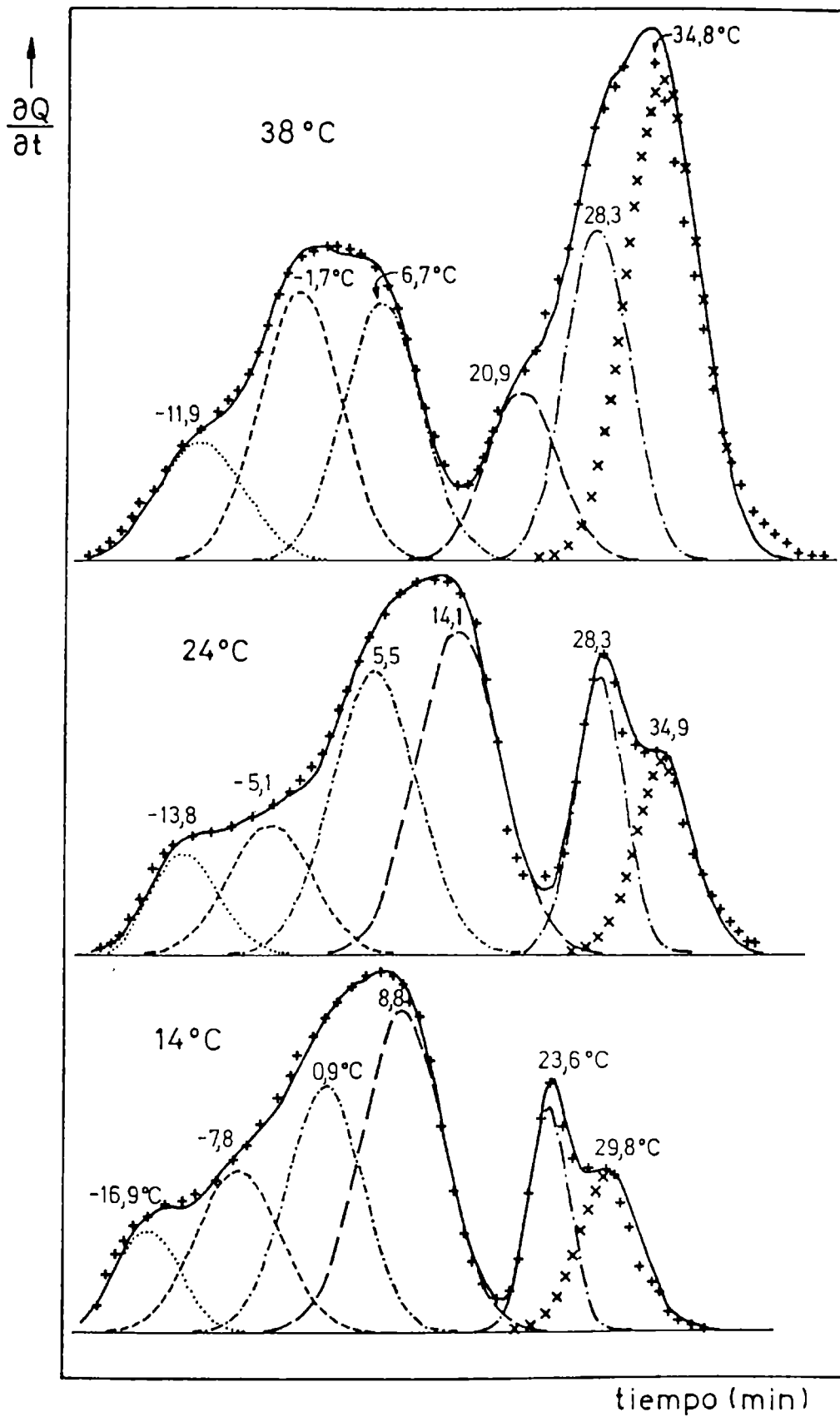


Figura 26. Ternogramas correspondientes a las fracciones liquidas colectadas a 38°C, 24°C y 14°C interpretados por computadora.

Las entalpías de cada constituyente y las entalpías totales de las muestras se calcularon como se explicó previamente (Materiales y Métodos sección 5.5). Las entalpías totales para las fracciones 38°C, 24°C y 14°C resultaron ser 79,5; 63,0 y 54,8 Joule/g.

La comparación entre estos valores y los hallados para los sólidos permite destacar que las muestras sólidas tienen entalpías totales mayores que las líquidas a la misma temperatura. A medida que la temperatura fue menor las entalpías totales descendieron. Esto habla de triglicéridos más saturados y formas cristalinas de mayor estabilidad en los sólidos y en las fracciones de temperaturas superiores.

2.3.5 Espectroscopia infrarroja

Resulta llamativo el hecho que una variación pequeña en las concentraciones de los triglicéridos constituyentes determine una variación tan marcada en la consistencia. Las fracciones sólidas tenían la consistencia de sólidos amorfos y los líquidos una apariencia similar al aceite. En el proceso de hidrogenación se ve favorecida la formación de isómeros trans. Por lo tanto en el aceite hidrogenado resultante tendremos una mezcla de isómeros geométricos de los ácidos oleico y linoleico que se distribuirán de diferente manera en los sólidos que en los líquidos. Si tenemos presente que los puntos de fusión de los isómeros del ácido oleico cis (13,4°C α ; 16,3°C β) y del trans (44,5°C) difieren en 20°C y los correspondientes al ácido linoleico (isómero cis -5,2°C a

-5,0°C y trans 28°C a 29°C) en aproximadamente 33°C, de acuerdo a la distribución de estos isómeros esperamos diferentes puntos de fusión para las fracciones. Los líquidos presentaron espectros infrarrojos diferentes a los sólidos: un pico de absorción de los isómeros cis ancho y un pico agudo de isómeros trans. Este pico se encontró en un 24,1% a 38°C y luego descendió al descender la temperatura a valores de 21,9% y 19,7% a 24°C y 14°C (Figura 27). La disminución en el contenido de isómeros trans es en realidad mayor que la que surge de estos valores ya que debemos considerar que al descender la temperatura de fraccionamiento el contenido de ácido oleico decrece de fracción en fracción.

Si comparamos los valores encontrados para líquidos y sólidos es claro el menor contenido de isómeros trans presentes en los líquidos. Es decir que en los sólidos fuimos retirando selectivamente los isómeros de mayor punto de fusión enriqueciéndose los líquidos remanentes en isómeros cis. Esto es concordante con lo observado cuando se analizaron estas muestras por calorimetría diferencial de barrido. Las muestras líquidas según se explicó presentaron diagramas de fusión más angostos y pocos constituyentes por encima de la temperatura de fraccionamiento, es decir presentaron componentes con menores puntos de fusión.

