



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

**ESTRUCTURACIÓN DE ACEITE VEGETAL MEDIANTE
INTERESTERIFICACIÓN Y ORGANOGELACIÓN**
(Vegetable oil structuration by interesterification and organogelation)

Tesis que presenta:
M. en C. María del Carmen Gutiérrez Guerrero

Para optar por el grado de:
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA: BIOPROCESOS

CO-TUTOR: Dr. Juan Jáuregui Rincón
CO-TUTORA (externa): Dra. Flor de María Álvarez Mitre
ASESOR: Dr. Fidel Guevara Lara

Aguascalientes, Ags., 23 de octubre de 2019



UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE AGUASCALIENTES

MARIA DEL CARMEN GUTIERREZ GUERRERO
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Estimada alumna:

Por medio de este conducto me permito comunicar a Usted que habiendo recibido los votos aprobatorios de los revisores de su trabajo de tesis y/o caso práctico titulado: **"ESTRUCTURACION DE ACEITE VEGETAL MEDIANTE INTERESTERIFICACION Y ORGANOGELACION"** hago de su conocimiento que puede imprimir dicho documento y continuar con los trámites para la presentación de su examen de grado.

Sin otro particular me permito saludarle muy afectuosamente.

ATENTAMENTE

Aguascalientes, Ags., a 23 de Octubre de 2019

"Se lumen proferre"

EL DECANO

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'José de Jesús Ruiz Gallegos'.

M. en C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS

c.c.p.- Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. EN C. JOSÉ DE JESÚS RUÍZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

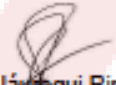
PRESENTE

Por medio del presente como Miembro del Comité Tutorial designado del estudiante **MARIA DEL CARMEN GUTIERREZ GUERRERO** con ID 15410 quien realizó la tesis titulada: **ESTRUCTURACIÓN DE ACEITE VEGETAL MEDIANTE INTERESTERIFICACIÓN Y ORGANOGELACIÓN**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que él pueda proceder a imprimirlo, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarte un cordial saludo.

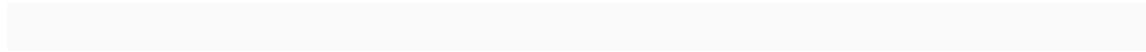
ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 2 de octubre de 2019.



Dr. Juan Jáuregui Rincón
Miembro del Comité Tutorial

c.c.p. - Interesado
c.c.p. - Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p. - Jefatura del Depto. de Química
c.c.p. - Consejero Académico
c.c.p. - Secretario Técnico





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES
FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M. EN C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

Por medio del presente como Tutor designado del estudiante **MARÍA DEL CARMEN GUTIERREZ GUERRERO** con ID 15410 quien realizó la tesis titulada: **ESTRUCTURACIÓN DE ACEITE VEGETAL MEDIANTE INTERESTERIFICACIÓN Y ORGANOGELACIÓN**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

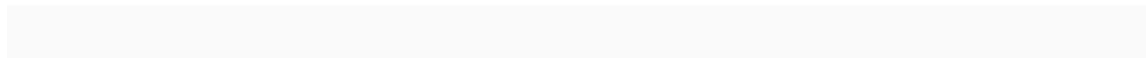
ATE NTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

San Luis Potosí, S.L.P, a 8 de Octubre de 2019.

Dra Flor de María Alvarez Mitre
CO-TUTORA (externa)

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p.- Jefatura del Depto. de _____
c.c.p.- Consejo Académico
c.c.p.- Minuta Secretario Técnico





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

FORMATO DE CARTA DE VOTO APROBATORIO

M.C. JOSÉ DE JESÚS RUIZ GALLEGOS
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
P R E S E N T E

Por medio del presente como Asesor designado de la estudiante **MARÍA DEL CARMEN GUTIÉRREZ GUERRERO** con ID 15410 quien realizó la tesis titulada: **ESTRUCTURACIÓN DE ACEITE VEGETAL MEDIANTE INTERESTERIFICACIÓN Y ORGANOGELACIÓN**, y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia, me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla, y así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 3 de Octubre de 2019.

Dr. Fidel Guevara Lara
Asesor de tesis

c.c.p. - Interesado
c.c.p. - Secretaría de Investigación y Posgrado
c.c.p. - Jefatura del Depto. de Ingeniería Bioquímica
c.c.p. - Consejo Académico
c.c.p. - Secretario Técnico

[BIOTECNIA] Decisión del editor/a

----- Forwarded Message -----

From: Dra. Carmen Lizetted Del Toro Sanchez
<lizetted@gmail.com>
To: "f_mitre@yahoo.com" <f_mitre@yahoo.com>
Cc: "francisco.rodriguezfelix@unison.mx"
<francisco.rodriguezfelix@unison.mx>
Sent: Monday, May 28, 2018, 8:25:10 AM CDT
Subject: [BIOTECNIA] Decisión del editor/a

Estimada FLOR DE MARIA ALVAREZ MITRE:

Me complace informarle que su artículo titulado "Modification Of Lard's Thermal Properties To Improve Its Functionality: Potential Cocoa Butter Substitute", cuyos autores son "María del Carmen Gutiérrez Guerrero, Flor de María Alvarez Mitre, Jorge Fernando Toro Vázquez, Fidel Guevara Lara, Juan Jáuregui Rincón", ha sido aceptado para su publicación en Biotecnia.

Agradezco su interés por publicar en Biotecnia.

Aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Dra. Carmen Lizetted Del Toro Sanchez
Editor de sección
lizetted@gmail.com

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Conacyt por otorgarme su apoyo, con la beca de doctorado y becas mixtas.

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes; al Dr. Juan Jáuregui Rincón por su apoyo en la co-dirección de esta tesis y en lo necesario en el transcurso de mis estudios.

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, al Dr. Jorge Fernando Toro Vázquez por abrirme las puertas de su laboratorio, a la Dra. Flor de María Álvarez Mitre por su importantísimo apoyo en la co-dirección de esta tesis, por sus ideas y gran espíritu de investigación, a la Dra. Mayra Aguilar Zárate, a la Ing. en Alimentos Marisol Dávila Martínez, sin su apoyo académico y personal, este proyecto no hubiera sido posible.

Gracias al Dr. Fidel Guevara Lara por aceptar formar parte de mi comité tutorial.

A los doctores profesores de la UAA y de la UASLP, por ser parte fundamental de mi formación.

Gracias a las Doctoras Alma Lilián Guerrero Barrera y Consolación Martínez Saldaña, coordinadoras del posgrado; a Sandra, Maggie, Brenda y Vero de la UAA, y a Magda, Conchita y Liz de la UASLP, por su gran ayuda y paciencia.

Gracias a Julieta Domínguez, Alma Delia Hurtado, Lupita Mata, Paloma Campos, Susana Saucedo, Lucila Perales y Sandra Luz Martínez, y a todas mis compañeras y compañeros de generación por su apoyo y amistad.

DEDICATORIAS

Dios, gracias por tu amor y sabiduría infinitos.

Mamá, eres la persona más valiente y generosa que conozco, ¡gracias!

Mi Paolo precioso, eres mi gran maestro y mi razón de todo, te amo hijo; eres el mejor compañero de aventuras!

Hermanos adorados Becky y Leo soy su fan #1 ¡lo máximo coincidir en esta vida! Gracias!

Mujeres queridas de mi familia Ali, Paty, Andi, Serena, Dey, les agradezco con todo mi corazón su apoyo y cariño..

Bernd, gracias por todo lo positivo que has traído a mi vida, te quiero.

Magda Ávalos, que a la distancia me das un apoyo tremendo, gracias por la inspiración y la fuerza.

Gracias a Martha García, Maru Charó, Ana Gil, Fer Aceves, Mariana Martínez, Ceci Tapia, otra vez a Mayra Aguilar, Marisol Dávila, su amistad es lo mejor que nos sucedió en nuestro tiempo en San Luis Potosí.

A todas las mujeres que inspiran, que hacen su mejor esfuerzo cada día, aunque se sientan perdidas, tristes, cansadas, y que lo hacen aún mejor cuando están felices y plenas; que trabajan, estudian, cuidan hij@os y/o un hogar, que tienen que encontrar un segundo del día para recordar quiénes son, y aún así la sociedad exige que demuestren que de verdad están haciendo todo y más. A todas las que han sido señaladas o minimizadas, a todas que han abierto camino para las que venimos detrás; que siempre hagamos lo justo, lo que de verdad importa, que sepamos dar lo bueno al mundo y que podamos seguir nuestro llamado. Los títulos nunca definirán lo que está en nuestro corazón.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	5
SUMMARY	7
1. INTRODUCCIÓN	9
2. ANTECEDENTES	14
2.1. Lípidos	14
2.1.1. Clasificación	14
2.1.2. Composición química	15
2.1.3. Ácidos grasos	17
2.1.4.1. Ácidos grasos saturados	18
2.1.4.2. Ácidos grasos insaturados	19
2.1.5. Aceite de coco	20
2.1.6. Manteca de cerdo	21
2.1.7. Aceite de cártamo	22
2.1.8. Manteca de cacao y sustitutos	22
2.2. Estructuración de lípidos	23
2.2.1. Interesterificación	25
2.2.1.1. Interesterificación química	25
2.2.1.2. Interesterificación enzimática	26
2.2.1.2.1. Lipasa de <i>Candida antarctica</i>	27
2.2.2. Organogelación	28
2.2.2.1. Agentes organogelantes	29
2.2.2.1.1. Monoglicéridos como agentes gelantes	30
2.2.2.1.2. Ácidos grasos y derivados como agentes gelantes	31
2.2.2.1.3. Agentes co-gelantes	32
2.3. Caracterización de grasas	33
2.3.1. Índice de acidez	33
2.3.2. Índice de yodo	33
2.3.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	33
2.3.4. Contenido de sólidos grasos por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)	34
2.3.5. Microestructura	34
2.3.6. Textura	35
2.3.7. Reología	35
3. JUSTIFICACIÓN	37

4. HIPÓTESIS	39
5. OBJETIVO GENERAL	39
5.1. Objetivos Específicos	39
6. METODOLOGÍA	40
6.1. Materiales y reactivos	40
6.2. Modificación de grasas	40
6.2.1. Interesterificación química	40
6.2.2. Interesterificación enzimática	40
6.2.3. Organogelación	41
6.3. Caracterización de las grasas interesterificadas	42
6.3.1. Índice de acidez	42
6.3.2. Índice de yodo	43
6.3.3. DSC	43
6.3.4. Mezclas de sistemas interesterificados con manteca de cacao	44
6.3.5. Contenido de sólidos grasos	44
6.3.6. Microestructura por microscopía de luz polarizada (MLP)	45
6.3.7. Textura	45
6.4. Caracterización de los sistemas organogelados	45
6.4.1. DSC	45
6.4.2. Reología	46
6.4.3. MLP	47
6.4.4. Contenido de sólidos grasos	47
7. RESULTADOS Y DISCUSIONES	48
7.1. Sistemas Interesterificados	48
7.1.1. Índice de acidez	48
7.1.2. Índice de yodo	49
7.1.3. Perfil de fusión y comportamiento térmico	49
7.1.4. Sustituto potencial de manteca de cacao a partir de mezclas interesterificadas	55
7.2. Organogelación	59
7.2.1. Caracterización calorimétrica de organogeles	64
7.2.2. Caracterización reológica de organogeles y su relación con la microestructura y contenido de sólidos	74
8. CONCLUSIONES	85
9. BIBLIOGRAFÍA	87
ANEXO (artículo publicado)	99

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Formación de un monoglicérido	16
2. Arreglo de un triglicérido	16
3. Perfil de fusión de mezclas interesterificadas	51
4. Comportamiento térmico de los sistemas: aceite de coco, manteca de cerdo, mezclas interesterificadas y no interesterificadas con 70% y 80% de manteca de cerdo	53
5. Termogramas de fusión de CBR20, CBR50, CBR80 y CB	56
6. Curvas de iso-sólidos de mezclas de CBR	57
7. Microestructura de CBR80 y CB	58
8. Comportamiento de fusión y cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y ácido palmítico (MAGs + PA) en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO)	66
9. Comportamiento de fusión y cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y ácido palmítico (MAGs + PA) en mezcla de HOSFO y aceite de coco (BLEND)	67
10. Comportamiento de fusión y cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y hexadecanol (MAGs + HD) en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO)	69
11. Comportamiento de fusión y cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y hexadecanol (MAGs + HD) en mezcla de HOSFO y aceite de coco (BLEND)	70
12. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO) a 15 °C	76
13. Microfotografías a 20x con MLP de sistemas en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO) a 15 °C	76
14. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO) a -2 °C	79
15. Microfotografías a 20x con MLP de sistemas en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO) a -2 °C	80
16. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a 15 °C	81
17. Microfotografías a 20x con MLP de sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a 15 °C	81
18. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a -2 °C	83
19. Microfotografías a 20x con MLP de sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a -2 °C	83

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación de lípidos	15
2. Clasificación de agentes gelantes moleculares	29
3. Diseño experimental de los sistemas estructurados por organogelación	42
4. Temperaturas de cristalización y fusión de materias primas y mezclas interesterificadas y no interesterificadas	50
5. Concentración crítica gelante (CCG) de los gelantes individuales en los dos sistemas de solventes estudiados	60
6. Capacidad gelante por CCG de los organogeles de MAGs en mezcla con PA y HD a cuatro diferentes concentraciones en los dos sistemas solventes: HOSFO y BLEND	62

Acrónimos

CB	Cocoa Butter - Manteca de cacao
CBR	Cocoa Butter replacer – Sustituto de Manteca de Cacao
CGC	Concentración crítica gelante
CO	Aceite de coco
DSC	Differential Scanning Calorimetry (Calorimetría Diferencial de Barrido)
HD	Hexadecanol
HOSFO	High Oleic Safflower Oil (Aceite de cártamo alto en ácido oleico)
MAGs	Monoacilglicéridos
MLP	Microscopía de Luz Polarizada
PA	Palmitic acid (ácido palmítico)
RMN	Resonancia Magnética Nuclear



RESUMEN

Se aplicaron las técnicas de interesterificación y organogelación para estructurar sistemas grasos con aceite de coco; que tiene la particularidad de una composición mayoritaria de ácido láurico (C12), lo que le confiere propiedades que pueden representar ventajas en sus potenciales y actuales aplicaciones tecnológicas, por su punto de fusión y comportamiento de cristalización. Los sistemas para interesterificación incluyeron manteca de cerdo; grasa animal con un arreglo en sus triacilglicéridos (TAGs) que le confiere características consideradas inadecuadas para su uso en industria, ya que su cristalización promueve una textura granulosa y con poca estructura. Su interesterificación con el aceite de coco en proporción 70:30 y 80:20 (manteca:coco) resultó en las mezclas IBE70, IBE80 para el proceso enzimático, y en IBC70, IBC80 para la interesterificación química. Se caracterizaron por índice de acidez (IA), índice de yodo (IY) y comportamiento térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los resultados de IY mostraron que los TAGs saturados del aceite de coco tienen un efecto importante sobre la manteca de cerdo, en las mezclas 70:30. Con DSC se encontró que los perfiles de fusión de IBE y IBC no son estadísticamente diferentes ($p > 0.05$). Todas las IB presentaron mayores entalpías de fusión y cristalización (ΔH_{cr} , ΔH_M) con respecto a las mezclas sin interesterificar por lo que tuvieron formación de cristales más homogéneos, con un mayor grado de arreglo intermolecular. El perfil térmico particular de las IB indicó una posible aplicación como sustituto de manteca de cacao (CB). El comportamiento térmico, contenido de sólidos grasos, así como la textura y microestructura de una mezcla de CB:IBE70 (80:20) demostró potencial como ingrediente para el desarrollo de un sustituto de CB. Para la organogelación se eligieron como solventes: aceite de cártamo alto en ácido oléico (HOSFO) y una mezcla de aceite de coco con HOSFO (15:85). Como agente gelante principal se utilizó una mezcla comercial de monoacilglicéridos (MAG) en cuatro concentraciones, y ácido palmítico (PA) y hexadecanol (HD) como cogelantes en su concentración crítica gelante. Los organogeles se caracterizaron por DSC,

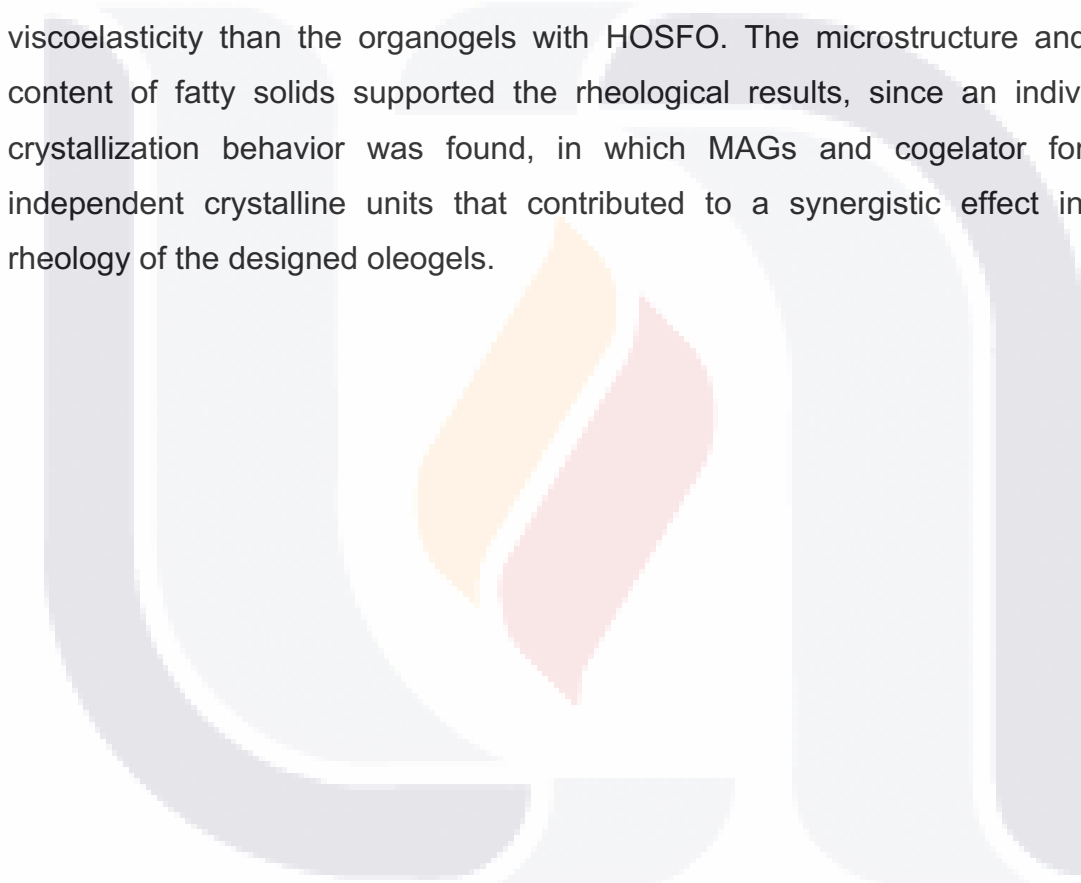
reología, microscopía de luz polarizada y contenido de sólidos. Por DSC se observaron dos transiciones: una entre -2 y 15 °C; y la otra por arriba de 15 °C, por lo que a estas temperaturas se tiene un sistema con la estabilidad termodinámica necesaria para poder evaluar los oleogeles en dos fases diferentes. Los MAGs, en las concentraciones de estudio más bajas (MAGC1 y MAGC2), por sí solos no tienen capacidad de gelación, pues se encuentran por debajo de su umbral de gelación. Se encontró que el PA tiene una gran influencia sobre la estructuración de MAGs, aumentando la estructura y por consiguiente las propiedades viscoelásticas. Los sistemas con HD presentaron menor capacidad de estructuración. El análisis reológico mostró un efecto del tipo de solvente utilizado sobre la viscoelasticidad de los organogeles. En general los organogeles con la mezcla de HOSFO y aceite de coco (BLEND) resultaron con una menor viscoelasticidad que los organogeles de HOSFO. La microestructura y el contenido de sólidos grasos apoyaron los resultados reológicos, pues se encontró un comportamiento de cristalización individual, en el que MAGs y cogelante formaron unidades cristalinas independientes que contribuyeron a un efecto sinérgico en la reología de los oleogeles diseñados.

SUMMARY

Interesterification and organogelation techniques were applied to structure fatty systems with coconut oil; which has the particularity of a majority composition of lauric acid (C12), which gives it properties that can represent advantages in its potential and current technological applications, due to its melting point and crystallization behavior. Interesterification systems included lard; animal fat with an arrangement in its triacylglycerides (TAGs) that gives it characteristics considered unsuitable for use in industry, because its crystallization promotes a grainy texture with poor structure. Its interesterification with coconut oil in a ratio of 70:30 and 80:20 (butter: coconut) resulted in mixtures IBE70, IBE80 for the enzymatic process, and in IBC70, IBC80 for chemical interesterification. They were characterized by acidity index (AI), iodine index (IY) and thermal behavior by differential scanning calorimetry (DSC). The results of IY showed that saturated TAGs of coconut oil have an important effect on lard, in mixtures 70:30. With DSC it was found that the fusion profiles of IBE and IBC are not statistically different ($p > 0.05$). All the IBs presented higher enthalpies of fusion and crystallization (ΔH_{cr} , ΔH_M) versus the uninteresterified mixtures, so that they had more homogeneous crystal formation, with a higher degree of intermolecular arrangement. The special thermal profile of the IBs indicated a possible application as a cocoa butter (CB) substitute. The thermal behavior, content of fatty solids, as well as the texture and microstructure of a mixture of CB: IBE70 (80:20) demonstrated potential as an ingredient for the development of a CB substitute. For the organogelation, safflower oil high in oleic acid (HOSFO) and a mixture of coconut oil with HOSFO (15:85) were chosen as solvents. As a main gelling agent, a commercial mixture of monoacylglycerides (MAG) was used at four concentrations, and palmitic acid (PA) and hexadecanol (HD) as cogelants in their critical concentration.

The oleogels were characterized by DSC, rheology, polarized light microscopy and solids content. Two transitions were observed by DSC: one between -2 and 15 ° C; and the other above 15 ° C, so at these temperatures there is a system

with the thermodynamic stability necessary to evaluate oleogels in two different phases. MAGs, at the lowest study concentrations (MAGC1 and MAGC2), alone do not have gelation capacity, as they are below their gelation threshold. It was found that the PA has a great influence on the structuring of MAGs, increasing the structure and therefore the viscoelastic properties. The systems with HD had lower structuring capacity. The rheological analysis showed an effect of the type of solvent used on the viscoelasticity of organogels. In general, the organogels with the mixture of HOSFO and coconut oil (BLEND) resulted in a lower viscoelasticity than the organogels with HOSFO. The microstructure and the content of fatty solids supported the rheological results, since an individual crystallization behavior was found, in which MAGs and cogelator formed independent crystalline units that contributed to a synergistic effect in the rheology of the designed oleogels.



1. INTRODUCCIÓN.

Las grasas y aceites son biomoléculas de estructura homogénea y con alta densidad calórica; son un componente importante de la dieta, proveyendo diversas características a los alimentos como: sabor, palatabilidad, textura, aroma, entre otras. También pueden ser fuente y vehículos de vitaminas liposolubles. Su origen puede ser animal, vegetal, marino, o combinaciones manufacturadas por procesamiento industrial (Vaclavik y Christian, 2014). Químicamente las grasas y aceites consisten en triacilglicéridos (TAGs), moléculas conformadas por un glicerol con tres ácidos grasos esterificados en cada uno de sus grupos funcionales. Dependiendo del grado de saturación de los ácidos grasos presentes en los TAGs, de la relación de masa sólida cristalina/ aceite líquido, y de la estructura cristalina formada por los TAGs, las grasas tendrán un estado físico específico, así como funcionalidad determinada (plasticidad o textura) (Ramel *et al.*, 2016). Con base en esto, la fase cristalina se ve aumentada con el incremento en el contenido de ácidos grasos saturados o *trans*. Sin embargo, el consumo en altos niveles de este tipo de ácidos grasos, está entre los factores que contribuyen al desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Naderi *et al.*, 2016).

En México, la principal causa de muerte son las enfermedades del corazón, seguida de diabetes mellitus y cáncer. Esto tiene un origen multifactorial: mala alimentación, estrés y falta de actividad física, principalmente (INEGI, 2013). En cuanto a los factores alimentarios, se considera el impacto negativo que tiene el consumo de grasas saturadas y *trans* sobre la incidencia de problemas de salud como: efectos en el perfil de colesterol, incremento de problemas cardiovasculares, y de síndrome metabólico (Rogers, 2009). Por otro lado, se ha encontrado que el consumo de ciertos componentes lipídicos bioactivos, tales como: vitaminas liposolubles, fitoesteroles, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados; así como ciertos lípidos estructurados, tienen efectos benéficos en la salud humana como la prevención de enfermedades cardiovasculares, de desórdenes inmunológicos, sobrepeso, problemas visuales, cáncer, están entre los más importantes (Chen *et al.*, 2013).

Las grasas y aceites tienen diferentes niveles de estructura, cada uno de los cuales tiene impacto sobre las propiedades macroscópicas de estos materiales. La diferencia entre ambas terminologías radica en su estructura molecular, misma que se refleja en sus propiedades físicas y químicas; generalmente los aceites contienen ácidos grasos insaturados, son fluidos a temperatura ambiente y su origen predominante es vegetal. Las grasas, por su parte, son comúnmente de origen animal, son sólidas o semisólidas y su composición es mayoritariamente de ácidos grasos saturados; existen grasas “endurecidas” como las hidrogenadas, algunas interesterificadas o fraccionadas, en donde su textura (dureza) se debe al tratamiento y/o selección de los ácidos grasos que las componen (Lusas *et al.*, 2012). Los TAGs de ácidos grasos saturados y *trans* presentan un estado sólido debido a su capacidad de ensamblarse a partir de nucleación y crecimiento de pequeños cristales que interactúan a través de interacciones no-covalentes, formando una red continua de cristales. Esta capacidad de estructuración provee características deseables en muchos alimentos por ejemplo firmeza, sensación bucal, propiedades viscoelásticas. Estas son propiedades funcionales de grasas en alimentos, ya que tienen una función específica para lograr las características finales de los productos (Rogers, 2009; Kim *et al.*, 2017). En general, la sustitución de estas grasas, suele ser un gran reto, pues al tratar de mejorar los aspectos que impactan la salud, se sacrifican propiedades funcionales en los alimentos. Una de las soluciones actuales es la sustitución de grasas *trans* con grasas saturadas de fuentes naturales, como el aceite de palma; aunque existen implicaciones negativas en cuanto al daño ecológico asociado a las plantaciones de palma, y los posibles efectos negativos del consumo a largo plazo de grasas saturadas (Patel, 2018). Es por esto necesario explorar alternativas de estructuración de grasas y aceites, para obtener propiedades fisicoquímicas funcionales, sin efectos negativos en la salud. Los lípidos estructurados son TAGs modificados para mejorar sus propiedades funcionales y/o nutricionales (Da Silva *et al.*, 2012). La estructuración tradicional se basa en la diversidad molecular de los

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

TAGs, promoviendo cambios químicos o de condiciones de procesamiento, que se traducirán en cambios en las propiedades físicas de los materiales (Davidovich-Pinhas *et al.*, 2016).

La estructuración está basada en gran medida en que los aceites (en su estado líquido natural) no proveen la estructura sólida cristalina que presentan las grasas saturadas, por lo que es necesario modificarlos o estructurarlos para darles una textura más adecuada para uso en productos alimenticios (Zetzi y Marangoni, 2012).

Las técnicas y reacciones más aplicadas para la modificación química de la estructura de grasas y aceites son: la hidrogenación (total y parcial) y la interesterificación. La hidrogenación implica la adición de hidrógeno sobre los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados para cambiar la consistencia de los aceites, cuando la reacción es parcial causa la formación de ácidos grasos *trans*, a estos compuestos se les han atribuido efectos negativos en los niveles plasmáticos de lipoproteínas, específicamente en el incremento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés) conocidas como colesterol “malo”, al mismo tiempo que disminuyen los niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL por sus siglas en inglés), lo que los implica en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, cáncer, y desórdenes metabólicos crónicos (Edmund y Marangoni, 2012). Por su parte, la interesterificación se refiere a reacciones entre ésteres (intercambio éster-éster), con un ácido graso (acidólisis) u opcionalmente con un alcohol (alcoholisis). El intercambio de ácidos grasos dentro o entre moléculas de TAGs, cambia las propiedades físicas y químicas de los lípidos: punto de fusión, compatibilidad de diferentes triglicéridos en estado sólido, y la plasticidad del producto resultante como consecuencia de un cambio en las propiedades de cristalización (De Clercq *et al.*, 2011; Cardona *et al.*, 2013). Asimismo, pueden combinarse propiedades de diferentes mezclas de grasas y aceites., para alterar la composición de TAGs del material lipídico (Moreno *et al.*, 2008). Ciertas condiciones en el procesamiento de las grasas como la cristalización controlada de TAGs, mejor conocida como fraccionamiento, pueden producir

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

fracciones de interés con nuevas composiciones fisicoquímicas (Davidovich-Pinhas *et al.*, 2016).

Otra forma de estructuración es la organogelación, que representa un método alternativo a los ya descritos y puede ser aplicado para modificar las propiedades físicas de aceites sin alterar sus características químicas. Los organogeles pueden definirse como materiales supramoleculares, termorreversibles y bicontinuos en donde el agente gelante se autoensambla y forma una red tridimensional cristalina atrapando físicamente líquidos orgánicos (López-Martínez *et al.*, 2015). Los oleogeles son materiales considerados como valiosos sustitutos para reducir o eliminar grasas saturadas, y de manera más importante, grasas *trans* en la industria de alimentos (Lupi *et al.*, 2016).

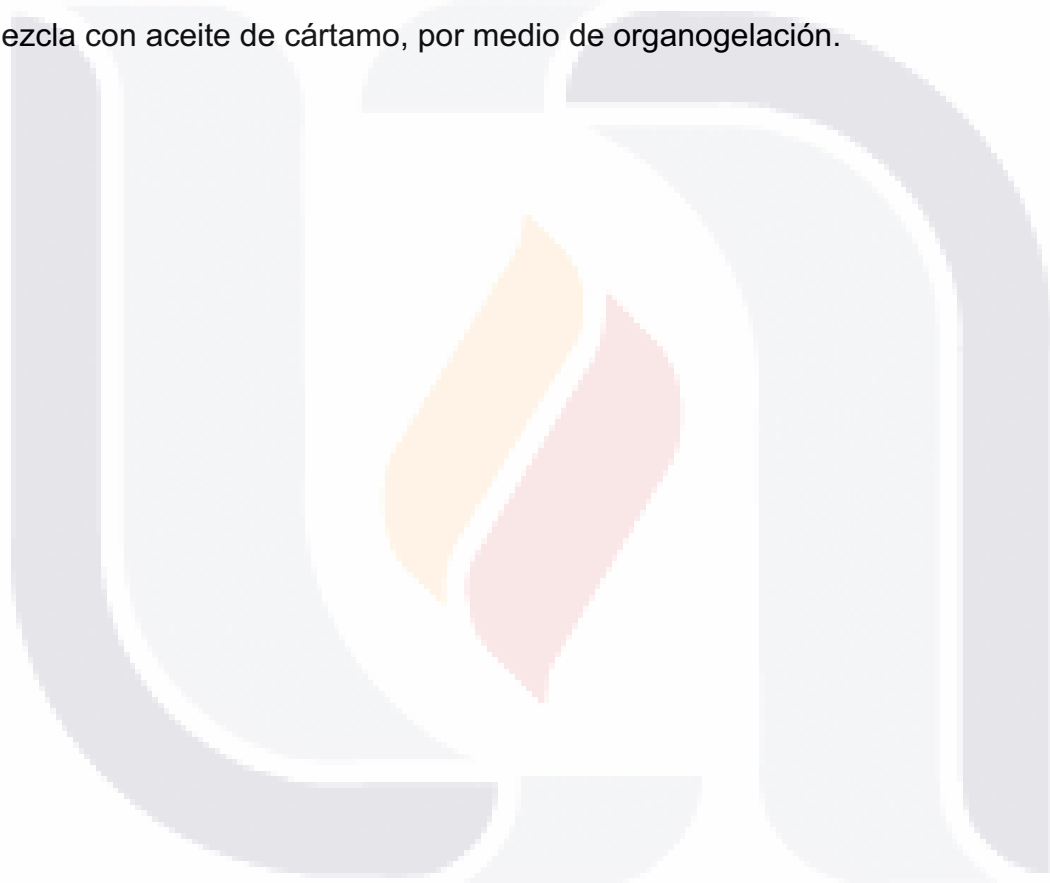
Debido a la creciente preocupación por el impacto nutricional de los ácidos grasos *trans* sobre la salud, la estructuración ha resultado ser un buen método para diseñar grasas que no contengan estos compuestos. (Ribeiro *et al.*, 2009). Los oleogeles presentan viscoelasticidad, lo que les da una apariencia sólida; esto se logra gracias a la capacidad de autoensamble de las moléculas estructurantes (organogelantes) (Lupi *et al.*, 2016).