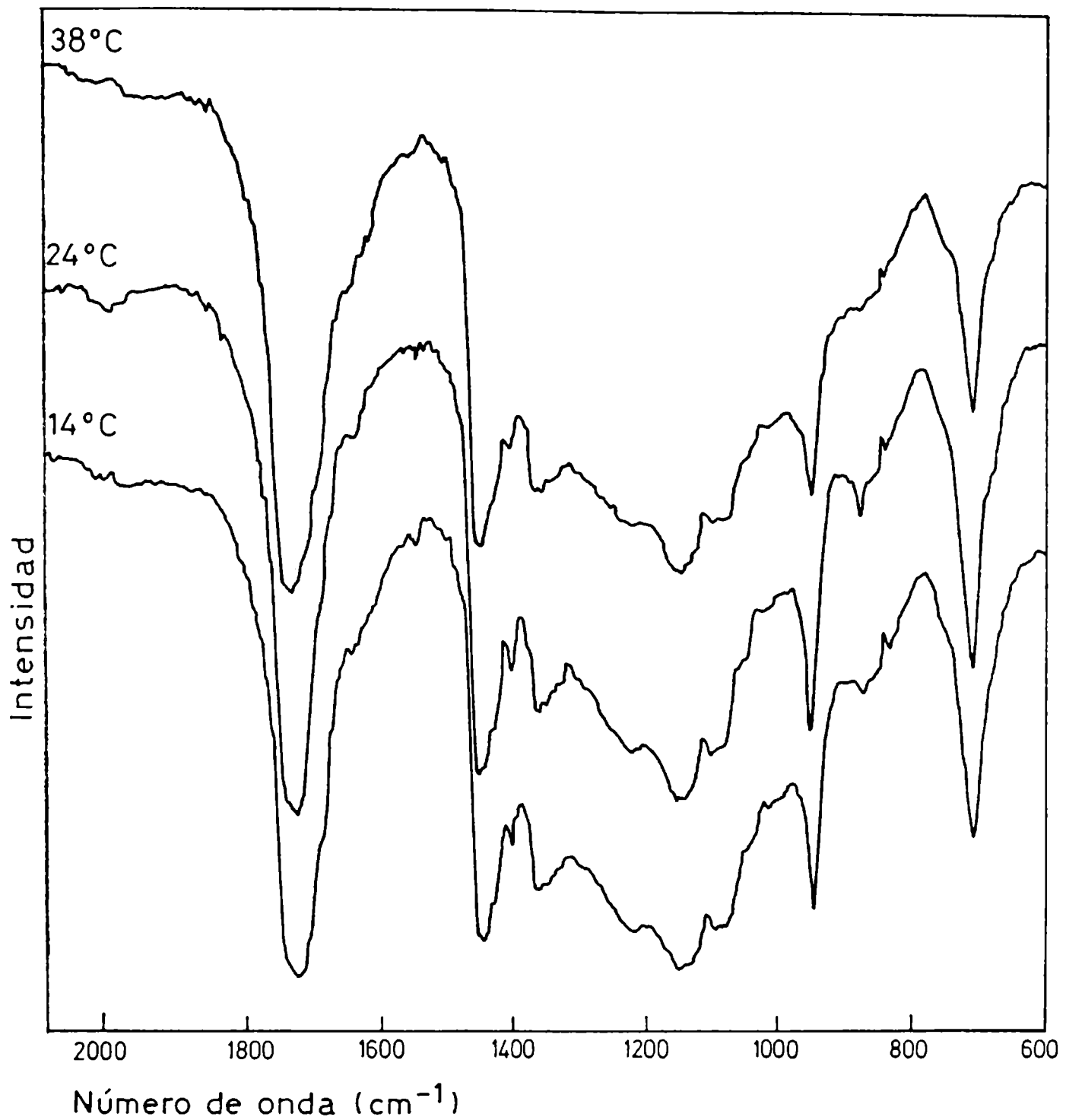


Figura 27. Espectros de infrarrojo de las muestras líquidas colectadas a 38°C, 24°C y 14°C (Segunda experiencia)

3- EQUILIBRIOS SOLIDO-LIQUIDO.

El sistema que estamos analizando posee por lo menos cinco componentes cuya concentración es superior al 3%. Las condiciones elegidas de trabajo nos permiten tratar al sistema como si estuviera en equilibrio termodinámico ya que se realizó una cristalización lenta dando tiempo suficiente a los triglicéridos para difundir entre el sólido y el líquido. En este sistema de dos fases debe cumplirse para cada temperatura que:

$$m_s + m_l = M_T \quad (13)$$

donde

m_s es la masa de la fase sólida

m_l es la masa de la fase líquida

M_T es la masa total cargada en el tanque

y para cada componente:

$$\sum_{T=T_i}^{T_c} m_{sT} X_{sT} + m_l X_l = M_T X_o \quad (14)$$

donde

X_{sT} es el porcentaje del componente en la fase sólida en un rango de 2°C

m_{sT} es la masa extraída en dicho intervalo

X_l es el porcentaje del componente en la fase líquida a la temperatura de cristalización

X_o es el porcentaje del componente en la muestra original.

y que

$$\sum_{S=1}^n X_{ST} = 1 \quad (15)$$

y

$$\sum_{I=1}^n X_{I1} = 1 \quad (16)$$

definimos el coeficiente de partición K_P como

$$K_P = \frac{\sum_{T=T_i}^{T_c} m_{ST} X_{ST}}{m_1 X_1} \quad (17)$$

El numerador de la ecuación (17) resulta igual a la masa total de sólido a la temperatura de cristalización seleccionada por la concentración que tendría dicho sólido si se hubiera fraccionado el total de la masa cargada al tanque a cada una de las temperaturas elegidas.

De la ecuación (14) podemos despejar esta concentración:

$$X_{STc} = \frac{M X_0 - m_1 X_1}{m_{STc}} \quad (18)$$

y de la ecuación (17) obtenemos la relación

$$K_P = \frac{X_{STc} \quad m_1 X_1}{m_{STc}} \quad (19)$$

reemplazando (19) en (18) y reordenando

$$X_{\text{STc}} = \frac{M X_o}{m_{\text{STc}}} \left(\frac{K_P}{K_P + 1} \right) \quad (20)$$

De la misma manera podemos encontrar para los líquidos una expresión similar:

$$X_l = \frac{M X_o}{m_l} \left(\frac{K_P}{K_P + 1} \right) \quad (21)$$

Con los valores de K_P y conociendo la masa total cargada al tanque y la composición de la muestra original se puede encontrar para cada temperatura un contenido de sólidos tal que los valores de concentración calculados cumplan con (15). Por ejemplo si calculamos las masas de S00, P00, 000, L00 y LLP a 31°C con estas ecuaciones encontramos valores de 3765,5g; 966,3g; 581,1g; 109,5g y 66,3g respectivamente. De los datos experimentales para esta misma temperatura los valores hallados son 3896,4g; 952,6g; 593,7g; 257,1g y 140,1g. Los primeros tres triglicéridos se encuentran en cantidades superiores al 10% en las muestras mientras que los dos últimos en porcentajes menores que el 5%. El modelo predice con una muy buena aproximación los contenidos de triglicéridos mayoritarios.

La Tabla 12 resume los K_p para los triglicéridos LLP, LOO, OOO, POO y SOO. El triglicérido SSO sólo se encontró en porcentajes mayores al 3% en los sólidos. Los triglicéridos de tiempos de retención inferiores a LLP no fueron importantes ni en los sólidos ni en los líquidos. El estudio se realizó considerando igual respuesta al detector de los cinco triglicéridos y que cada pico se encuentra formado por un sólo triglicérido. En este tipo de sistema la técnica de cromatografía líquida de alta presión empleada por nosotros no es capaz de separar isómeros geométricos, importante a tener en cuenta dada la historia previa de las muestras.

Los valores de K_p son semicuantitativos ya que los porcentajes de las áreas se calcularon como ya se explicó trazando perpendiculares a la línea de base dividiendo picos solapados (Frede y Thiele, 1988). En la Figura 28 se representa la relación de partición en función de la temperatura de fraccionamiento. Puede verse que estas relaciones aumentan al disminuir la temperatura de cristalización con diferentes pendientes, es decir el sólido se enriquece en SOO respecto del líquido en mucho mayor grado que en LOO, OOO y POO y el contenido de LLP crece en el sólido cristalizado a 12°C respecto del sólido a 38°C en forma notable.

Tabla 12

Relaciones de partición para los triglicéridos LLP, L00, 000, P00 y S00

Temp. (°C)	Tiempos de retencion (min)				
	8,8	12,5	16,4	21,5	29.1
38	0,012	0,001	0,006	0,011	0,067
36	0,026	0,011	0,016	0,028	0,124
34	0,045	0,029	0,029	0,049	0,189
32	0,061	0,048	0,048	0,071	0,250
30	0,082	0,062	0,067	0,095	0,299
28	0,170	0,102	0,102	0,133	0,365
26	0,312	0,143	0,139	0,170	0,426
24	0,624	0,203	0,190	0,215	0,519
22	0,769	0,221	0,202	0,228	0,538
20	0,945	0,246	0,218	0,243	0,569
18	1,051	0,258	0,228	0,252	0,582
16	1,259	0,278	0,238	0,262	0,638
14	1,561	0,300	0,248	0,270	0,656
12	2,876	0,332	0,264	0,282	0,671

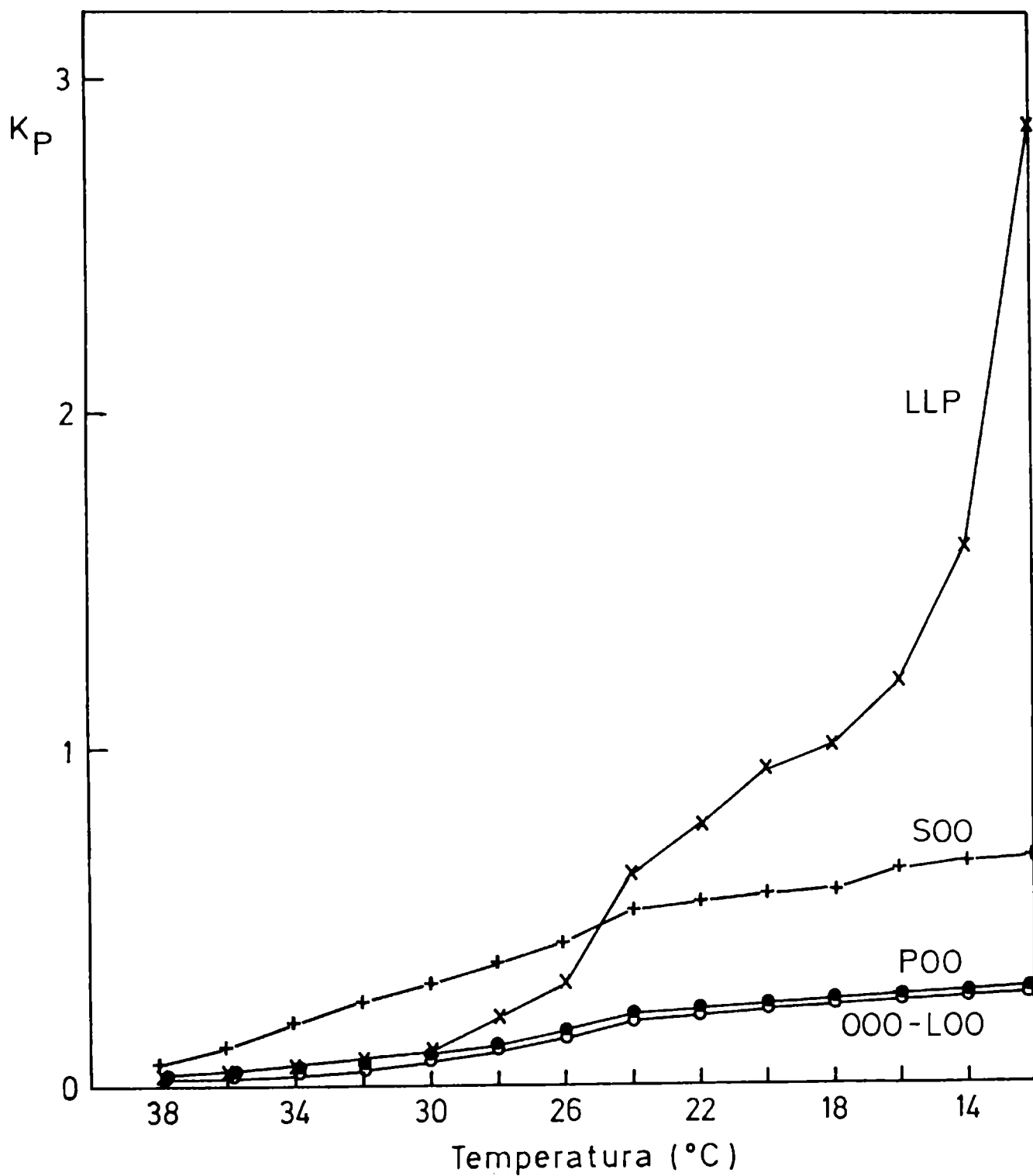


Figura 28. Relaciones de partición en función de la temperatura de cristalización correspondientes a los triglicéridos S00, P00, 000, L00 y LLP

4. INFLUENCIA DE LA VELOCIDAD DE ENFRIAMIENTO

El aceite de girasol hidrogenado como se explico anteriormente está constituido por una mezcla de triglicéridos que no cristalizan como un compuesto simple. En ambas muestras originales se presentaron más de un componente con diferentes puntos de fusión. Cuando se fundió SSS de 99,95 % de pureza (Sigma) se encontró un único pico a 71,3°C. Si este compuesto se enfriaba a una velocidad de 10°C/min aparecían dos picos a 59,5°C y 71,5°C. El pico encontrado inicialmente corresponde a la forma β ; los picos hallados posteriormente a las formas β' y β . Bajo estas condiciones el polimorfismo puede ser puesto de manifiesto. Por otra parte si se funden mezclas de SSS y AAA la solubilidad relativa cambia con las proporciones elegidas pudiendo encontrarse uno o dos picos. Por esta razón en todas las fracciones el comportamiento térmico resultó ser muy complicado dadas las distintas interacciones que se producen en los triglicéridos al cambiar su solubilidad con la composición química. Todo esto sugiere que la estabilidad de los cristales no depende sólo de la disposición de los triglicéridos en el cristal (forma cristalina) sino también de la cantidad y calidad de los mismos.

Con el objeto de estudiar la influencia de la velocidad de enfriamiento las distintas fracciones fueron fundidas a 80°C y posteriormente enfriadas con velocidad lineal o con velocidades exponenciales. La muestra enfriada con velocidad lineal fue la fracción de 37°C correspondiente a la primer experiencia de fraccionamiento. 15 mg de esta muestra se colocaron en una cápsula de aluminio sellada y se programó el calorímetro diferencial de

barrido con velocidades de 0,5°C/min y 20°C/min. Las muestras enfriadas con velocidades exponenciales se colocaron en un criostato en el cual circulaba etilenglicol a -30°C. Los tubos correspondientes a la velocidad rápida se sumergieron desnudos en el fluido y se registraron los cambios de temperatura con una termocupla. Los tubos correspondientes a velocidades lentas se recubrieron con dos gruesas coberturas de goma y se sumergieron en el fluido registrándose en igual forma las temperaturas. Las muestras así tratadas fueron las colectadas a 41°C, 35°C, 23°C y 13°C correspondientes a la primer experiencia y las extraídas del filtro a 36°C, 26°C y 16°C correspondientes a la segunda. Las constantes de velocidad de enfriamiento fueron calculadas con la ecuación 12 (Resultados y Discusión sección 1). Se hallaron valores del orden de 10^{-1} seg^{-1} para las fracciones enfriadas rápidamente y del orden de 10^{-3} seg^{-1} para las enfriadas lentamente.