Se han identificado diversos organogelantes, o compuestos responsables de la gelación, presentando la capacidad de gelar a concentraciones por debajo del 10%, algunos pueden hacerlo incluso en concentraciones tan bajas como 0.5-2%. Cuando el líquido orgánico es un aceite, el sistema se define como un oleogel (Zetzl y Marangoni, 2012).

El aceite de coco es un material especial, con una composición y comportamiento de fase relativamente simples; contiene un 90% de ácidos grasos saturados, el ácido láurico representa la mitad de estos. Su contenido en ácidos grasos de cadena media (ácidos grasos de 6 a 12 átomos de carbono), le confiere a este aceite una mayor solubilidad en agua cuando sus TAGs son hidrolizados en el organismo y por lo tanto, una mejor digestibilidad que ácidos grasos de cadena larga como el palmítico (16 C) o el esteárico (18 C) (Cassiday, 2016; Nugrahini *et al.*, 2015). Se ha encontrado que los ácidos

grasos de cadena media, como los contenidos en el aceite de coco, tienen actividad biológica para la salud humana, reduciendo el riesgo de enfermedades del corazón, como la aterosclerosis (Chaleepa *et al.*, 2010).

Por otra parte, existen grasas de difícil manejo y/o estructuración como la manteca de cerdo por lo que requieren modificaciones físicas y químicas para poseer propiedades de interés tecnológico. Con base en esto, el propósito de esta investigación es estructurar al aceite de coco en mezclas con manteca de cerdo a través de procesos de interesterificación, química y enzimática; y en mezcla con aceite de cártamo, por medio de organogelación.



2. ANTECEDENTES

2.1 Lípidos

El término lípido se usa para clasificar un amplio número de sustancias que tienen características fisicoquímicas diferentes, siendo su solubilidad en solventes orgánicos no polares, la propiedad en común para su clasificación, debido a su naturaleza no polar. Algunos lípidos, en particular ácidos grasos y esteroides son esenciales para la vida animal y vegetal. Los lípidos son elementos clave en la estructura, bioquímica, fisiología y estatus nutricional de los individuos pues están involucrados en: a) la estructura celular, b) reserva energética de células, c) la formación de metabolitos reguladores y d) en la regulación y expresión genética. Otro aspecto importante relacionado con los lípidos es el papel que juegan en el tratamiento y/o origen de muchas enfermedades que pueden afectar a las personas (Valenzuela, 2013). La importancia estructural, metabólica y nutricional de los lípidos en el organismo es respaldada por numerosas investigaciones en diferentes modelos biológicos (celular, animal, humano). (Badui, 2006).

Además de su importancia metabólica, las grasas y aceites tienen un papel muy importante en alimentos: imparten sabor, potencian aromas, actúan como vehículos de ingredientes y vitaminas liposolubles; imparten atributos sensoriales como cremosidad, palatabilidad, untabilidad; características mecánicas como firmeza, cohesividad, y estructura; propiedades fisicoquímicas como el perfil de fusión y alta capacidad de transferencia de calor; y propiedades reológicas como la viscoelasticidad (Marangoni de Oliveira *et al.*, 2015, Ramel *et al.*, 2016).

2.1.1. Clasificación

La clasificación de lípidos es posible con base en sus propiedades físicas a temperatura ambiente (los aceites son líquidos, las grasas son sólidas); en la polaridad (lípidos neutros y polares); en la esencialidad para la nutrición humana (ácidos grasos esenciales y no esenciales); o con base en su estructura (simples y complejos).

Por la alta polaridad de algunos ácidos grasos, la clasificación más adecuada es la basada en estructura. De esta forma, los lípidos pueden ser clasificados como derivados, simples y complejos (Cuadro 1.).

Cuadro 1. Clasificación de lípidos.

Clasificación de lípidos
1. Lípidos derivados: ácidos grasos y alcoholes (son la base de los lípidos simples y complejos)
2. Lípidos simples: compuestos de ácidos grasos y alcoholes: acilgliceroles, éter-acilgliceroles, esteroides y sus ésteres; y ésteres de ceras. En general, pueden ser hidrolizados en dos componentes diferentes, usualmente un alcohol y un ácido.
3. Lípidos complejos: glicerofosfolípidos, gliceroglicolípidos y esfingolípidos (al hidrolizarse se obtienen tres o más componentes)

(O'Keefe, 2002)

2.1.2. Composición química

Los lípidos son un grupo de compuestos orgánicos de cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas; compuestos principalmente por TAGs. También pueden contener fósforo, nitrógeno y azufre (Valenzuela, 2013).

Los glicéridos incluyen *monoglicéridos* (Figura 1), *diglicéridos* y *triglicéridos*. Los primeros dos tienen función de emulsificantes en alimentos, mientras que los triglicéridos (TAGs) constituyen la mayoría de las grasas y aceites que se encuentran en los alimentos (>95%).

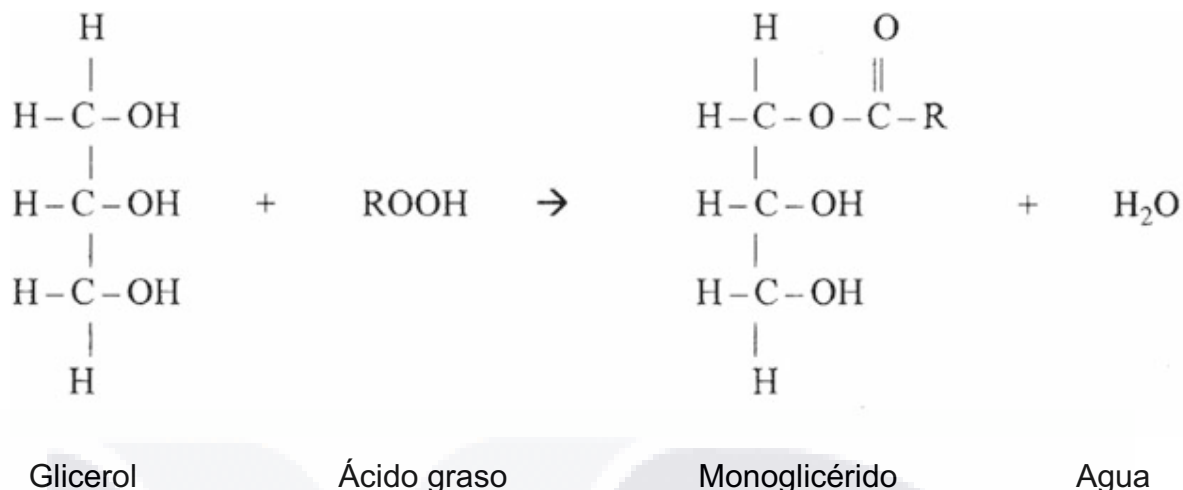


Figura 1. Formación de un monoglicérido

Los triglicéridos son insolubles en agua y pueden encontrarse tanto en estado líquido como sólido a temperatura ambiente; las formas líquidas generalmente se conocen como *aceites*, y las formas sólidas como *grasas*.

Si se esterifican tres ácidos grasos con glicerol, se produce un triglicérido. Si este triglicérido contiene 3 ácidos grasos iguales se conoce como triglicérido *simple*; y si contiene 2 o 3 ácidos grasos diferentes se le llama triglicérido *mixto*. En la molécula de glicerol no hay suficiente espacio para que los tres ácidos grasos tengan la misma orientación, por lo que los arreglos espaciales se dan como “forma escalonada” y “horquilla” (Figura 2) (Vaclavik *et al.*, 2014).

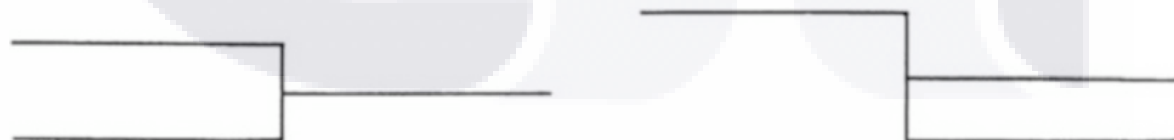


Figura 2. Arreglo de triglicérido en forma de horquilla (izquierda), en forma escalonada (derecha)

2.1.3. Ácidos grasos.

Los ácidos grasos constituyen la base de la estructura de los TAGs y son ácidos carboxílicos que tienen una cadena alifática no ramificada, ya sea saturada o insaturada. (Chen, 2013).

En un extremo de la cadena tienen un grupo metilo (CH_3) y en el otro extremo el grupo carboxilo (COOH). La mayoría de los ácidos grasos que existen naturalmente contienen de 4 a 24 átomos de carbono, y en casi todos los casos contienen un número *par* de carbonos conformando la cadena (Vaclavik *et al.*, 2014). Los ácidos grasos determinan las propiedades y características que poseerán las grasas y aceites que los contengan. Los aceites, normalmente de fuentes vegetales, son líquidos a temperatura ambiente y contienen altos niveles de ácidos grasos insaturados comparados con las grasas sólidas, las cuales se componen predominantemente de ácidos grasos saturados (Kim *et al.*, 2017). Otra característica destacable de los ácidos grasos, que se presenta al formar parte de TAGs, es la posición que ocupan en la molécula del glicerol, lo que se conoce como distribución regioespecífica. Esta distribución de los ácidos grasos en los TAGs, se refiere a la posición del glicerol en la que se esterifican, siendo estas: *sn-1*, *sn-2* y *sn-3*, donde *sn* representa la numeración estereoespecífica de los grupos funcionales de la molécula de glicerol. El interés nutricional radica en la acción metabólica de la enzima lipasa pancreática sobre los TAGs durante la digestión de grasas y aceites, ésta solo hidroliza ácidos grasos en las posiciones *sn-1* y *sn-3*. (Lopes *et al.*, 2016). La numeración estereoespecífica también interesa mucho en la tecnología de aceites y grasas, pues esto determina propiedades muy específicas de ciertos materiales. Por ejemplo, el comportamiento de fusión distintivo de la manteca de cacao, se debe a su peculiar composición de TAGs y a la distribución de ácidos grasos en estos, donde el ácido oleico aparece siempre en la posición *sn-2* de los TAGs que la componen (Mohamed, 2015).

2.1.4.1. Ácidos grasos saturados

Los ácidos grasos saturados son aquellos que en su estructura química sólo poseen enlaces simples carbono-carbono. Los más comunes en alimentos son los de 14, 16 y 18 átomos de carbono, con excepción de la leche y el aceite de coco, que contienen ácidos grasos entre 4 y 12 átomos de carbono. A temperatura ambiente presentan un estado sólido y alta temperatura de fusión (Vaclavik y Christian, 2014). Por su estructura, los ácidos grasos saturados son altamente estables desde el punto de vista químico. Este tipo de ácidos grasos representan el 30-40% de la grasa total del tejido animal. (Torrejón, 2011).

Estudios observacionales y de salud, han asociado el consumo de ciertos ácidos grasos saturados con el aumento de enfermedades cardiovasculares (ECV). En un estudio (Hu *et al.*, 1997), se estimó que el reemplazo del 5% de la energía proveniente de ácidos grasos saturados, por grasa insaturada podría reducir el riesgo de ECV hasta en un 42%. Con estos estudios se comprendió que más que el porcentaje de grasa ingerida, es el tipo de grasa lo que determina el riesgo de ECV. Otros estudios han permitido observar que los ácidos grasos saturados con cadenas de 12-16 carbonos tienden a aumentar los niveles plasmáticos de colesterol total, LDL (lipoproteínas de baja densidad) y HDL (lipoproteínas de alta densidad), sin embargo, se ha visto que el ácido esteárico (18:0), no tiene estos efectos. Por otra parte, no se ha visto que los ácidos grasos de cadena corta (4-6 C) y de cadena media (8-10 C) modifiquen el riesgo de ECV. (Kris-Etherton y Yu, 1997; Hu *et al.*, 1999).

Desde el punto de vista tecnológico, es de interés la formación de cristales, las diferentes formas que pueden adoptar estas estructuras, sus propiedades térmicas y su reología. Las moléculas de aceites y grasas, al someterse a un enfriamiento, pueden alinearse e interactuar para formar cristales. Las moléculas que se alinean fácilmente necesitan liberar menos energía para su cristalización, y por esto tienen mayores puntos de fusión y una tendencia a formar cristales de tamaño grande. Esto aplica para las grasas compuestas por TAGs conformados de ácidos grasos saturados, que exhiben una estructura lineal, sin dobles enlaces y cadenas alifáticas generalmente largas. La

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

variabilidad en la composición de grasas influye en el tipo de cristalización que tienden a desarrollar. En este sentido, las grasas homogéneas, forman cristales de mayor tamaño. La manteca de cerdo es un ejemplo de grasa homogénea, en donde sus TAGs contienen ácido esteárico, palmítico y un ácido graso insaturado, usualmente oleico. Por lo tanto, esta manteca presenta una cristalización “gruesa” del tipo β . (Vaclavik y Christian, 2014).

2.1.4.2. Ácidos grasos insaturados

Con base en el número de dobles enlaces, los ácidos grasos insaturados se agrupan en dos clases principales: Ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos poliinsaturados (Shahidi *et al.*, 2006). Los ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico, tienen solamente un doble enlace; mientras que los ácidos grasos poliinsaturados como los ácidos linoleico y linolénico contienen dos o más dobles enlaces. En alimentos pueden encontrarse en nueces, granos, vegetales y algunos alimentos marinos (Vaclavik y Christian, 2014).

Los beneficios a la salud de los ácidos grasos insaturados se relacionan con el número, localización y naturaleza de los dobles enlaces, así como de la longitud de la cadena del ácido graso. (Chen *et al.*, 2013). El consumo de aceites vegetales es recomendado por encima de las grasas sólidas saturadas; aunque hay que considerar que por los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos que les componen, los aceites son mucho más inestables, con una alta susceptibilidad a la oxidación, por lo que pueden desarrollar problemas de rancidez oxidativa durante su almacenamiento. Además, por su fluidez y baja viscosidad, los aceites carecen de ciertas características de interés para aplicación en manufactura de alimentos, como por ejemplo los productos de panadería (Kim *et al.*, 2017).

La característica líquida de los aceites se explica por el cambio de ángulo que producen los dobles enlaces, lo que provoca que la cadena no sea lineal como en el caso de las grasas con TAGs compuestos de ácidos grasos saturados. Debido a esto, las cadenas no se alinean con la misma facilidad que en las

grasas saturadas. Los aceites compuestos de ácidos grasos insaturados presentan un intervalo de fusión bajo, debido a que debe removerse una mayor cantidad de energía para alcanzar el punto de cristalización, exhibiendo una tendencia de formación de cristales pequeños (Vaclavik y Christian, 2014). Los cristales más pequeños e inestables son los llamados α , presentan tal inestabilidad que tienden a cambiar rápidamente a β' , los cuales son cristales pequeños (aprox. 1 μm) en forma de agujas. Con el tiempo, este tipo de cristales también evolucionan hasta alcanzar la forma más estable β (Ramel *et al.*, 2016).