Los resultados obtenidos se resumen en las Tablas 13, 14 y 15. La Tabla 13 corresponde a la muestra enfriada en forma lineal. La fracción cristalizada a 37°C presentó cinco soluciones sólidas diferentes en ambos casos (enfriamiento lento y rápido). La muestra enfriada rápidamente presentó un incremento del tercer pico respecto de la enfriada lentamente y una disminución del primer pico y del segundo. Las entalpías totales de estas muestras resultaron de 60,5 Joule/g y 60,7 Joule/g para las muestras enfriadas a 0,5°C/min y 20°C/min respectivamente, es decir se encontraron valores del mismo orden. Estos valores resultan ser inferiores a los informados en la sección 2.2.3 para las fracciones sólidas superiores. Esto se debe a que en estas experiencias las corridas calorimétricas se comenzaron a 0°C mientras que cuando se anali-

zaron las fracciones se comenzó a -40°C .

Tabla 13

Fracción 37°C enfriada con velocidad lineal

(1)

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	6,8	14,4	20,3	27,1	36,1
Area de pico(%)	11,9	23,7	9,3	33,5	21,7
ΔH (Joule/g)	7,2	14,4	5,4	20,4	13,1

(2)

Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	5,8	12,2	20,4	28,3	35,7
Area de pico(%)	5,5	17,3	18,2	35,5	23,6
ΔH (Joule/g)	3,3	10,5	11,1	21,5	14,3

(1) Fundida a 80°C , enfriada a $0,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y luego calentada de 0°C a 80°C a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$

(2) Fundida a 80°C , enfriada a $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ y luego calentada de 0°C a 80°C a $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$

Las Tablas 14 y 15 corresponden a las muestras enfriadas en forma exponencial (primera y segunda experiencia respectivamente). Los valores de la Tabla 14 presentan también otros cambios. Además de lo ya explicado hay una disminución en el área del cuarto pico en las muestras enfriadas rápidamente respecto de las lentas y un corrimiento de los puntos de fusión hacia temperaturas menores. Esto nos dice que al aumentar la velocidad de cristalización el tiempo para reacomodarse en la forma más estable fue insuficiente. Los estudios realizados por difracción de rayos X no permitieron ver diferencias entre las fracciones rápidas y las lentas. Ambas presentaron diferentes tipos de cristales β' . Cuando se calcularon las entalpías totales de estas muestras se encontraron valores de 29,4; 38,7; 20,0 y 16,3 Joule/g para las muestras enfriadas lentamente y 71,6; 45,5; 40,3 y 32,4 para las enfriadas rápidamente.

Tabla 14

Fracciones 41°C, 35°C, 31°C y 21°C enfriadas con velocidad exponencial

Temp.

41	T	10,0	17,8	25,6	31,0	36,5
	A	4,7	24,2	33,0	33,1	5,1
	ΔH	1,4	7,1	9,7	9,7	1,5
35	T	7,8	16,5	22,9	31,8	
	A	26,8	18,8	24,0	30,4	
	ΔH	12,5	0,9	11,2	14,1	
31	T	6,0	13,3	22,2	28,1	
	A	10,8	27,3	24,2	30,9	
	ΔH	4,7	0,7	6,4	8,2	
21	T	6,5	13,6	22,0	27,7	
	A	17,5	20,9	26,7	34,9	
	ΔH	2,8	3,4	4,4	5,7	

T Temperatura de cristalización (°C)

A Area de pico (%)

ΔH entalpias de pico (Joule/g)

(a) Lentamente. Velocidad de enfriamiento 10^{-3} seg^{-1}

Temperatura final 0°C

Temp.

41	T	9,6	17,0	26,5	31,6	35,5
	A	7,7	17,3	46,0	25,7	3,3
	ΔH	5,5	12,3	33,0	18,4	2,4
35	T	6,4	17,5	24,2	31,7	
	A	13,5	17,5	38,6	30,5	
	ΔH	6,1	7,9	17,6	13,9	
31	T	5,4	13,3	19,2	25,0	
	A	9,5	24,4	42,1	23,9	
	ΔH	3,8	10,0	18,9	9,6	
21	T	4,6	10,4	14,7	21,0	
	A	6,4	15,2	41,3	37,1	
	ΔH	2,1	4,9	13,4	12,0	

T Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

A Area de pico (%)

ΔH entalpias de pico (Joule/g)

(b) Rápidamente. Velocidad de enfriamiento 10^{-1} seg^{-1}

Temperatura final 0°C

Las muestras pertenecientes a la segunda experiencia enfriadas rápidamente presentaron todas cinco soluciones sólidas (Tabla 15) al igual que las enfriadas lentamente con excepción de la

muestra colectada a 36°C que presentó seis. Las muestras enfriadas rápidamente presentaron picos con temperaturas de fusión menores a las enfriadas lentamente. Las muestras lentas presentaron picos de temperatura de fusión cercana a la de cristalización en porcentajes mayores mientras que en las rápidas el último pico representó siempre el porcentaje mayor. Las muestras obtenidas en el equipo fraccionador resultaron poseer perfiles más semejantes a las fracciones cristalizadas lentamente lo cual era esperable. Cuando se calcularon las entalpías totales de las muestras se encontraron valores de 49,2; 48,6 y 41,3 Joule/g para las muestras enfriadas rápidamente y 53,3; 55,9 y 41,4 Joule/g para las muestras enfriadas lentamente. Tanto aquí como en el caso de enfriamiento con velocidad lineal los valores encontrados para ambas velocidades resultaron del orden.

Tabla 15

Fracciones 36°C, 26°C y 16°C enfriadas con velocidad exponencial

Temp.

36	T	5,1	10,3	18,8	23,5	29,7
	A	10,3	15,2	13,5	27,0	34,0
	ΔH	5,1	7,5	6,6	13,3	16,7
26	T	5,0	10,1	18,8	25,0	31,1
	A	9,2	12,4	18,5	29,2	30,7
	ΔH	4,5	6,0	9,0	14,2	14,9
16	T	4,7	10,0	18,2	24,2	30,2
	A	10,3	14,1	19,1	29,6	26,9
	ΔH	4,3	5,8	7,9	12,2	11,1

(a) Rápidamente. Iguales condiciones que las empleadas para enfriar las muestras que figuran en la Tabla 14. T, A y ΔH poseen el mismo significado.

Temp.

36	T	7,5	13,2	23,1	29,8	35,1	40,4
	A	16,1	12,3	12,7	27,4	18,7	12,7
	ΔH	8,6	6,6	6,8	14,6	10,0	6,7
26	T	6,0	10,5	18,9	26,7	33,2	
	A	15,6	15,4	17,4	39,7	11,8	
	ΔH	5,9	5,7	11,2	25,5	7,6	
16	T	7,1	11,8	19,6	25,9	31,6	
	A	21,5	11,4	18,9	31,5	16,7	
	ΔH	8,9	4,7	7,8	13,1	6,9	

(b) Lentamente. Iguales condiciones que las empleadas para enfriar las muestras que figuran en la tabla 14

Si bien los constituyentes de las distintas muestras fueron ordenados en columnas, los diferentes picos posiblemente no posean idéntica composición química en todas las fracciones ya que cuando se analizaron las mismas así como se extrajeron del tanque estas presentaron triglicéridos en porcentajes diferentes. En las tablas presentadas puede verse que los picos de menor temperatura presentan entalpías menores que los de mayor temperatura. Por esta razón podríamos esperar que los triglicéridos insaturados de menor calor de fusión fueran los responsables de los primeros picos y los triglicéridos saturados de los otros.

Schlichter y colaboradores (1988) han señalado que para una sustancia dada existe usualmente una relación lineal entre las

temperaturas de fusión y sus correspondientes entalpías. Sin embargo a ciertas velocidades de enfriamiento las entalpías observadas son menores que las esperadas. A velocidades de cristalización lentas los valores de las entalpías no se incrementan como una función de los puntos de fusión. Esto puede deberse a que no se obtenga una forma polimórfica definida o a que durante la cristalización ocurra segregación. En nuestro sistema nosotros no encontramos linealidad entre puntos de fusión y entalpías. La **Tabla 16** resume las temperaturas, áreas por ciento y entalpías halladas cuando se fundió a diferentes velocidades la fracción de 26°C (segunda experiencia). La **Figura 29** compara las interpretaciones hechas en la computadora de los termogramas empleados para construir la **Tabla 16**. Se observa como habíamos mencionado que los valores de las entalpías no se incrementan como una función de la temperatura. Por otra parte los puntos de fusión de los tres primeros constituyentes son mayores en las fracciones fundidas y enfriadas con velocidades de 2°C, 5°C y 20°C que en la muestra extraída del tanque mientras que los dos picos de temperaturas superiores tienen puntos de fusión inferiores. Las entalpías de cada constituyente en las distintas muestras son diferentes. Dado que la composición química de todas las muestras es la misma, cada solución sólida estaría formada por diferentes triglicéridos en distintas proporciones según la posibilidad de difundir de los distintos triglicéridos.

Tabla 16

Calorimetria diferencial de barrido de la fracción 26°C asi como fue obtenida y fundida y enfriada a distintas velocidades

Temp.

26	T	3,8	10,4	16,2	27,5	33,7
	A	7,2	25,7	21,1	24,2	19,9
	ΔH	3,3	11,8	9,7	11,1	9,2
26	T	5,8	12,3	18,6	24,6	32,4
Enf.a	A	11,3	25,3	10,7	26,2	26,5
2°C/min	ΔH	5,8	13,0	5,5	13,4	13,6
26	T	6,8	12,4	19,4	25,5	32,1
Enf.a	A	16,3	14,8	18,4	21,5	29,0
5°C/min	ΔH	7,6	6,9	8,6	10,0	13,5
26	T	6,2	12,2	19,0	25,8	32,4
Enf.a	A	4,8	17,0	23,7	29,8	24,7
20°C/min	ΔH	2,4	8,6	12,0	15,1	12,6

T Temperatura (°C)

A Area de pico (%)

ΔH entalpias de pico (Joule/g)

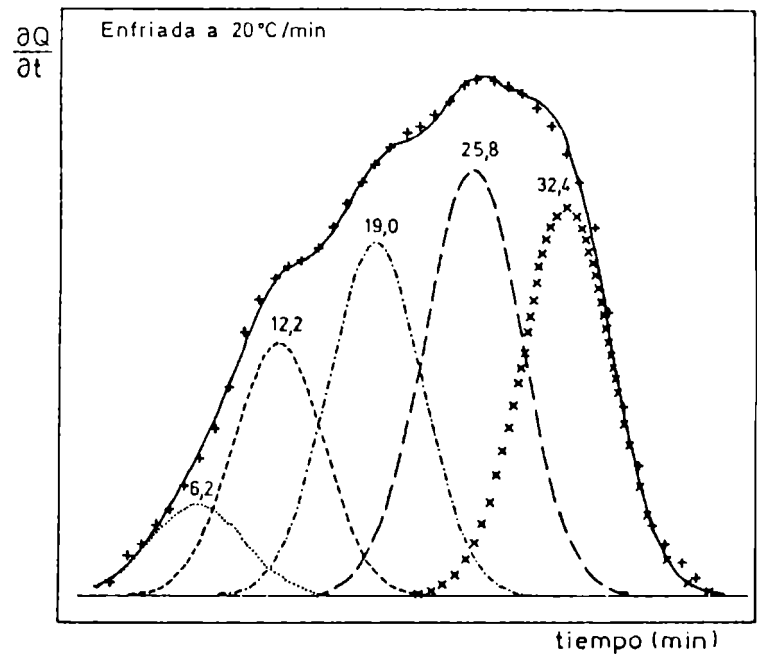
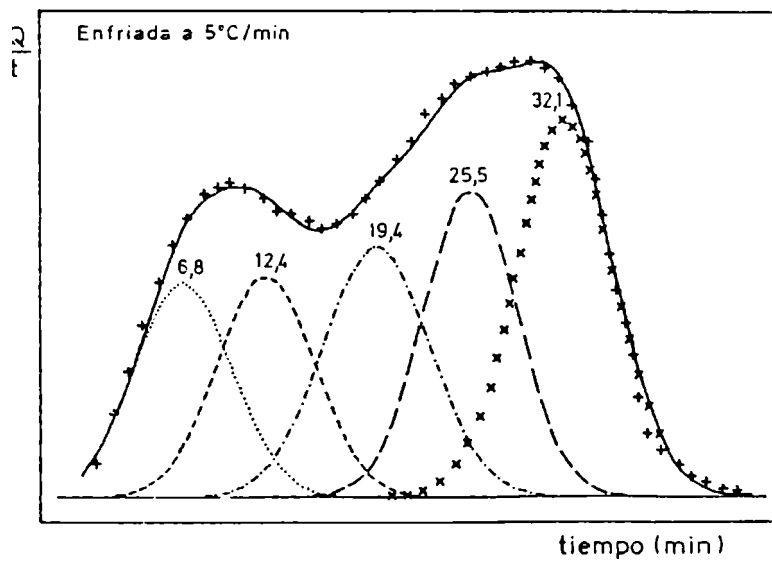
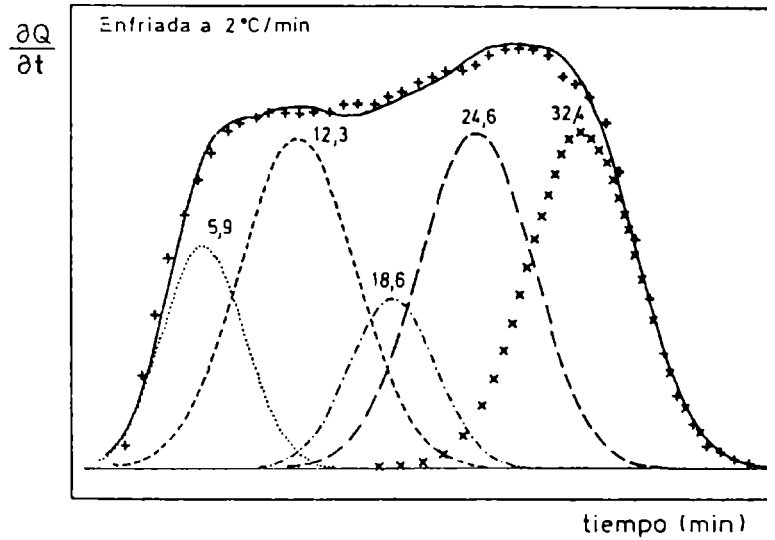
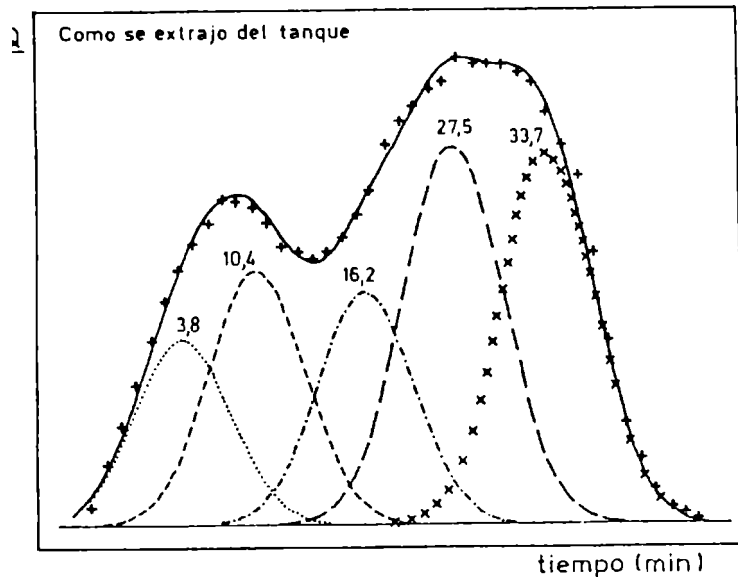