En términos generales, los aceites, líquidos a temperatura ambiente, se componen de ácidos grasos insaturados, de menor longitud de cadena por lo que presentan menores puntos de fusión. Sin embargo, este comportamiento no es una regla, existen aceites que no siguen este comportamiento, como el de coco.

2.1.5. Aceite de coco

El coco es una especie vegetal de la familia de la *Palma* y miembro del género *Cocos*. El aceite de coco es extraído de la pulpa del coco (*Cocos nucifera*), puede ser usado como materia prima para la manufactura de productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos. Contiene ácidos grasos y triglicéridos de cadena media (AGCM), que tienen valor nutricional, los AGCM junto con los ácidos grasos insaturados (especialmente los esenciales) son componentes comunes de lípidos estructurados. (Nugrahini *et al.*, 2015).

Los TAGs predominantes en el aceite de coco son: trilaurina (3C12), capro, 2,3-dilauril glicérido (C10-C12-C12), y 1-capro, 2-lauril, 3-miristil glicérido (C10-C12-C14). La mayoría de los beneficios saludables del aceite de coco se atribuyen al alto contenido de ácido láurico. Alrededor del 60% de los TAGs del aceite de coco contienen los AGCM láurico (C12) o cáprico (C10) en las posiciones *sn*-1 o *sn*-3. Esto es importante porque las lipasas del organismo hidrolizan a los TAGs más rápido si los AGCM ocupan estas posiciones, con ventaja sobre los ácidos grasos de cadena larga (AGCL). Los AGCM presentan mayor solubilidad

en agua que los AGCL, por lo que no requieren ser empacados y transportados en quilomicrones, y la mayoría de ellos son transportados directamente al hígado, donde son convertidos en energía y otros metabolitos en lugar de ser almacenados como grasa. Es un hecho que el ácido láurico es el AG que menos contribuye a la acumulación de grasa corporal (Cassiday, 2016).

El aceite de coco es uno de los más utilizados para una gran variedad de aplicaciones, desde productos alimenticios, cosméticos, farmacéuticos, hasta su uso en producción de biodiesel; en todos estos procesos, sus propiedades de cristalización son grandemente apreciadas (Chaleepa *et al.*, 2010).

2.1.6. Manteca de Cerdo

De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-110-1999, la manteca de cerdo es: “el producto semi-sólido graso obtenido por la fusión o cocción o fritura de los tejidos adiposos, frescos, limpios y sanos del cerdo, en buenas condiciones sanitarias en el momento de su sacrificio y apto para el consumo humano”.

La manteca de cerdo se obtiene del tejido adiposo del cerdo por el proceso conocido como “*rendering*”. Los ácidos grasos principales en la manteca de cerdo son: ácido palmítico (C16:0) 20-29%, ácido esteárico (C18:0) 11-19%, ácido oleico (C18:1) 24-51% y ácido linoleico (C18:2) 3-19%. Los triglicéridos monos y di-insaturados son los grupos predominantes. La manteca de cerdo es única entre otras grasas, pues sus ácidos grasos saturados se localizan comúnmente en la posición *sn*-2, mientras que los ácidos grasos insaturados se localizan en los extremos de la molécula de glicerol. Es este factor el que hace que la manteca de cerdo forme cristales grandes e irregulares de tipo β , responsables de la sensación granulosa y poco agradable, conocida como granado, que se presenta en la manteca al cabo de poco tiempo en almacenamiento. Los cristales β' son preferibles, por ser de menor tamaño y presentar mayor regularidad. La interesterificación tiene aplicación para lograr este cambio en el patrón de cristalización. (López de la Fuente, 2014; Steen *et al.*, 2015).

2.1.7. **Aceite de cártamo**

El cártamo es un cultivo principalmente para producción de aceite; el cual tiene muy buenas propiedades por su alto contenido de ácidos oleico y linoleico, comparado con otros cultivos de oleaginosas. Además, tiene la ventaja de una producción de bajo costo frente a cultivos como el de oliva. El aceite de cártamo cuenta con muchas aplicaciones en industria de alimentos, cosmética y farmacéutica. En pruebas de estructuración por organogelación se ha utilizado como modelo de solvente debido a propiedades de interés que posee como: alta actividad antioxidante – que le confiere mayor estabilidad en almacenamiento y su alto contenido en ácidos grasos ω -6 – lo convierten en una opción saludable para su consumo (Khalid *et al.*, 2017) El aceite utilizado en esta investigación fue específicamente el aceite de cártamo alto en ácido oléico, HOSFO por sus siglas en inglés (High Oleic Safflower Oil) utilizándose como un control de solvente para los oleogeles desarrollados, frente a la mezcla de este mismo aceite con aceite de coco.

2.1.8. **Manteca de cacao y sustitutos**

El chocolate es un alimento muy consumido debido a sus atractivos atributos sensoriales: aroma, sabor y palatabilidad agradables e incluso por su valor nutricional, siendo la manteca de cacao el componente más importante y costoso de los chocolates (Wang *et al.*, 2011). La manteca de cacao se obtiene de las semillas de *Theobroma cacao*, y además de la elaboración de chocolate, esta grasa es comúnmente utilizada como ingrediente esencial de otros productos de confitería debido a sus propiedades fisicoquímicas específicas: es sólida a temperatura ambiente (por debajo de 25 °C) derritiéndose a la temperatura corporal (alrededor de 37 °C). La composición de ácidos grasos consiste principalmente en ácidos palmítico (P C₁₆), esteárico (St C_{18:0}), oleico (O C_{18:1}) y linoleico (L C_{18:2}) y pequeñas cantidades de ácido láurico (C₁₂) y mirístico (C₁₄) (Jahurul *et al.*, 2013). La composición de TAGs de la manteca de cacao, al ser una grasa vegetal, es relativamente simple; solamente tres TAGs componen cerca del 90% del total de la fracción monoinsaturada de esta

manteca: POP (TAGs con ácido palmítico en posición *sn*-1, ácido oleico en *sn*-2, y palmítico en *sn*-3 - 20%), POST (palmítico-oleico-esteárico - 40%) y (esteárico-oleico-esteárico - StOSt 27%) (Mohamed, 2015). Los poliinsaturados y triinsaturados corresponden al resto del total de los TAGs (Loisel *et al.*, 1998). Por ser el ingrediente ideal para la manufactura de chocolate, su demanda es muy alta y su suministro suele ser limitado y de precio muy fluctuante; lo que ha llevado a la industria a buscar alternativas. Estas alternativas se clasifican de manera general en: reemplazos, equivalentes y sustitutos de manteca de cacao (DeClercq *et al.*, 2017). Los sustitutos contienen grasas láuricas y mirísticas vegetales, con algunas similitudes físicas a la manteca de cacao, aunque químicamente puedan ser diferentes (Jahurul *et al.*, 2013).

Se han desarrollado equivalentes y sustitutos de manteca de cacao, a partir de aceites vegetales así como de grasas animales, modificados por métodos como fraccionamiento e interesterificación, con resultados promisorios (Kadivar *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2007).

2.2. Estructuración de lípidos.

Los triglicéridos naturales tienen patrones específicos de distribución de ácidos grasos, lo que puede limitar o ampliar su uso para ciertos propósitos. Los aceites vegetales, considerados los lípidos comestibles más importantes en el mundo, carecen de las propiedades funcionales requeridas para el diseño y producción de alimentos, como textura y estabilidad a la oxidación (Toro-Vázquez *et al.*, 2007). Para tener propiedades deseables como palatabilidad, textura, plasticidad o dureza; el desarrollo de alimentos se basó por mucho tiempo en el uso de grasas saturadas de origen animal e hidrogenadas. En las últimas décadas, los avances en los conocimientos en alimentación y nutrición, han permitido documentar los efectos adversos de los ácidos grasos saturados y *trans* (Stortz *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015). Por esta situación, diversos grupos de investigación en el mundo, han trabajado en desarrollar métodos para estructurar lípidos, como alternativa para sustituir estas grasas alimentarias. Por otro lado, existen grasas y aceites que no son viables para su

aplicación en muchos productos alimenticios, principalmente debido a sus dificultades para cristalización, intervalo inadecuado de temperatura de fusión y por su consistencia. Muchas grasas de origen animal no se consideran buenas opciones para la formulación de alimentos, sin embargo, son un subproducto constante de la producción de carnes y derivados, por lo que su utilización representaría su mejor aprovechamiento (Jiménez-Colmenero, 2007; de Oliveira *et al.*, 2015). En el mismo sentido, existen otras materias primas grasas en la industria de alimentos, pero que presentan un alto costo con suministro incierto; entre estas se encuentran como ejemplos, las grasas lácteas y la manteca de cacao (Ríos *et al.*, 2014; Gregersen, Miller *et al.*, 2015). Por lo tanto, es una necesidad el buscar procesos de modificación para que aceites vegetales y grasas con poca funcionalidad, puedan ser aplicables y útiles en una mayor variedad de productos.

La estructura típica de TAGs ha sido descrita por su cristalización en diferentes formas cristalinas, que pueden agruparse de acuerdo con el arreglo que conforman las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos. Las formas principales son α , β' y β ; esta nomenclatura está basada en cómo las moléculas de cadenas largas (no solamente TAGs) cristalizan en diferentes formas polimórficas (Sangwal y Sato, 2012). El comportamiento, características y atributos sensoriales de muchas grasas y productos derivados (chocolate, mantequilla, margarinas, grasas untables), están determinados principalmente por su microestructura. En términos tecnológicos, el concepto de estructura está relacionado con la organización de los elementos cristalinos, sus similitudes, formación de unidades y las interacciones para su agrupamiento. En sistemas alimentarios, la estructuración tiene un papel fundamental en determinar las propiedades de las materias primas. Durante el proceso de cristalización van desarrollándose las propiedades mecánicas y sensoriales del producto final, así como también su vida útil (Peyronel *et al.*, 2010).

El principal criterio para cualquier forma de estructuración de aceites, es la inmovilización de un sistema de TAGs líquidos, esto puede lograrse por medio de un oleogel. En donde las moléculas estructurantes (gelantes) se

autoensamblan construyendo una red tridimensional cristalina con microdominios donde se encuentra el aceite inmovilizado por medio de tensión superficial y capilaridad. Los oleogeles resultantes tienen propiedades viscoelásticas y termorreversibles (Lupi *et al.*, 2017).

Para obtener productos con propiedades fisicoquímicas deseables, las grasas y aceites naturales también pueden modificarse a través de técnicas como: hidrogenación total o parcial, interesterificación y fraccionamiento (Zhang *et al.*, 2015).

2.2.1. Interesterificación

La interesterificación es un término general para las reacciones de un éster con otro grupo éster (intercambio éster-éster), con un ácido graso (acidólisis) u opcionalmente con un grupo alcohol (alcoholisis). La interesterificación puede hacerse por vía química o enzimática. El intercambio éster-éster, modifica las propiedades fisicoquímicas de los lípidos al reacomodar la distribución de ácidos grasos en el núcleo de glicerol, sin cambiar el perfil de ácidos grasos. Este re-arreglo puede o no, ser estereoselectivo, dependiendo de las condiciones del proceso y/o del catalizador utilizado (De Clercq *et al.*, 2012).

A diferencia del fraccionamiento y la hidrogenación, la interesterificación permite un rearrreglo de los grupos acilo existentes, dentro de una molécula de triglicérido o entre moléculas de triglicéridos, lo que resulta en una composición más homogénea del triglicérido. Al no actuar sobre la estructura de los ácidos grasos no se produce isomerización geométrica ni posicional de los dobles enlaces y por lo tanto no se forman ácidos grasos *trans* (Zhang *et al.*, 2015).

2.2.1.1. Interesterificación química

La interesterificación química ha sido estudiada por décadas. En la industria, los catalizadores utilizados son alquilatos de sodio, sodio metálico, mezclas de sodio/potasio e hidróxidos de sodio y potasio en combinación con glicerol (metóxidos). Los costos de la interesterificación enzimática le dan ventaja industrial al proceso químico, en el que de entrada no es necesario el

considerar todos los factores que implica la interesterificación enzimática (precio, actividad, estabilidad, temperatura, pH, impurezas, etc.).

La gran desventaja de la interesterificación química es que el intercambio de los ácidos grasos se hace al azar, las posiciones *sn*-1, 2 y 3 de la molécula de glicerol son esterificadas indistintamente, por lo cual se producen mezclas de triglicéridos de composición variable; además de la probable formación de jabones, metil-ésteres, ácidos grasos libres, peróxidos e hidrógeno, productos de la descomposición de TAGs (García, 2008; Zhang *et al.*, 2015).

2.2.1.2 Interesterificación enzimática

La interesterificación enzimática ofrece la ventaja de un mayor control sobre la distribución posicional de los ácidos grasos en el producto final, debido a la selectividad y especificidad de las enzimas lipasas. Además, esta técnica permite la modificación de las grasas sin el uso de agentes químicos, mientras que el uso de lipasas específicas para las posiciones *sn*-1,3 permite la síntesis de triglicéridos específicos (da Silva *et al.*, 2012).

El uso de estas enzimas regioselectivas se aplica para el diseño de grasas como: sustitutos de manteca de cacao, agentes anti- exudación y cristalización, sustitutos de leche materna, sustitutos de grasas *trans* y grasas bajas en calorías (De Clercq *et al.*, 2012).

Las lipasas son altamente eficaces bajo condiciones controladas de reacción (pH, temperatura < 70 °C, presión atmosférica), lo que reduce costos y consumo de energía. Al utilizar lipasas selectivas de posición 1,3; se pueden mantener a los ácidos grasos en la posición *sn*-2 del acilglicerol. Esto es deseable nutricionalmente hablando, y muy difícil de lograr por catálisis química. El uso de lipasas también puede reducir la contaminación ambiental al reducir la formación de productos secundarios. (Da Silva *et al.*, 2009; Da Silva, 2013).

2.2.1.2.1. Lipasa de *Candida antarctica*

Las lipasas microbianas son de las enzimas con mayor potencial biotecnológico, al catalizar no sólo reacciones hidrolíticas sino también reacciones de síntesis en medios con baja actividad acuosa. (Szczena-Antczak *et al.*, 2014).

Las lipasas (E.C. 3.1.1.3) son parte de la familia de las hidrolasas, catalizan la hidrólisis de triglicéridos en la interfase lípido-agua. Las lipasas más típicas presentan activación interfacial en contacto con sustratos hidrofóbicos, por lo que exhiben una actividad significativamente incrementada en la interface lípido-agua. Además de su papel fisiológico en la hidrólisis de grasas neutras, las lipasas pueden catalizar, bajo condiciones hidrolíticas inversas, otros tipos de reacciones como esterificación, interesterificación y transesterificación en medios no acuosos (Rivera-Pérez *et al.*, 2007; Divakar, 2013; Szczena-Antczak *et al.*, 2014).

Estas enzimas contienen una tapa estructurada por un oligopéptido hidrofóbico, que cubre la entrada a su sitio activo. Esta tapa se abre en presencia de interfaces hidrofóbicas (en presencia de lípidos o solventes orgánicos) debido al cambio conformacional que sufren, adquiriendo una estructura abierta en la que el sitio activo está accesible a los sustratos; la tasa de hidrólisis aumenta a medida que aumenta la exposición del sitio activo. (Nandi, 2011). Por otro lado, en la ausencia de estas interfaces, esta tapa cubre el sitio activo, haciéndolo inaccesible a los sustratos (Divakar, 2013).

La lipasa B de *Candida antarctica* es una de las más efectivas en procesos de inter y transesterificación. Se trata de una proteína globular compuesta de 317 aminoácidos con un peso molecular de 33 kDa. El sitio activo de esta lipasa tiene la particularidad de proveer a la enzima una excelente estereoselectividad con su sustrato. La presentación comercial de esta lipasa, Novozym 435, producida por Novozymes de Dinamarca, tiene la extraordinaria habilidad de catalizar reacciones de esterificación regio-selectivas en grasas, azúcares y nucleósidos (Li *et al.*, 2015).