Figura 29. Interpretación por computadora de los termogramas de la muestra 26°C como se extrajo del tanque y fundida y enfriada a distintas velocidades

Conclusiones

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que:

-la cristalización fraccionada permite la separación de mezclas de triglicéridos complejas tales como los aceites hidrogenados.

-los cortes sólidos obtenidos a temperaturas superiores a 31°C están constituidos principalmente por triglicéridos de número equivalente de carbonos alto (SSO, SOO, POO). Alrededor del 40% de estos triglicéridos son isómeros trans. Cuando se estudiaron estas muestras por calorimetría diferencial de barrido los isómeros cis y trans de estos triglicéridos presentaron puntos de fusión muy diferentes apareciendo como dos constituyentes en el termograma mientras que en el cromatograma eluyen en un único pico. Los diagramas calorimétricos de estas muestras resultaron más anchos que los correspondientes a las fracciones sólidas obtenidas a menores temperaturas observándose una contribución mayor a la endoterma total de los constituyentes de mayor punto de fusión.

-los cortes sólidos obtenidos entre 31°C y 23°C presentaron triglicéridos con tiempos de retención intermedios especialmente se enriquecen en el triglicérido OOO. Si bien el porcentaje de isómeros trans es del mismo orden que el del grupo anterior los contenidos de ácido oleico fueron menores; por consiguiente la masa de isómeros trans en este grupo resultó inferior al anterior. Los diagramas calorimétricos presentaron porcentajes menores de componentes de alto punto de fusión.

-las muestras obtenidas por debajo de 23°C presentaron contenidos altos de triglicéridos de número equivalente de carbonos menor, en

este grupo se registró un incremento importante de ácido linoleico. Si bien el contenido de isómeros trans resultó importante los diagramas calorimétricos fueron más angostos y las entalpías totales menores que las de las muestras incluidas en los otros grupos.

-las muestras líquidas presentaron mayores contenidos en sus triglicéridos de ácidos grasos insaturados que los detectados en las fracciones sólidas cristalizadas a la misma temperatura. Partiendo de la composición en triglicéridos de la muestra original se registraron cambios pequeños y graduales. Los porcentajes de isómeros trans resultaron mucho menores que en los sólidos. En concordancia con esto los diagramas calorimétricos obtenidos fueron más angostos y las entalpías totales menores que en los sólidos correspondientes.

Los equilibrios planteados entre sólidos y líquidos nos permiten calcular con una aproximación razonable la composición aproximada en triglicéridos a partir de un contenido de sólidos dado. De lo expuesto surge que en el fraccionamiento de aceite de girasol hidrogenado los sólidos retienen una porción de líquido debido a:

-que dada la naturaleza electroquímica y tamaño similar de los triglicéridos, triglicéridos insaturados o isómeros cis ocupen sitios en la red correspondientes a triglicéridos saturados o isómeros trans.

-los cristales de grasa pueden retener líquido en su estructura.

Bibliografia

Abu-Hadeed A.M. and A.R. Kotb, A Method for the Quantitative Determination of Individual Oils in a Blend, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:1922 (1988).

Amer M.A., D.B. Kupranycz and B.E. Baker, Physical and Chemical Characteristics of Butterfat Fractions Obtained by Crystallization from Motten Fat, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:1551 (1985).

Apraiz Barreiro J., Tratamientos térmicos de los aceros, Editorial Dossat, Madrid (1964).

Arul J., A. Boudreau, J. Makhlof, R. Tardif and T. Bellavia, Fractionation of Anhydrous Milk Fat by Short-Path Distillation, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:1642 (1988).

Azoury R., J.S. Aronhime, S. Sarig, S. Abrashkin, I. Mayer and N. Garti, NMR Relaxation Studies to Explore the Role of Emulsifier in Tristearin Polymorphic Transformation, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:964 (1988).

Bailey A.E., Melting and Solidification of Fats, Intersec. Publ. Pag 4, New York (1950).

Bociek S.M., S. Ablett and I.T. Norton, A ¹³C-NMR Study of the Crystal Polymorphism and Internal Mobilities of the Triglycerides, Tripalmitin and Triestearin, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:1261 (1985).

Chapman D., Infrared Spectra and the Polymorphism of Glycerides. Part III. Palmitodistearins and Dipalmitostearins, J. Chem. Soc. 2715 (1957).

Chapman D., The 720 cm^{-1} Band in the Infrared Spectra of Crystalline Long-Chain Compounds, J. Chem. Soc. 4489 (1957).

Chapman D., Infrared Spectroscopic Characterization of Glycerides, J. Am. oil Chem. Soc. 37:73 (1960).

Charbonnet G.H. and W.S. Singleton, Thermal Properties of Fats and Oils. VI Heat capacity, Heats of Fusion and Transition, and Entropy of Trilaurin, Trimyristin and Tristearin, J. Am. Oil Chem Soc. 24:140 (1947).

Chikamy B., Los procesos de cristalización de las grasas y su papel en la producción de margarinas I, Olaj, Szappan, Kozmetika 1:102 (1965).

Chikamy B., Los procesos de cristalización de las grasas y su papel en la producción de margarinas II, Olaj, Szappan, Kozmetika 2:9 (1966).

Chikamy B., Los procesos de cristalización de las grasas y su papel en la producción de margarinas III, Olaj, Szappan, Kozmetika 3:52 (1967).

- Dafner J.R., Polymorphism Behavior in Fully Hydrogenated Mono Acid Triglycerides, J. Am. Oil Chem. Soc. 54:249 (1977).
- Deffense E., Fractionation of Palm Oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:376 (1985).
- Deroanne C., Contribution à l'étude de la cristallisation des glycérides. Application au fractionnement de l'huile de palme, Thèse de Doctorat, Facultés des Sciences Agronomiques de l'Etat, Gembloux, Belgique (1974).
- Deroanne C., Structure Studies on the Triglycerides of Palm Oil Fractions. I- Development of a Method of Analysis for Triglycerides of the Solid and Liquid Palm Oil Fractions, Revue Francaise des Corps Gras 22:599 (1975).
- Deroanne C., Structure Studies on the Triglycerides of Palm Oil Fractions. II- Development of a Method of Analysis for Triglycerides of the Solid and Liquid Palm Oil Fractions, Revue Francaise des Corps Gras 22:11 (1975).
- Deroanne C., Triglyceride Structure of Fractionated Palm Oil. I- The Course of Triglyceride Crystallization during Cooling of Palm Oil for the Tirtiaux Fractionation Process, Revue Francaise des Corps Gras 23:1 (1976).

Deroanne C., Triglyceride Structure of Fractionated Palm Oil. II- The Course of Triglyceride Crystallization during Cooling of Palm Oil for the Tirtiaux Fractionation Process, Revue Francaise des Corps Gras 23:27 (1976).

Deroanne C., La filtration dans le raffinage et le fractionnement des Corps Gras, Symposium International, C.E.R.I.A. Bruxelles, 28-29, avril, 1976.

Deroanne C., Le Polymorphisme et le Fractionnement Sans Solvant de l'Huile de Palme son Influence sur la Filtration, 13ème Congrès Mondial de l'I.S.F. Marseille, Septembre 1976.

Deroanne C., Characterization of the Intersolubility of the Glycerides of Palm Oil, Lebensm. Wiss. U. Technol. 9:304 (1976).

Deroanne C., Differential Scanning Calorimetry, its Practical Interest for the Fractionation of Palm Oil and the Determination of the Solid Fat Index, Lebensm. Wiss. U. Technol. 10:251 (1977).

Deroanne C., La double cristallisation de l'huile de palme mise en evidence par diffracton des rayons X et analyse calorimetrique differentielle, Journal of Thermal Analysis 11:109 (1977).

Diccionario Enciclopédico Monitor, Editorial Salvat, Londres, 1960.

Dimick P.S. and D.M. Manning, Thermal and Compositional Properties of Cocoa Butter During Static Crystallization, J. Am. Oil Chem. Soc. 64:1663 (1987).

Done J.N. J.H. Knox and J. Loheac, Applications of High-Speed Liquid Chromatography, John Wiley and sons Ltd, England, 1974.

Dong and Di Cesare, Improved Separation of Natural Oil Triglycerides by Liquid Chromatography Using Columns Packed with 3 Micrometres Particles, J. Am. Oil Chem. Soc. 60:788 (1983).

Donovan J.W. and K.D. Ross, Iron Binding to Conalbumin, Journal of Biological Chemistry 250:6026 (1975).

Drachmann A.G., Ancient Oil Mills and Presses, Kgl Danske Videnskabernes Selskab, Copenhagen, 1932.

Eckey E.W., Vegetable Fats and Oils, Reinhold Pub. Corp., New York, 1954.

Frede E. and H. Thiele, Analysis of Milkfat by HPLC, J. Am. Oil Chem. Soc. 64:521 (1987).

Garti N. and K. Sato, Effects of Surfactants on Transition Kinetics of Stearic Acid Polymorphs, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:236 (1986).

Garti N., J. Schlichter and S. Sarig, Effect of Food Emulsifiers on Polymorphic Transitions of Cocoa Butter, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:230 (1986).

Graciani Constante E., Caracterización del aceite de oliva virgen español. I-Estudio de las variables que intervienen en la separación de sus triacilgliceroles por cromatografía líquida de alta eficacia, Grasas y aceites 38:286 (1987).

Gibon V., F. Durant and C. Deroanne, Polymorphism and Intersolubility of Some Palmitic, Stearic and Oleic Triglycerides PPP, PSP and POP, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:1047 (1986).

Glastone S., Tratado de química física, Aguilar, New York, 1949.

Haighton A.J., Blending, Chilling and Tempering of Margarine and Shortenings, J. Am. Oil Chem. Soc. 53:397 (1976).

Hamilton R.J. and Bhati A., Fats and Oils: Chemistry and Technology, Applied Science Publishers, London, 1980.

Hampson J.W. and H.L. Rothbart, Triglyceride Specific Heat Determined by Differential Scanning Calorimetry, J. Am. Oil Chem. Soc. 60:1102 (1983).

Hinnekens H., Fractionation of Lipids without the Use of a Solvent. "In Filtration in the Refining and Fractionation of Oils and Fats" 145-170 (1976).

- Jacobsberg B., Studies in Palm Oil Crystallization, J. Am. Oil Chem. Soc., 53:608 (1976).
- Jacobsberg B., Aims and Methods of Fractionation of Fats in Filtration in the Refining and Fractionation of Oils and Fats Pag. 119-143 (1976).
- Jacqmain D., Limitations on Storage Time of Frozen Foods, Revue des Fermentations et des Industries Alimentaires 32(2) 40-45 (1977).
- Jamieson G.S., Vegetable Fats and Oils, Reinhold Pub. Corp., New York, 1942.
- Jaroslov N., Industrial Crystallization from Solutions, Edition Butterworths, 1971.
- Johnson E.L. and R. Stevenson, Basic Liquid Chromatography, Varian, E.E.U.U., 1978.
- Kimmev R.L. and E.G. Perkins, Confectionery Fat Analysis with High Performance Liquid Chromatography, J. Am. Oil Chem. Soc. 61:1209 (1984).
- Knoester M., P. De Bruyne and M. Van Den Tempel, Crystallization of Triglycerides at Low Supercooling, Journal of crystal Growth, 3,4, 776-780 (1968).

Knoester M., P. De Bruyne and M. Van Den Tempel, The Solid-Liquid Equilibrium of Binary Mixtures of Triglycerides with Palmitic and Stearic chains, Chem. Phys. Lipids, 9:303 (1972).

Kochhar S.P., and J.B. Rossell, Determination of Oil in Sunflowerseeds, J. Am. Oil Chem. Soc., 64:865 (1987).

Kreulen H.P., Fractionation and Winterization of Edible Fats and Oils, J. Am. Oil Chem. Soc. 53:393 (1976).

Larsson K., Solid States Behaviour of Glycerides, Arkiv. Kemi., 23:35 (1964).

Lutton E.S., Phase Behavior of Triglyceride Mixtures Involving Primarily Tristearin, 2- Oleyldistearin and Triolein, J. Am. Oil Chem. Soc., 32:49 (1955).

Lutton E.S., Binary Systems from Palmitic-Stearic Triglycerides, J. Am. Oil Chem. Soc., 44:303 (1967).

Lutton E.S., Lipid Structures (A lecture), J. Am. Oil Chem. Soc., 49:1 (1972).

Madsen J., Changes in Margarine and Bakery Compound Caused by Physical Transformations in the Fat Phase during Storage, Zeszyty Problemowe Postepow Nauk Rolniczych, 136:147 (1973).

Malkin T., Progress in the Chemistry of Fats and other Lipids, Pergamon Press LTD, Pag 1-50, London, 1954.

Merker D.R., L.C. Brown and L.H. Wiedermann, The Relationship of Polimorfism to the Texture of Margarine Containing Soybean and Cottonseed Oils, J. Am. Oil Chem. Soc., 35:130 (1958).

Moziar C., J.M. de Man and L. de Man, Effect of Tempering on the Physical Properties of Shortening, Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology 22:238 (1989).

Naguib-Mostafa A. and J.M. de Man, Polymorphism of Hydrogenated Canola Oil, J. Am. Oil Chem.Soc. 62:756 (1985).

Naguib-Mostafa A., A.K. Smith and J.M. de Man, Crystal Structure of Hydrogenated Canola Oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:760 (1985).

Nawar W.W., Food Chemistry, Edited by O.R. Fennema pag. 148 (1985).

Norton I.T., C.D. Lee-Tuffnell, S. Ablett and S.M. Bociek, A Calorimetric, NMR and X-Ray Diffraction Study of the Melting Behavior of Tripalmitin and Tristearin and their Mixing Behavior with Triolein, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:1237 (1985).