2.2.2. Organogelación

En años recientes, la organogelación ha sido estudiada por investigadores en alimentos como una alternativa, de alto potencial, a las formas convencionales de estructuración (fraccionamiento, hidrogenación) basadas en la cristalización de TAGs. Los organogeles pueden definirse como materiales supramoleculares, termorreversibles y bicontinuos en donde el agente gelante se autoensambla y forma una red tridimensional cristalina atrapando físicamente líquidos orgánicos. Se han identificado diversos organogelantes, o compuestos responsables de la gelación, presentando la capacidad de gelar a concentraciones por debajo del 10%, algunos pueden hacerlo incluso en concentraciones tan bajas como 0.5-2%. Cuando el líquido orgánico es un aceite, el sistema se define como un oleogel (Zetzi y Marangoni, 2012). Para aplicación en sistemas alimentarios, el uso de organogeles permite una reducción significativa de ácidos grasos saturados y la eliminación de ácidos grasos *trans* en las formulaciones, y por consiguiente en la dieta (de la Peña *et al.*, 2017) Un tipo específico de organogel, el oleogel, está compuesto por un aceite líquido comestible como fase continua, el cual queda físicamente atrapado en la red tridimensional y termorreversible de moléculas orgánicas autoensambladas (Patel, 2018).

Los mecanismos de estructuración involucrados en un sistema organogelado pueden explicarse a) como una fase dispersa en forma de partículas sólidas cristalizadas o no; b) como estructuras complejas auto-ensambladas que se mantienen unidas por interacciones supramoleculares. (Bin Sintang *et al.*, 2016). Esto provee el ensamble molecular para desarrollar una red continua tridimensional necesaria para dar estructura al aceite. La formación de esta red inicia por enfriamiento de una dispersión caliente de las moléculas de gelante en el aceite; es importante que este material gelante posea un balance entre su afinidad por los aceites, y una insolubilidad suficiente en esos solventes, que permita la formación de partículas primarias (supersaturación). También intervienen factores externos como la temperatura, que puede influir en las interacciones soluto-solvente (Rogers, 2017; Patel, 2018).

Un sistema organogelado puede contener un solo componente o puede ser un sistema multicomponente. Ejemplos de agentes organogelantes son: ácidos grasos, alcoholes grasos, fosfolípidos, fitoesteros, ácido 12-hidroxiesteárico, ácido ricinelaídico, ceras (cera de candelilla). Sin importar la composición, los organogeles tienen muchas aplicaciones potenciales en productos alimentarios, como la restricción de la movilidad y migración de aceites, reemplazar ácidos grasos *trans*, estabilización de emulsiones, liberación de compuestos nutracéuticos, entre otros (Bot *et al.*, 2009; Hughes *et al.*, 2009)

2.2.2.1. Agentes organogelantes

Los agentes estructurantes moleculares con propiedades anfifílicas, tienen el potencial de convertir solventes orgánicos líquidos en organogeles semisólidos (materiales suaves) a muy bajas concentraciones. Los gelantes moleculares (Cuadro 2) son moléculas pequeñas (PM<3.0 kDa) que, al ser dispersados en el solvente, pueden autoensamblarse, o cristalizar de tal forma que se obtenga una estructura tridimensional.

Cuadro 2. Clasificación de agentes gelantes moleculares.

Comportamiento Gelante	Gelantes de bajo peso molecular
Auto ensamble	Monoacilglicéridos Ceramidas Fitoesteros+oryzanol Derivados de sorbitan Derivados de carbohidratos
Partículas cristalinas	Ácidos grasos, alcoholes grasos Ácidos grasos + alcoholes grasos Ácidos grasos hidroxilados Ceras, ésteres de ceras Triacilglicéridos

Sagiri *et al.*, 2018.

El autoensamble de organogelantes de bajo peso molecular se desarrolla por medio de interacciones de corto alcance entre moléculas de gelante, estabilizadas por la afinidad inter-cadenas (puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, y apilamiento pi). Factores térmicos como la formación de fase isotrópica por calentamiento; la influencia fisicoquímica del superenfriamiento, permiten alcanzar la nucleación y el crecimiento cristalino, base del ensamble molecular que permite la organogelación (Da Pieve *et al.*, 2010; de la Peña *et al.*, 2017).

2.2.2.1.1. **Monoglicéridos como agentes gelantes**

Existe un extenso número de agentes gelantes que han sido propuestos en diversas publicaciones. Principalmente, monoglicéridos, ceras, fitoesteres, ácidos grasos, alcoholes grasos, y algunos polímeros como la etilcelulosa. Entre los agentes organogelantes de bajo peso molecular, los monoglicéridos (MAGs) han sido ampliamente estudiados y considerados entre los más promisorios por su eficiente capacidad estructurante, su bajo costo y versatilidad, además de su uso ya bien conocido como emulsificantes alimentarios (Lupi *et al.*, 2017). Los MAGs son moléculas lipídicas compuestas por un ácido graso esterificado a un grupo hidroxilo de la molécula de glicerol (Vaclavik y Christian, 2014). Una de las estrategias de estructuración de aceites puede lograrse aprovechando la fase líquida cristalina que desarrollan los monoglicéridos saturados en solventes hidrofóbicos. De manera especial, los MAGs saturados han demostrado su capacidad de formar geles elásticos en aceites, a través de una red cristalina (Da Pieve *et al.*, 2010). La gelación y cristalización de MAGs se destaca por la formación de cuatro fases: isotrópica, lamela inversa, sub- α cristalina y β -cristalina (Bin Sintang *et al.*, 2016). Cuando la mezcla de aceite y monoglicéridos se calienta por encima de la temperatura de fusión de estos (fase isotrópica), y se lleva a enfriamiento, los monoglicéridos se auto ensamblan en una bicapa lamelar inversa: las cadenas alifáticas orientadas hacia afuera de la lamela y las cabezas hidrofílicas comprimidas en medio de la bicapa adoptando una conformación bidimensional

hexagonal (Chen *et al.*, 2009). Este cristal α puede pasar a la fase sub- α , esta transformación es térmicamente reversible. La fase de transición entre sub- α y α también posee reversibilidad térmica. Estas dos fases α , son termodinámicamente inestables por lo que gradualmente se transforman en un cristal β (Wang y Marangoni, 2016). Estas estructuras comúnmente se desarrollan en plaquetas lamelares para finalmente formar una red tridimensional continúa atrapando el aceite líquido (Valoppi *et al.*, 2016).

2.2.2.1.2. **Ácidos grasos y derivados como agentes gelantes**

Los gelantes de bajo peso molecular tienen ciertas propiedades determinadas por aspectos termodinámicos y cinéticos, por ejemplo, el tamaño y forma del cristal dependen de propiedades cinéticas del proceso de cristalización del gelante. Muchas moléculas gelantes fueron consideradas no aptas para su uso en alimentos, pero un sistema con una aplicación potencial destacó en la literatura: una mezcla de ácidos grasos y alcoholes grasos en aceite (Gandolfo *et al.*, 2004).

Normalmente, las propiedades físicas de aceites y grasas, dependen de la composición y distribución de ácidos grasos en la molécula de glicerol de cada lípido en particular. La tendencia dicta que, a medida que la cadena hidrocarbonada de los ácidos grasos es más larga y saturada, el material es más sólido: esto convierte a los ácidos grasos saturados en ingredientes adecuados para estructurar aceites (Schaink, 2007).

Los alcoholes grasos han sido investigados por su potencial aplicación como moléculas organogelantes. Se han probado mezclas de ácidos grasos y alcoholes grasos encontrándose que la mezcla presenta una morfología cristalina diferente con respecto a los componentes puros, resultando en una mejor red estructurada (Lupi *et al.*, 2013).

2.2.2.1.3. Agentes co-gelantes

La capacidad co-gelante, puede observarse en mezclas de moléculas organogelantes en donde se potencian sus capacidades gelantes. Estas combinaciones de estructurantes representan un mayor interés en aplicaciones tecnológicas alimentarias, contra el uso de componentes puros, debido a que resulta más fácil el diseño del sistema estructurado, así como el lograr una mayor compatibilidad de las propiedades del agente estructurante con la aplicación que se desea darle. Con el enfoque de aplicación de gelantes de bajo peso molecular, se han estudiado agentes de naturaleza diversa que pueden dar lugar a procesos de cristalización y estructuración específicos dependiendo de sus interacciones con los solventes, su concentración y los procesos fisicoquímicos de cristalización (Patel, 2018).

Un sistema relevante que ha sido objeto de estudio está compuesto por mezclas de ácidos grasos con alcoholes grasos, ambos de cadena larga, se ha encontrado que tienden a estructurar aceites comestibles más eficientemente que los componentes individuales (Gandolfo *et al.*, 2004; Schaink 2007; Lupi *et al.*, 2013; Lupi *et al.*, 2017). En estos sistemas mixtos, se disminuye la concentración de cada agente gelante, para lograr la estructuración. Estudios térmicos de estos sistemas combinados revelan la presencia de transiciones sólido-sólido con composiciones que no se acercan a los componentes puros; esto se ha atribuido a la formación de cristales mixtos que estarían modificando la cristalización (Bot y Flöter, 2018). Estos comportamientos sinérgicos en mezclas de gelantes, se tomaron como base en este estudio, para analizar sistemas mixtos con un agente gelante principal (MAGs) en combinación, por separado, con dos agentes co-gelantes ácido palmítico (PA) y hexadecanol (HD).

2.3. Caracterización de grasas

2.3.1. Índice de acidez

Procedimiento de la NMX-F-101-1987: El índice de acidez es la cantidad en miligramos de hidróxido de potasio necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres en 1.0 g de aceite o grasa. Permite conocer la estabilidad de aceites y grasas, ya que la acidez de estos materiales se debe a la presencia de ácidos grasos libres, los cuáles son liberados de la molécula de TAGs cuando estos sufren hidrólisis por factores externos que causan esta descomposición.

2.3.2. Índice de yodo

Procedimiento según la NMX-F-152-SCFI-2011: El índice de yodo es la medida de la insaturación de las grasas y aceites y se expresa en términos del número de centigramos de yodo absorbido por gramo de muestra (% de Yodo absorbido).

2.3.3. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

La calorimetría es el método universal para investigar el comportamiento térmico de los materiales. La calorimetría es la rama de la termodinámica cuyo objetivo es medir la cantidad de calor (entalpía, calor específico) almacenado, liberado o involucrado en cualquier estado de la materia, en una reacción o en transiciones de fase. La calorimetría diferencial de barrido (differential scanning calorimetry: DSC) mide las diferencias de flujo de calor hacia la muestra y hacia una referencia, mientras son sometidas a un programa de temperatura controlada (Höhne *et al.*, 2003). Se puede seguir un régimen dinámico o isotérmico: la DSC dinámica es un método continuo en el que la temperatura de la muestra sigue una rampa de temperatura programada; el hecho de que sea diferencial indica que lo que se mide es directamente la diferencia de temperatura entre la muestra y una referencia (generalmente aire). Durante el barrido de temperatura, las diferencias de flujo de calor son registradas en función del tiempo. El diferencial de flujo de calor (poder térmico) se relaciona

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

con el diferencial de temperatura a través del intercambio de calor (Garden y Burgeois, 2012). Mediante esta técnica se caracteriza el perfil de fusión y cristalización de los materiales, y se puede evaluar el efecto de los cambios de composición de los agentes gelantes en los procesos de cristalización y su influencia en el intervalo general de fusión, determinando su estabilidad a procesos térmicos.

2.3.4. Contenido de sólidos grasos por NMR

La resonancia magnética nuclear (nuclear magnetic resonance: NMR) es una técnica basada en el comportamiento (relajación) de un núcleo activo en un campo magnético con radiación de radio-frecuencia pulsada. La relajación es un proceso complejo que va de la excitación al equilibrio, a partir del efecto Zeeman: separación de los niveles de spin nuclear; por aplicación de un campo magnético. Desde 1993 la NMR es el método oficial de la AOCS (American Oil Chemists' Society) para determinar el contenido de grasa sólida de aceites y grasas en la industria de alimentos. El contenido de sólidos grasos indica la razón sólido/líquido de un lípido a varias temperaturas. En comparación con los núcleos en fases líquidas, los núcleos en fases sólidas interactúan más fuertemente con otros núcleos en sus alrededores, debido a la dinámica más lenta de sus átomos, por lo que su relajación es muy rápida ($<10 \mu s$) y puede ser distinguida fácilmente de la lenta relajación que presentan las moléculas en una fase líquida. Muchas propiedades de alimentos (untabilidad, firmeza, sensación bucal, facilidad de procesamiento y estabilidad) están asociados con su contenido de grasa sólida (Peyronel y Campos, 2012).

2.3.5. Microestructura

La microscopía de luz polarizada (MLP) es la técnica más ampliamente usada para visualizar la microestructura de grasas, y ha sido aplicada para explicar las diferencias de viscoelasticidad en mezclas de grasas, revelando diversos tipos de cristales y cambios morfológicos en el crecimiento de estos. Bajo algunas circunstancias, la MLP puede incluso distinguir entre polimorfos basándose en

la forma y tamaño de cristal, además de que permite verificar las transformaciones entre formas polimórficas (Da Silva *et al.*, 2016). La microscopía de luz polarizada provee una visión única de la estructura interna de cristales. La microestructura de redes cristalinas de grasas incluye elementos en un intervalo de longitud desde 0.5 hasta 200 μm ; este nivel microestructural tiene un notorio efecto en las propiedades macroscópicas, por ejemplo, propiedades reológicas, de textura, las cuales pueden ser modificadas al cambiar las condiciones del proceso de cristalización, así como por otras técnicas de modificación de grasas y aceites como la interesterificación. Por consiguiente, la microscopía es una gran herramienta para estudiar la relación entre la microestructura, las condiciones de proceso y las propiedades físicas de las grasas (Peyronel, 2010).

2.3.6. Textura

La textura de las grasas influye en la percepción sensorial de muchos alimentos ricos en grasas (mantequillas, margarinas, chocolate, etc.). Es generalmente aceptado que la textura tiene gran relación con el contenido de sólidos grasos (CSG) y también con la microestructura. Las pruebas de penetración de compresión y de deformación son las técnicas más usadas para evaluar la textura de grasas (Gregersen *et al.*, 2015).

2.3.7. Reología

Por definición, la reología es el estudio de la deformación y el flujo de la materia.

Los alimentos contienen estructuras y multifases, desde la escala nanoscópica hasta la macroscópica. Estas estructuras están presentes para proveer cierta funcionalidad a los alimentos como: valor nutricional, textura, coadyuvación del procesamiento y estabilidad en el almacenamiento. La textura de productos basados en grasa se ve afectada por las propiedades de la red cristalina grasa, y de su reología, que es producto del contenido de grasa sólida, el procesamiento, la microestructura y la interacción de ingredientes. La reología

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

es una herramienta esencial en la ingeniería de alimentos. Se usa para establecer relaciones entre el esfuerzo y deformación, y al ser los alimentos sistemas más complejos que la mayoría de los materiales, son más fuertemente dependientes de las escalas de tiempo en el proceso de deformación (tixotropía, elasticidad) así como del corte e historia térmica (Stokes *et al.*, 2013; West y Rosseau, 2016).

En el caso de las grasas cristalizadas, la reología depende de la temperatura, velocidad de enfriamiento, el polimorfismo de los cristales, así como su microestructura, la composición de ácidos grasos en los TAGs, y el contenido de sólidos grasos.

Las pruebas dinámicas, como la reología oscilatoria, se utilizan para evaluar el comportamiento viscoelástico de materiales como los oleogeles. Al hablar de viscoelasticidad, se da definición a los materiales que presentan comportamiento tanto viscoso como elástico, entendiéndose que un material viscoso ideal presenta fluidez o deformación continua, sin recuperar su estado inicial de deformación cero. Por su parte, un material elástico ideal, sufre de deformación instantánea (γ) y recuperación inmediata a esa deformación. Cuando la amplitud de la oscilación no es muy grande, el material puede someterse a esfuerzos cortantes sin el rompimiento de ninguna estructura molecular dentro de la muestra, en donde para un material elástico, el esfuerzo cortante es proporcional a su deformación; mientras que un material viscoso presentará proporcionalidad entre el esfuerzo cortante y la tasa de corte (Figura y Teixeira, 2007). En condiciones de baja deformación, y a diferentes frecuencias (barridos de frecuencia), pueden obtenerse los parámetros viscoelásticos: módulo de pérdida (G''), asociado al componente viscoso; y el módulo de almacenamiento (G') referente al componente elástico. Para esto es necesario determinar la región viscoelástica lineal (RVL), la cual provee información importante sobre el crecimiento de los cristales y estructuración (Lupi *et al.*, 2016). Dentro de la RVL, el esfuerzo no provoca rompimiento de estructuras; al encontrarse la estructura intacta, el comportamiento viscoelástico puede ser estudiado.