Ong A.S.H., P.L. Boey and C.M. Ong, Fractionation Studies of Palm Oil by Density Gradient, J. Am. Oil Chem. Soc. 61:1755 (1983).

- Paulicka F.R., Phase Behaviour of Cocoa Butter Extenders, Chem. and Ind. 1/9/73, Pag. 835.
- Perron R.R., Essai de Préviation du Comportement Thermique d'une Graisse en Fonction de sa Composition Glycéridique I- Principe et Elaboration de la methode, Revue Francaise des Corps Gras 33:195 (1986).
- Perron R.R., Comentaires sur le Comportement Thermique des Triglycerides. Rôle de l'Insaturation, Revue Francaise des Corps Gras 31:171 (1984).
- Perron R.R. et M. Broncy, Comportement Thermique des Matières Grasses I- Huile de Palme et Produits Dérivés, Revue Francaise des Corps Gras 25:165 (1978).
- Perron R.R. et M. Broncy, Comportement Thermique des Matières Grasses II- Huile de Colza et Produits Dérivés, Revue Francaise des Corps Gras 25:525 (1978).
- Persmark U., R.A. Melin, P.O. Stahl, Analysis of Rapeseed Oil, ISF Congress, Milano pag. 174 (1974).
- Riiner U., The Effect of Hydrolysis on the Solidification of Fats, Lebensw. U. Technol., 4:76 (1971).
- Rossell J.B., Interactions of Triglycerides and of Fats Containing them, Chem. and Ind. 1/9/73 Pag. 832.

- Rossell J.B., Fractionation of Lauric Oils, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:385 (1985).
- Sato K., and M. Suzuki, Solvent Crystallization of α , β and Polimorphs of Oleic Acid, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:1356 (1986).
- Schlichter J., N. Garti and S. Sarig, Heat Capacity of Tristearin in the Presence of Food Emulsifiers, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:788 (1986).
- Schlichter J., J.S. Aronhime, S. Sarig and N. Garti, Mechanistic Considerations of Polymorphic Transformations of Tristearin in the Presence of Emulsifiers, J. Am. Oil Chem. Soc. 64:529 (1987).
- Schlichter J., J.S. Aronhime, S. Sarig and N. Garti, Reconsideration of Polymorphic Transformations in Cocoa Butter Using the DSC, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:1140 (1988).
- Schwitzer M.K., Margarine and other food fats, Leonard Hill Limited, London, 1951.
- Sebedio J.L., C.H. Septier and A. Grandgirard, Fractionation of Commercial Frying Oil Samples using Sep-Pak Cartridges, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:1541 (1986)
- Segura J.A., M.L. Herrera and M.C. Añón, Storage of Commercial Margarine, J. Am. Oil Chem. Soc. (En prensa).

Simpson T.D. and J.W. Hagemann, Crystallographic Study of Tritetracosanoin, J. Am. Oil Chem. Soc., 52:303 (1975).

Simpson T.D., Solid Phases of Trimargarin: A Comparison to Tristearin, J. Am. Oil Chem. Soc. 60:95 (1983).

Simpson T.D., D.P. Hockett and L. Harris, Specific Heats of the Solid-State Phases of Trimargarin and Tristearin, J. Am. Oil Chem. Soc. 61:883 (1984).

Singleton J.A. and Pattee H.W. Optimization of Parameters for the Analysis of Triglycerides by Reverse Phase HPLC Using a UV Detector at 210 nm, J. Am. Oil Chem. Soc. 61:761 (1984).

Suzuki M., P. Ogaki and K. Sato, Crystallization and Transformation Mechanisms of α , β and Polymorphs of Ultra-Pure Oleic Acid, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:1600 (1985).

Takahashi K., T. Hirano and K. Zama, A New Concept for Determining Triglyceride Composition of Fats and Oils by Liquid Chromatography, J. Am. Oil Chem. Soc. 61:1226 (1984).

Takahashi K., T. Hirano, M. Egi and K. Zama, A Mathematical Model for the Prediction of Triglycerides Molecular Species by High Performance Liquid Chromatography, J. Am. Oil Chem. Soc. 62:1489 (1985).

Takahashi K., T. Hirano, M. Egi M. Hatano and K. Zama, Supplementary Consideration of the Triglyceride Matrix Model on Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography, J. Am. Oil Chem. Soc. 63:1543 (1986).

Takano S. and Y. Kondoh, A Method for the Quantitative Determination of Individual Oils in a Blend, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:1922 (1988).

Traitter H., H.J. Wille and A. Studer Fractionation of Blackcurrant Seed Oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 65:755 (1988).

Van Den Tempel M., Effect of Emulsifiers on the Crystallization of Triglycerides, S.C.I. Monograph 32, 22-33 (1968).

Van der Hoek W., Application d'une Méthode Nouvelle à l'étude de la Stabilité Structurale de la Margarina, Revue Francaise des Corps Gras 12:761 (1969).

Van Putte K.P.A.M. and B.H. Bakker, Crystallization Kinetics of Palm Oil, J. Am. Oil Chem. Soc. 64:1138 (1987).

Von Speisefetten D.U., Gemeinschaftsarbeit Der Deutschen Gesellschaft Fur Fettwissenschaft e.v. (1973) Fette, Seifen, Anstrichm., 75, 467, 587 and 663.

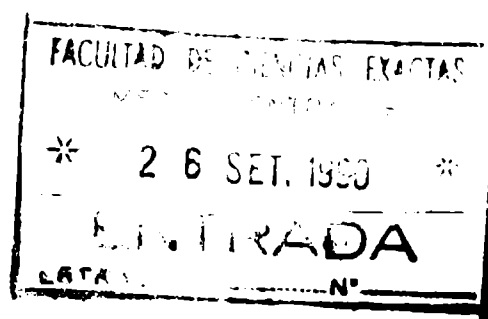
Walker W., Aging of Tristearin: Comparison of DSC and Positron Lifetime Results, J. Am. Oil Chem. Soc. 64:754 (1987).

Wille R.L. and E.S. Lutton, Polymorphism of Cocoa Butter, J. Am. Oil Chem. Soc. 43:491 (1966).

Wood R. and Lee T., High-Performance Liquid Chromatography of Fatty Acids: Quantitative Analysis of Saturated, Monoenoic, Polyenoic and Geometrical Isomers, J. Chromatog. 254:237 (1983).

Zajic J., L. Ferman, J. Korma, Anderung Verschiedener Eigenschaften Von Fetten Wahrend der Desodorisierung, Fette, Seifen und Anstrichmittel, 70:860 (1968).

Zschau M.R., Hydrogenation Catalysts, Preparation, Physical Properties, Practical Applications, C.E.R.I.A., Bruxelles 28-29 Avril (1976).



FE DE ERRATAS

- Los espaciamentos cortos y largos en los diagramas de rayos X se expresaron en A, debe decir $\overset{\bullet}{A}$.

- La acidez fue expresada en porcentaje de ácidos grasos libres. La norma indica que debe expresarse en mg de KOH/g.

- Dado que nuestros métodos analíticos (excepto la espectroscopía de infrarrojo) no son capaces de distinguir entre los distintos isómeros geométricos y de posición de los ácidos grasos y triglicéridos si no se especifica lo contrario cuando dice ácido oleico se refiere a todos los isómeros C18:1 y cuando dice ácido linoleico se refiere a todos los isómeros C18:2.

- Pag. 14 Dice: encontraron que las fases α y β de trimargarina... Debe decir: fases α y β de triheptadecanoína...

- Pag. 31 Neutralización: posibilita la eliminación de ácidos grasos, pigmentos... Debe decir: ácidos grasos libres, pigmentos...