Para analizar el comportamiento físico de oleogeles, la reología oscilatoria es una herramienta que provee información de interés para caracterizar los sistemas. Los barridos de deformación a una frecuencia constante permiten definir la RVL, en la cual el material presenta estructura, subsecuentemente se define un valor, igualmente constante, de deformación, que esté dentro de la RVL, para realizar barridos de frecuencia que permitan descubrir la naturaleza reológica de los materiales oleogeles y si su comportamiento corresponde al de la viscoelasticidad deseada (Bin Sintang *et al.*, 2016).

3. JUSTIFICACIÓN

En años recientes, se ha reportado en todo el mundo un detrimento en las condiciones de salud de la población y por lo tanto en su calidad de vida. Aunque empieza a haber consciencia del cuidado de la alimentación y la salud, se ha observado un cambio muy notorio principalmente en las costumbres de alimentación, pues se han desplazado los alimentos nutritivos e ingredientes saludables, por alimentos con un alto grado de procesamiento industrial, que incluyen componentes que pueden ser perjudiciales a la salud. En el caso de los lípidos, el problema es el contenido de grasas *trans* y sus implicaciones negativas en el metabolismo. Desde hace décadas, la producción de grasas sólidas y semisólidas se ha hecho a través del proceso de hidrogenación de aceites vegetales. En los últimos años se ha demostrado que este tipo de grasas contienen altas cantidades de ácidos grasos *trans*. Por su efecto perjudicial para la salud de los consumidores, en todo el mundo se han tomado medidas para disminuir el uso de grasas *trans* en la producción de alimentos, lo que se traduce en una necesidad de crear tecnologías alternativas que permitan obtener productos grasos con características fisicoquímicas y sensoriales similares a las grasas plásticas (sólidas y semisólidas), sin sus implicaciones negativas. Recientemente se ha difundido el uso del aceite de coco por sus propiedades nutricionales y las aplicaciones cosméticas y farmacéuticas que pueden dársele; asimismo, para aplicaciones tecnológicas se han destacado sus características fisicoquímicas como su composición especial (45-53% de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

ácido láurico) y su comportamiento de cristalización. Por otro lado, en México se obtienen y se consumen grandes cantidades de grasa de cerdo, en alimentos como antojitos, frituras y algunos productos de panificación; sin embargo, sus características sensoriales: olor, sabor y textura, la convierten en un producto no aceptable para muchas aplicaciones en tecnología alimentaria. La grasa de cerdo posee características de textura indeseables para su uso como grasa plástica, por la granulosis que la caracteriza. Por otra parte, debido a la naturaleza de los ácidos grasos componentes de sus TAGs (esteárico y palmítico), de cadenas alifáticas saturadas y relativamente largas, es una grasa que posee una alta estabilidad a la descomposición por oxidación, calentamiento, etc, En este estudio se eligió el aceite de coco como material para obtener mezclas interesterificadas con manteca de cerdo, y de esta manera, con la contribución de los atributos del aceite de coco, modificar las características de solubilidad, cristalización y comportamiento térmico de la manteca, ampliando así las posibilidades de una aplicación tecnológica para esta grasa que posee características fisicoquímicas pobres. De igual forma, se pretende, con estas mezclas, proveer al aceite de coco los componentes (ácidos grasos) de la manteca de cerdo que pueden contribuir con la estabilidad térmica y de mayor resistencia a los procesos de enranciamiento. Al tener el aceite de coco propiedades interesantes, se pensó en la estructuración de éste, por el método de organogelación, en una mezcla con aceite de cártamo alto en ácido oleico, y de esta manera obtener un solvente con las propiedades nutricionales y fisicoquímicas de ambos aceites, para estructuración por organogelación con agentes estructurantes de grado comestible y con una amplia aplicación en diversos sistemas alimentarios, y proyectar nuevas aplicaciones aportando a las ya estudiadas en charcutería, desarrollo de untables y panadería.

4. HIPÓTESIS

Las propiedades fisicoquímicas del aceite de coco serán modificadas mediante interesterificación y organogelación, resultando en sistemas con aplicaciones en la industria alimentaria.

5. OBJETIVO GENERAL

Obtener aceites estructurados con propiedades distintas al aceite original, por medio de interesterificación y organogelación.

5.1. **Objetivos Específicos**

- Modificar el aceite de coco mediante el uso de metóxido de sodio y lipasa de *Candida antarctica* B, en una mezcla con manteca de cerdo en las siguientes proporciones aceite de coco:grasa de cerdo – 20:80 y 30:70.
- Modificar el aceite de coco mediante organogelación, en mezcla con aceite de cártamo rico en ácido oleico (HOSFO por sus siglas en inglés), en proporción (15:85) por medio de una mezcla comercial de MAG, en mezcla con ácido palmítico, y en otro sistema con el alcohol derivado del ácido palmítico, hexadecanol. Adicionalmente compararlo con organogeles formados con únicamente HOSFO como solvente.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas de las grasas modificadas.
- Encontrar posibles aplicaciones en la industria alimentaria de las grasas obtenidas.

6. METODOLOGÍA

6.1. Materiales y reactivos

Aceite de coco de la marca Hain

Grasa de cerdo del obrador San Francisco, Aguascalientes, Ags., México

Aceite de cártamo alto en ácido oleico (Oléico)

Manteca de cacao; Pealpan, San Luis Potosí, SLP

Lipasa inmovilizada de *Candida antarctica B* (Novozyme® 435)

Metóxido de sodio (Sigma-Aldrich)

Mezcla comercial de monoglicéridos (Palsgaard, San Luis Potosí)

Ácido palmítico (Sigma-Aldrich)

Hexadecanol (Sigma-Aldrich)

6.2. Modificación de grasas

6.2.1. *Interesterificación química*

Método de Riquelme, 2006; modificado: Se trabajó con 100 g de muestra para cada interesterificación. En el matraz de un rotavapor IKA® RV 10 con regulador de temperatura IKA® HB 10, se colocaron las muestras a estudiar. El sistema se llevó a 90°C, cuando se alcanzó esta temperatura, se agregaron 0.4 g del catalizador metóxido de sodio. La reacción de interesterificación se llevó a cabo en condiciones de vacío y agitación constante (300 rpm) durante 40 min. Al término de la reacción, se agregó ácido cítrico para neutralizar al catalizador; el ácido cítrico se retiró con tres lavados con 150 mL de agua destilada caliente, en un embudo de decantación. Nuevamente se aplicó vacío a la muestra interesterificada con una bomba de vacío Mastercool 6CFM para retirar la humedad, hasta que dejó de observarse burbujeo. Las muestras se envasaron y se almacenaron a 0 °C.

6.2.2. *Interesterificación Enzimática*

Método de De Clercq, 2012: En el matraz de un rotavapor IKA® RV 10 con regulador de temperatura IKA® HB 10, se colocaron 100 g de cada una de las muestras; se precalentaron a 70 °C durante 30 minutos, para posteriormente

agregar la enzima *Candida antarctica* B a una concentración de 1%. La reacción continuó a 70 °C con agitación constante a 200 rpm durante 30 h, y en condiciones de vacío. Al término de la reacción, las grasas interesterificadas se filtraron para recuperar la enzima, se les hicieron tres lavados con 150 mL de agua destilada caliente, en un embudo de decantación. Se almacenaron a 0 °C.

6.2.3. Organogelación

Se determinó la concentración crítica gelante (CCG) de los agentes estructurantes: mezcla comercial de MAGs como gelante principal y ácido palmítico (PA) y hexadecanol (HD) como co-gelantes. Los aceites a estructurar: HOSFO y BLEND (HOSFO:Aceite de coco – 85:15). Se realizó la dilución del gelante en el sistema correspondiente comenzando con las siguientes concentraciones: 1, 2 y 3%; hasta encontrar la concentración por debajo de la cual ya no exista la auto estructuración del gelante en el sistema, determinándose así la CCG. Se elaboraron geles de 5 g mezclando el gelante en el aceite, se sometieron a calentamiento a 80 °C durante 40 min., para después ser almacenados a 15 °C durante 3.5 h. La CCG del PA = 2% en HOSFO y 3% en MEZCLA. La CCG del HD = 2.5% en HOSFO y 3.5% en MEZCLA.

A partir de la identificación de la CGC de cada gelante, se elaboró el siguiente diseño experimental (Cuadro 3):

Cuadro 3. Diseño experimental de los sistemas estructurados por organogelación

HOSFO/MEZCLA				
Co-gelante	MAGC1	MAGC2	MAGCGC	MAGC3
PA CGC				
HD CGC				

Donde:
 CGC = Concentración crítica gelante
 C1 = ½ C2
 C2 = ½ CGC
 C3 = CGC + 1%

El diseño se creó para poder observar las posibles interacciones entre el gelante y co-gelantes para lograr la estructuración del aceite como un organogel.

6.3. Caracterización de las grasas interesterificadas

6.3.1. Índice de acidez

Procedimiento de la NMX-F-101-1987: Se disolvieron 10 g de la muestra en 150 mL de mezcla al 50% de alcohol-éter caliente. Se tituló con solución alcohólica de KOH al 0.1 N, usando 1 mL de fenolftaleína al 0.1% como indicador. El punto final de la titulación se definió con un color rosa que persistió por 30 segundos. Se hizo el cálculo del índice de acidez a partir de la siguiente fórmula:

$$IA = (56.1 * N * V)/M$$

donde 56.1 = equivalente químico de la potasa, N = Normalidad de la solución de KOH, V = mililitros de la solución valorada de KOH gastados en la titulación de la muestra, M = masa de la muestra en gramos. Cada determinación se realizó con una réplica.

6.3.2. Índice de yodo

Procedimiento según la NMX-F-152-SCFI-2011: Se fundió la muestra de prueba (la temperatura durante la fusión no debe exceder 10 °C al punto de fusión) y se filtró con 2 piezas de papel filtro, para eliminar impurezas sólidas y trazas de humedad. La muestra debe estar entre 68 °C – 71 °C. Se pesó 1 g de muestra, se agregaron 20 mL de ciclohexano agitando la mezcla para asegurar que la muestra de prueba está completamente disuelta. Se añadieron 25 mL de solución de Wijs, se tapó y agitó la mezcla para asegurar una mezcla íntima. Se almacenaron los matraces en un lugar oscuro durante 1 hora a una temperatura de 25 °C ± 5 °C. Se preparó y condujo un blanco simultáneo a la prueba. Al pasar el tiempo de almacenamiento se adicionaron 20 mL de solución de

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

yoduro de potasio, seguida de 100 mL de agua destilada. Se tituló con solución de tiosulfato 0.1 M, adicionándolo gradualmente y con agitación vigorosa y constante, hasta que el color amarillo casi desapareció. Se agregaron 2 mL de solución de almidón y continuó la titulación hasta que desapareció el color azul. El índice de yodo se determinó a partir de los valores de: volumen de solución tituladora, del blanco, volumen de solución tituladora, de la muestra (mL), molaridad (M) de la solución tituladora, masa en gramos de la muestra. Cada determinación se realizó con una réplica.

6.3.3. DSC

Las características térmicas de las muestras fueron determinadas con un calorímetro diferencial de barrido (DSC) modelo Q1000 (TA instruments, New Castle, DE, USA). Aproximadamente 5 mg de cada muestra fueron colocadas en una charola de aluminio, sellada herméticamente, para obtener los termogramas de cristalización y fusión. Las muestras se equilibraron a 80 °C durante 15 minutos, se llevaron posteriormente a -40 °C a una velocidad de 10 °C/min y se mantuvieron a ésta temperatura durante 2 min. Finalmente, se calentaron nuevamente hasta 80 °C a una velocidad de 5 °C/min. Se obtuvieron los parámetros térmicos utilizando el software TA Instrument Universal Analysis 2000 (v. 4.5^a). Cada determinación se hizo con una réplica.

6.3.4. Mezclas de sistemas interesterificados con manteca de cacao

Al observarse en los resultados obtenidos por DSC, que las mezclas interesterificadas compartían características térmicas particulares con la manteca de cacao, se pensó en su posible aplicación como ingrediente de un sustituto de manteca de cacao. Se realizaron entonces, mezclas de sistemas interesterificados (IBE70) con manteca de cacao al 20% (CBR20), 30% (CBR30), 50% (CBR50), y 80% (CBR80).

6.3.5. Contenido de sólidos grasos

Se determinó el contenido de sólidos grasos (SFC por sus siglas en inglés) mediante el método oficial de la AOCS (Method Cd 16b-93, 1997), utilizando un equipo de NMR de baja resolución: the minispec mq20. Bruker NMR Analyzer (Bruker Analytik; Rheinstetten, Germany). Al ser la manteca de cacao una grasa de características térmicas especiales, debe someterse a un proceso de temperado antes de hacer la medición de su perfil de SFC. Se llenaron los tubos para muestra a una altura de 4 cm, posteriormente se aplicó el siguiente tratamiento térmico:

- Las muestras se fundieron y se almacenaron durante 15 minutos a 100 °C
- 60 °C por 5 minutos.
- 90 minutos a 0 °C.
- 40 horas a 26 °C.
- 90 minutos a 0 °C
- 60 minutos a las temperaturas de medición elegidas: 0, 5, 10, 20, 30, 40 y 60 °C.

Se hizo una réplica de cada medición.

6.3.6. Microestructura por microscopía de luz polarizada (MLP)

Se obtuvieron microfotografías para observar la morfología de las estructuras cristalinas de los sistemas grasos en estudio, con un microscopio de luz polarizada (MLP) Olympus BX51 (Olympus optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) equipado con una video-cámara a color (KP-D50; Hitachi Digital, Tokyo, Japan) y una platina de calentamiento/enfriamiento (TP94; Linkam Scientific Instruments, Ltd., Surrey, England) conectado a una estación de control de temperatura (LTS 350; Linkam Scientific Instruments, Ltd.) y un tanque de nitrógeno líquido. En un portaobjetos se puso 1 gota de cada una de las muestras, fundidas a 60 °C, colocando después un cubreobjetos. Se siguió el mismo programa térmico usado para los análisis de sólidos grasos.

Pasado el tiempo de la incubación a 26 °C durante 40 horas, las muestras se llevaron a 20 y 30 °C, se incubaron durante 60 min más a cada temperatura de medición, para obtener, por último, las microfotografías con un objetivo de 20X.

6.3.7. **Textura**

Se trabajó con un texturómetro TA-XT (Stable Microsystems, Surrey, UK) con un cilindro de aluminio de 20 mm (P/20), usando una celda de 5 kg. Las muestras fueron penetradas a una profundidad de 12 mm a una velocidad constante de 1.0 mm/s; fueron analizadas a 0, 10, 20 y 30 °C, respectivamente. Se evaluó la firmeza (kg) usando el programa del equipo (Texture Exponent 32; Stable Microsystems). Se realizaron 5 mediciones independientes para cada muestra.

6.4. **Caracterización de los sistemas organogelados**

6.4.1. **DSC**

Las características térmicas de las muestras fueron determinadas con un calorímetro diferencial de barrido (DSC) modelo Q2000 (TA Instruments, New Castle, DE, USA). Aproximadamente 5 mg de cada muestra fueron colocadas en una charola de aluminio, sellada herméticamente, para obtener los termogramas de cristalización y fusión. Las muestras se equilibraron a 25 °C, se llevaron posteriormente a 90 °C a una velocidad de 5 °C/min y se mantuvieron a ésta temperatura durante 40 min. A una velocidad de enfriamiento de 1 °C/min, se enfriaron hasta -10 °C, y finalmente se calentaron nuevamente hasta 90 °C a una velocidad de 5 °C/min. Se obtuvieron los parámetros térmicos utilizando el software TA Instrument Universal Analysis 2000 (v. 4.5^a). Cada determinación se hizo con una réplica.

6.4.2. Reología

Se evaluó el proceso de organogelación de los sistemas. Las mediciones reológicas se realizaron con un reómetro Anton Paar (Paar Physica MCR 301, Stuttgart, Germany), usando una geometría plato-plato de 25 mm, equipado con un sistema true-gap. El control de temperatura de las muestras se realizó con un peltier localizado en la base de la geometría, y otro peltier superior (H-PTD 200). El software del equipo Start Rheoplus US200/32 versión 2.65 (Anton Paar, Graz, Austria) permitió la visualización y análisis de los reogramas. Se aplicaron pruebas oscilatorias.

Las muestras se colocaron en la base de la geometría inferior, el plato se ajustó usando la función true gap del equipo. Cada sistema se llevó a 80 °C para después inducir la cristalización hasta 15 °C a una velocidad de 1 °C/min; y posteriormente continuar hasta -2 °C. Inicialmente se hicieron barridos de deformación aplicando una deformación de cizalla desde 0.001 a 100% a 1 Hz de frecuencia constante, para determinar la región viscoelástica lineal (RVL). A partir de un valor determinado dentro de la RVL, para cada muestra, se hicieron los barridos de frecuencia desde 100 hasta 0.01 Hz, para analizar y determinar la estructura de los sistemas a las dos temperaturas indicadas de 15 y -2 °C. Cada barrido de frecuencia se realizó con una réplica.

6.4.3. MLP

Se obtuvieron microfotografías para observar la morfología de los cristales formados en los sistemas organogelados, con un microscopio de luz polarizada Olympus BX51 (Olympus optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) equipado con una video-cámara a color (KP-D50; Hitachi Digital, Tokyo, Japan) y una platina de calentamiento/enfriamiento (TP94; Linkam Scientific Instruments, Ltd., Surrey, England) conectado a una estación de control de temperatura (LTS 350; Linkam Scientific Instruments, Ltd.) y un tanque de nitrógeno líquido. En un portaobjetos se puso 1 gota de cada una de las muestras, fundidas a 50 °C, colocando después un cubreobjetos.

Se siguió el mismo programa térmico usado para reología. Las microfotografías se tomaron en las dos temperaturas de estudio $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ a resoluciones 20X y 50X; cada una con una réplica.

6.4.4. Contenido de sólidos grasos

Se determinó el contenido de sólidos grasos (SFC) mediante el método oficial de la AOCS (Method Cd 16b-93, 1997), utilizando un equipo de Resonancia Magnética Nuclear (NMR) de baja resolución (the minispec mq20. Bruker NMR Analyzer, Bruker Analytik; Rheinstetten, Germany). Siguiendo el mismo programa térmico que en los análisis reológicos y microscopía. Se determinó el perfil de sólidos grasos de cada sistema, con una réplica, a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1. Sistemas Interesterificados

7.1.1. Índice de acidez

El índice de acidez (IA) es un indicador de la calidad de una grasa o aceite, representando la proporción de ácidos grasos libres en un sistema. Este índice expresa la cantidad de KOH (mg) necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres contenidos en 1 g de muestra, lo que representa la proporción de ácidos grasos libres en un sistema graso, permitiendo estimar la estabilidad de la grasa estudiada (Kardash *et al.*, 2005). Puede usarse para estimar la estabilidad de una grasa. De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NMX-F-110-1999, referente a las especificaciones para la manteca de cerdo, el IA no debe ser mayor a 1% (expresado como ácido oleico). Por otro lado, la institución internacional normativa: el Codex Alimentarius, establece que la manteca de cerdo puede presentar valores de IA de hasta 1.25% (CODEX STAN 211, 1999).

Dentro de éste contexto, para las muestras interesterificadas, IB_E80 y IB_E70; el IA resultó mayor a los valores aceptables por las normas, NMX-F-101-1987; NMX-F-110-1999 (4.51%±0.07 and 4.22%±0.1 respectivamente) indicando una cantidad considerable de ácidos grasos libres en estas muestras estudiadas. Por el contrario, para las mezclas IB_C80 y IB_C70; el IA resultó en 0.82%±0.07 y 1.09%±0.06 respectivamente, que se encuentra dentro de los parámetros aceptables. Estos resultados indican que la interesterificación de ácidos grasos por el procedimiento químico es más efectiva que en el proceso enzimático. A pesar de esto, ninguna de las muestras interesterificadas presentó ninguna evidencia visible de defectos sensoriales en términos de olor, color y consistencia (no se muestran resultados).

7.1.2. Índice de yodo

La estabilidad de grasas también puede evaluarse por el índice de yodo (IY), que permite evaluar el grado de insaturaciones en aceites y grasas (Adewale *et al.*, 2014). Los lípidos con un IY más alto tienen mayor tendencia a la oxidación, debido a que presentan un mayor número de dobles enlaces, derivando en menor estabilidad. Para el mismo porcentaje de aceite de coco en las mezclas interesterificadas, los resultados no muestran diferencias significativas entre los IY (61.03 ± 0.6 para IB_E80; 60.91 ± 0.5 para IB_C80- and 34.45 ± 0.6 for IB_E70 y 34.26 ± 0.5 para IB_C70 ($p > 0.01$). Esto debido a que, durante la interesterificación, la composición de ácidos grasos permanece, y por lo tanto también el grado de insaturación, independientemente del tipo de proceso (químico o enzimático). De acuerdo con la norma oficial (NMX-F-110-1999), el IY aceptable para la manteca de cerdo y subproductos es de 45-70, para el caso de la manteca empleada en este estudio, el IY fue de 62.63 ± 1.6 . Por lo tanto, para las mezclas IB_E80 y IB_C80, la cantidad de aceite de coco utilizado, no fue suficiente para cambiar significativamente el IY ($p > 0.01$). Por otro lado, los valores de IY para las mezclas IB_E70 y IB_C70 resultaron menores a los valores aceptados por la norma, aunque mayores que los expresados para aceite de coco (6.3-10.6), esto indica que la más alta proporción de aceite de coco en las mezclas, afecta en gran manera a la manteca de cerdo, debido a los TAG altamente saturados en el coco (NMX-F-110-1999; CODEX STAN 211-1999., 2015) haciéndole más estable a la oxidación.

7.3. Perfil de fusión y comportamiento térmico.

Para la discusión de los resultados de los estudios térmicos, como se muestra en el Cuadro 4 referente al perfil de cristalización, sólo se analizó una temperatura de cristalización: el inicio de cristalización (el inicio del primer exoterma) denominado T_{cr} para todas las muestras. Para el perfil de fusión, todas las temperaturas de fusión fueron analizadas en el máximo de los endotermas (T_{M1} , T_{M2} , T_{M3}). Para las entalpías de cristalización (ΔH_{cr}) y de fusión (ΔH_M), solamente fue determinado un valor, como la suma de todas las

transiciones en el perfil de cristalización y de fusión, respectivamente. Además, las muestras sin interesterificar (UIBs) de manteca de cerdo y aceite de coco, fueron preparadas en las mismas proporciones que las mezclas interesterificadas, como comparación (UIB70, UIB80).

Primeramente, es evidente que el perfil general de fusión de todas las IBs es muy similar entre sí; para la misma proporción, pero diferente método de interesterificación, los parámetros principales de fusión (T_{M1} , T_{M2} , T_{M3} and ΔH_M) no son significativamente diferentes ($p > 0.05$) (Cuadro 4.)

Cuadro 4. Temperaturas de cristalización y fusión de materias primas y mezclas interesterificadas y no interesterificadas.

MUESTRAS	T_{cr} (°C)	ΔH_{cr} (J/g)	T_{M1} (°C)	T_{M2} (°C)	T_{M3} (°C)	ΔH_M (J/g)
CO	a 5.4 ±0.3	a 106.7 ±0.07	-	a 22.5 ±1.4	-	a 130.5 ±5
L	b 13.4 ±3.8	b 71.7 ±0.9	a -5.0 ±1.2	-	a 28.5 ±0.5	b 71.6 ±1.1
IBE 70	c 11.8 ±0.0	c 64.9 ±0.8	b -2.3 ±0.3	b 13.7 ±1.4	a 28.1 ±2.1	c 78.3 ±0.9
IBE 80	b 14.2 ±4.7	b 72.5 ±0.6	a -5.2 ±0.7	b 12.3 ±3.0	a 30.6 ±2.9	d 87.9 ±2.2
UIB 70	a 5.1 ±0.2	d 41.3 ±0.1	b -2.6 ±0.1	b 11.4 ±0.3	b 26.7 ±0.3	e 44.5 ±1.1
UIB 80	d 7.2 ±0.2	e 32.5 ±0.8	c -3.6 ±0.06	b 12.9 ±0.07	a 27.9 ±0.01	e 39.3 ±0.3

Promedio ± DE n=2. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

La gran similitud entre perfiles de fusión de las IBs, también se observa en la Figura 3.

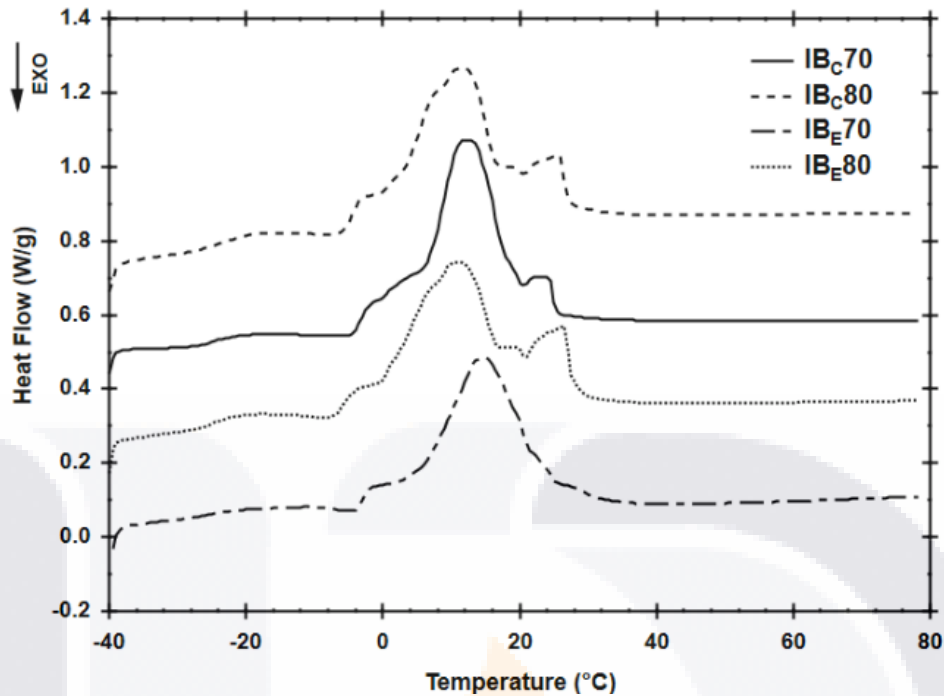


Figura 3. Perfil de fusión de mezclas interesterificadas.

Se estima que una pequeña proporción de enzima utilizada en el proceso enzimático (1%), es probable que el uso de una cantidad mayor pudiera haber resultado en un perfil diferente de triacilglicéridos suficiente para hacer una diferencia en el comportamiento térmico de los productos interesterificados, (De Clercq *et al.*, 2011). Puesto que el método de interesterificación no tiene un efecto significativo en el comportamiento térmico de las mezclas interesterificadas (Cuadro 4), se eligieron solamente las mezclas con tratamiento enzimático para la experimentación y discusión subsiguiente.

Los perfiles de cristalización y fusión resultaron similares a aquellos que han sido reportados previamente para manteca de cerdo y aceite de coco en otros estudios (Kalnin *et al.*, 2005; Ribeiro *et al.*, 2009; Steen *et al.*, 2015).

El comportamiento térmico de estas materias primas presenta múltiples transiciones debido a la complejidad de su composición de TAGs y a su naturaleza polimórfica (Shen *et al.*, 2001; Steen *et al.*, 2015).

En general, la interesterificación provoca la modificación de las propiedades térmicas (T_{cr} , T_{M1-3} , ΔH_{cr} , ΔH_M) de las materias primas nativas y de las mezclas

no interesterificadas-UIBs (Figura 4); las propiedades térmicas de estas últimas, son solamente el resultado de la mezcla de TAGs de la manteca y el aceite de coco, con tres endotermas sumamente distintivos, T_{M1} y T_{M3} de la manteca de cerdo y T_{M2} del aceite de coco, las leves diferencias en los valores se deben al efecto de dilución pues se encuentran formando una mezcla (Da Silva *et al.*, 2013; Miklos *et al.*, 2013). Los valores de ΔH_{cr} y ΔH_M para las grasas no interesterificadas, resultaron menores que los de las dos materias primas (manteca de cerdo y aceite de coco), $p < 0.05$; esto se explica con base en que éstas energías están relacionadas con el arreglo intermolecular (interacciones intercatenarias) de las especies de TAGs pertenecientes a las diferentes formas cristalinas (Da Silva *et al.*, 2012), por lo que la incompatibilidad entre los diferentes TAGs de manteca de cerdo y aceite de coco, probablemente por efecto estérico (Sato, 2001), pudieran causar esa reducción energética. De acuerdo con esto, las diferencias en los parámetros térmicos entre las mezclas interesterificadas y no interesterificadas, son indicativas de los cambios en la composición de TAGs lograda a través del proceso de interesterificación (Silva *et al.*, 2012), esto se debe a que la modificación del perfil de TAGs conlleva a cambios en la cristalización y polimorfismo de las grasas. Las dos mezclas interesterificadas enzimáticamente resultaron en una T_{cr} (Cuadro 4, Figura 4A), con respecto a las mismas mezclas sin interesterificar; esto es un indicativo de que la interesterificación resulta en un mayor porcentaje de TAGs trisaturados (da Silva *et al.*, 2013), por lo que es necesario un menor grado de superenfriamiento para promover la nucleación. Siguiendo la misma tendencia, los valores de ΔH_{cr} y ΔH_M de las muestras interesterificadas enzimáticamente también presentaron valores mayores al compararse con las mezclas sin interesterificar ($p < 0.05$). Con esto se refuerza que la composición de TAGs en las mezclas interesterificadas (IB_{ES}), es la adecuada para promover la formación de cristales con un mayor grado de arreglo intermolecular, por lo que liberan/absorben más energía (Shen *et al.*, 2001; Da Silva *et al.*, 2012; Da Silva *et al.*, 2013).

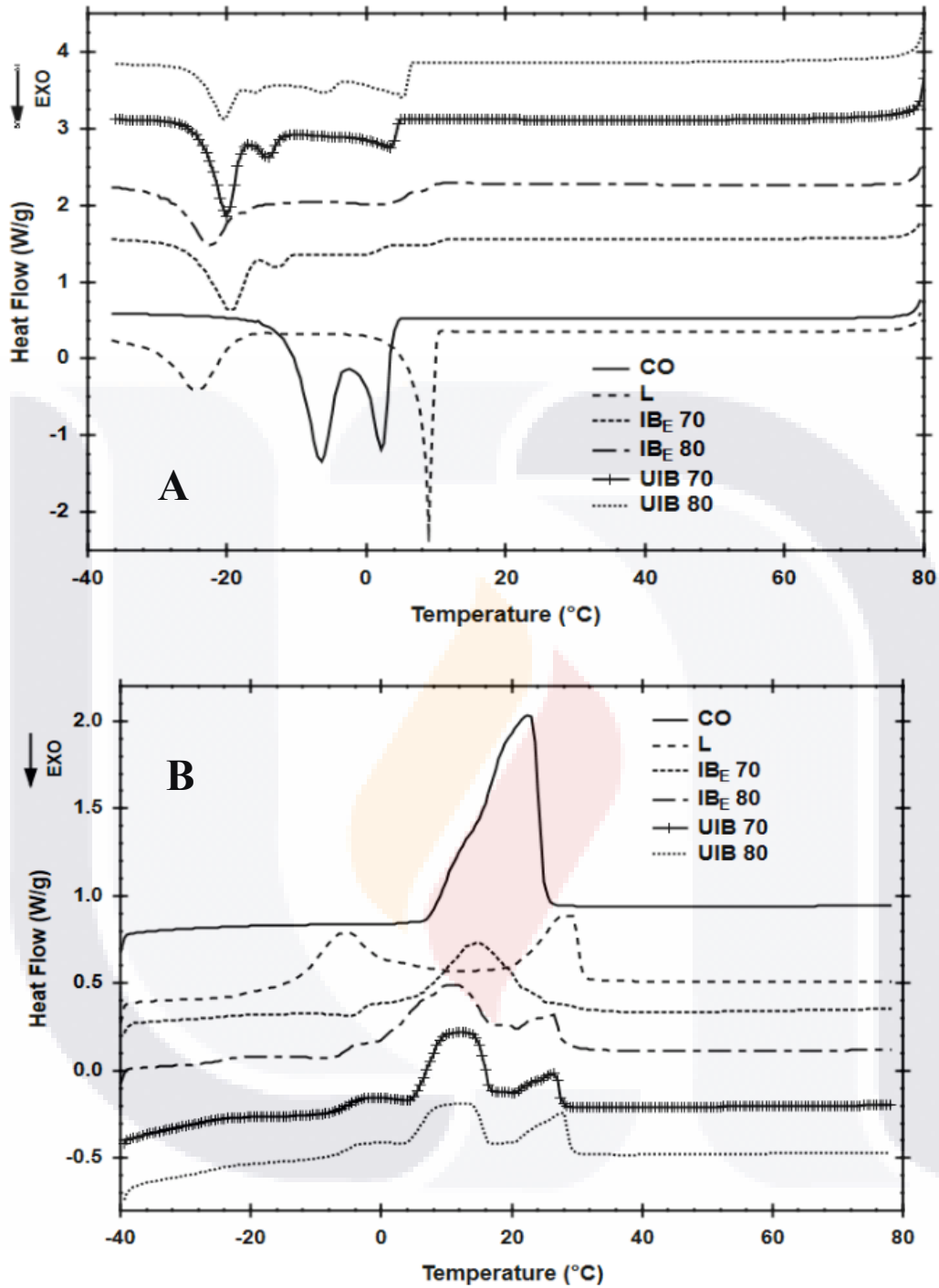


Figura 4. Comportamiento térmico de los sistemas: aceite de coco (CO), manteca de cerdo (L), mezclas interesterificadas y no interesterificadas con 70% de manteca (IBE70 y UIB70) y mezclas interesterificadas y no interesterificadas con 80% de manteca (IBE80 y UIB80) A) Cristalización B) Fusión

Por otro lado, al comparar los parámetros térmicos de las mezclas interesterificadas directamente con los de la manteca de cerdo (Cuadro 4. Figura 4), la diferencia más notable es la aparición de T_{M2} . La manteca de cerdo cristaliza en el polimorfo β (Campos *et al.*, 2002), T_{M3} corresponde al intervalo de fusión de esa red cristalina. La tendencia de las mezclas sometidas a interesterificación, de presentar un exoterma principal a una más baja temperatura (T_{M2}), puede deberse muy probablemente a la formación de un polimorfo con menor estabilidad, β' , puesto que la temperatura de fusión se acerca mucho más a la T_{M2} del aceite de coco (Chaleepa *et al.*, 2010). Considerando que la cristalización del polimorfo β , deriva en una textura quebradiza y granulosa, mientras que la forma β' presenta una textura suave (Campos *et al.*, 2002), todo apunta a la formación de un nuevo tipo de agregado cristalino en donde desaparece la cristalización responsable del defecto de granulosis de la manteca de cerdo (Miklos *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010). En estudios previos, aceites vegetales bajos en ácidos grasos saturados, de cadena larga han sido utilizados en mezclas para reducir la granulosis de grasas animales. Los cristales granulares son muy fácilmente desarrollados por la manteca de cerdo, así como en otras grasas ricas en ácidos grasos saturados de cadena larga tales como ácidos esteárico y palmítico (aceite de palma); pues estos están relacionados con la formación de granulosis; la adición, por medio de interesterificación, de aceite de coco - rico en ácidos grasos de cadena media, puede reducir la cristalización granular (Meng *et al.*, 2010). Incluso cuando las mezclas interesterificadas presentan tres temperaturas de fusión (T_{M1-3}), es muy evidente la tendencia a presentar un endoterma principal, disminuyendo la preponderancia de los múltiples endotermas distintivos observados en la manteca nativa, e incluso en las mezclas sin interesterificar (Figura 4B). Esto indica modificaciones en los agregados cristalinos, lográndose cristales más homogéneos. Esto concuerda con los valores más grandes de ΔH_M observados en las mezclas interesterificadas, indicativo no solo de la incorporación de los ácidos grasos saturados del aceite de coco, sino también de una agregación cristalina más

ordenada (Da Silva *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010). Finalmente, las únicas diferencias en cuanto a parámetros térmicos entre las mezclas interesterificadas enzimática y químicamente, yacen principalmente en los valores más altos de ΔH_{cr} y ΔH_M para IB_E80 ($p < 0.05$), indicando que los ácidos grasos del aceite de coco, incorporados en el proceso de interesterificación, y presentes en menor cantidad, resultaron en TAGs con mayor grado de interacciones moleculares (Shen *et al.*, 2001).

El análisis y observaciones hechas a partir de la información provista por estos resultados, dirigió la investigación a encontrar una aplicación de las mezclas interesterificadas, encontrándose que su comportamiento tenía semejanzas con la manteca de cacao. Con base en esto, se procedió a elaborar mezclas de IB70 y CB. Se eligió esta mezcla modificada enzimáticamente, debido a las condiciones más suaves del tratamiento, asumiéndose por lo tanto una mayor integridad de los componentes; mientras que la elección de IB_E70 sobre IB_E80, se basó en la mayor estabilidad a la oxidación resultante en la prueba de IY de esta mezcla.

7.1.4. Sustituto potencial de manteca de cacao a partir de mezclas interesterificadas

Se realizó el análisis térmico de CB, resultando en un perfil de fusión con un exoterma principal (Figura 5), presentando una temperatura de fusión (T_M) de $21\text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2$ similar al que ha sido reportado en otros estudios (Kadivar *et al.*, 2016).

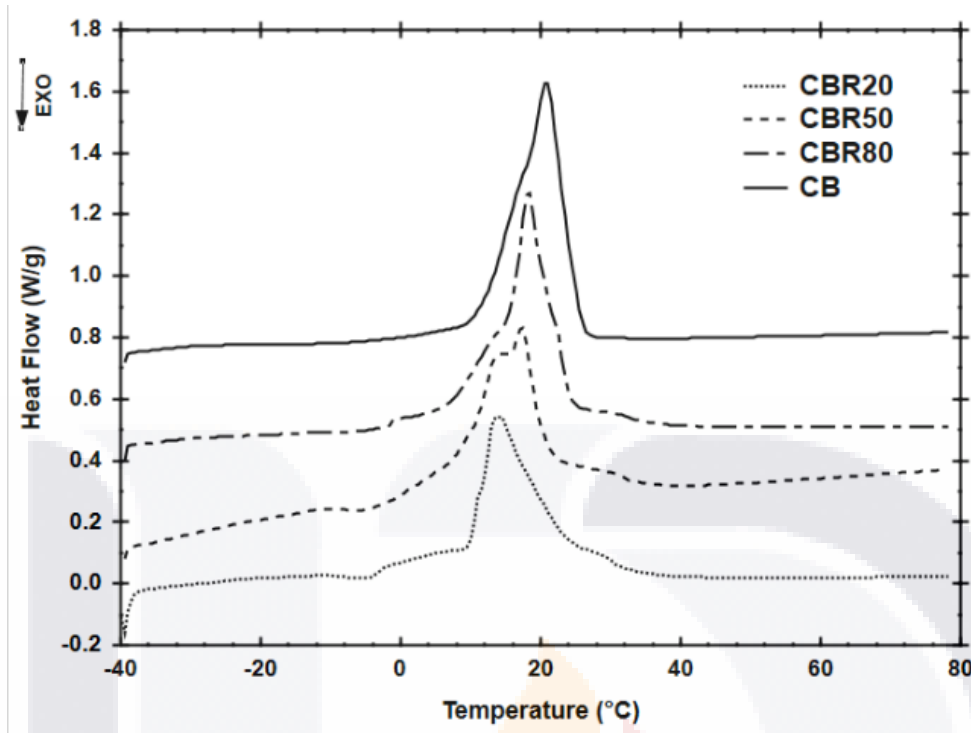


Figura 5. Termogramas de fusión de CBR20, CBR50, CBR80 y CB.

Para las tres mezclas de IB_{ES} con CB (CRB20, CRB50 y CRB80), los resultados muestran que la cantidad de CB en la mezcla es proporcional a su T_M (14.23 ± 0.5 , 17.01 ± 0.4 , 18.01 ± 0.2 °C, respectivamente). Esto corresponde a la contribución de TAGs con mayor intervalo de fusión (*saturado-oleil-saturado*), contenidos en la CB (Kadivar *et al.*, 2013). En consecuencia, la mezcla CBR80, conteniendo el 80% de CB y 20% de IBE, resultó en un comportamiento térmico que más se asemeja al de CB nativa, de entre todas las mezclas de posibles sustitutos.

Adicionalmente a los resultados de DSC, se evaluó el perfil de sólidos grasos para describir el comportamiento de fusión de las grasas, pues éste influye grandemente en su funcionalidad. Dependiendo del perfil de SFC, puede establecerse la posible aplicación específica de una grasa (Kadivar *et al.*, 2016). Después de determinar el %SFC de las mezclas CBR, a diferentes

temperaturas, se construyó un diagrama de iso-sólidos (Figura 6.). Este tipo de diagramas puede proveer información acerca del estado y compatibilidad de los componentes de una mezcla a una temperatura determinada (Kadivar *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011).

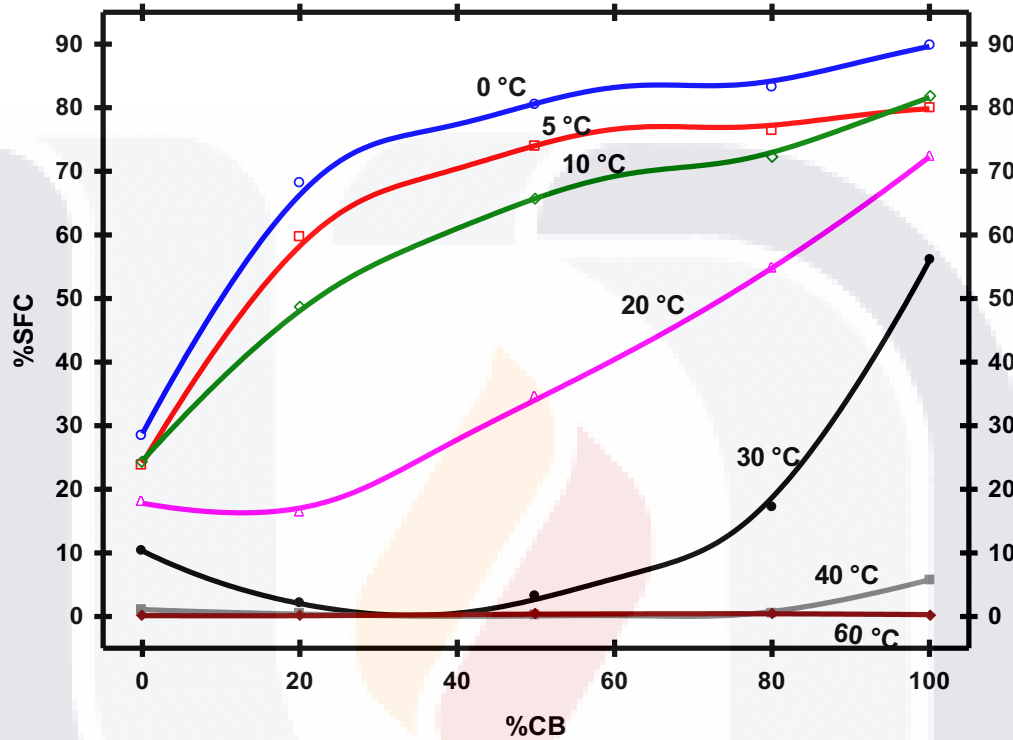


Figura 6. Curvas de iso-sólidos de mezclas de CBR

De acuerdo con los resultados de SFC, la mezcla con mayor similitud al comportamiento de CB, resultó ser, nuevamente, CBR80, a temperaturas por debajo del 10 °C, mostrando un SCF por encima del 70% (Figura 6). Esto es un indicativo de que la mezcla CBR80 pudiera ser usada con éxito como ingrediente de un sustituto de CB para productos que requieran bajas temperaturas de procesamiento y almacenamiento. Adicional a esto, es importante mencionar el hecho de que CBR80 a 20 °C tiene la misma cantidad de SFC que CB a 30 °C ($55.3\% \pm 1.6, p > 0.2$) lo que ampliaría las posibilidades de aplicación.

La textura de una grasa está determinada por el %SFC y por la microestructura, siendo éste atributo parte de la caracterización fisicoquímica de estos materiales (Gregersen *et al.*, 2015). Generalmente, la firmeza de una grasa depende de interacciones intra-partículas (cristal-cristal) e inter-partículas (agregado-agregado), de agregados cristalinos donde su fuerza relativa puede ser evaluada con base en la densidad del empaquetamiento cristalino, que puede observarse en imágenes microscópicas (Gregersen *et al.*, 2015; Lusas and Rhee, 2012). Dentro de este contexto, y dado que los resultados apuntan a que la mezcla CBR80 es la que más se asemeja a CB, se tomaron las microfotografías de las muestras con el mismo %SFC (CBR80 a 20 °C y CB a 30 °C) (Figura 7).

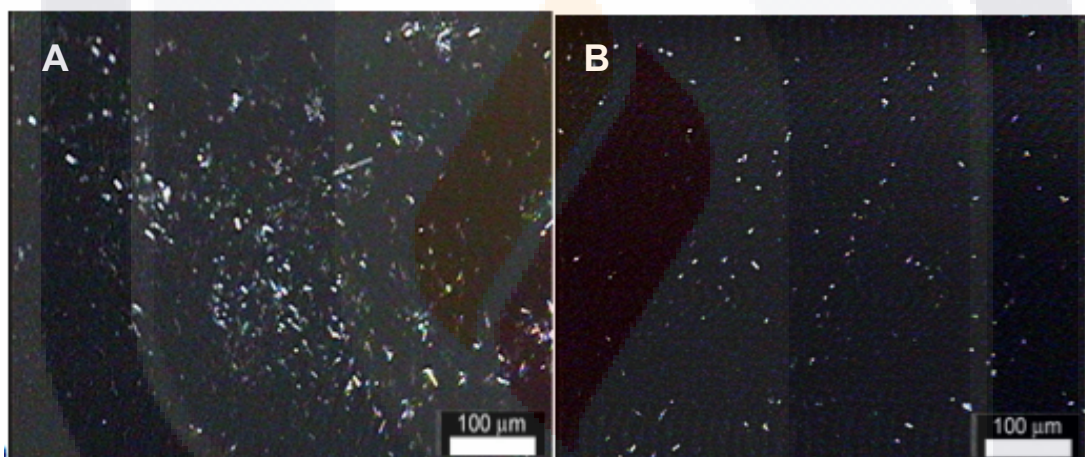


Figura 7. Microestructura de CBR80 (A) y CB (B)

Puesto que ambas muestras presentaron la misma cantidad de sólidos, las diferencias en textura tenían que deberse solamente a su microestructura. La microfotografía de CBR80 (Figura 7A) muestra una red cristalina más densa y con un empaquetamiento más ordenado, con agregados cristalinos de mayor tamaño en comparación con la red más relajada y con menos grado de ordenamiento desarrollada por CB (Figura 7B).

El mayor grado de ordenamiento de la red cristalina desarrollada por CBR80, es resultado de mayores interacciones intra-particulares (agregados más grandes),

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

y también de mayores interacciones inter-particulares (mayor densidad), esto en comparación con CB (Figura 7B). Esto explica los resultados del análisis de textura, en los cuales CBR80 mostró una firmeza superior que la presentada por CB (27.3 ± 2.7 , 24.8 ± 1.3 kg respectivamente). Por lo tanto, esto demuestra que CBR80 es capaz de desarrollar una mayor firmeza con una menor cantidad de sólidos que CB, lo que puede ser muy útil en el diseño y elaboración de un sustituto de manteca de cacao (CBR).

7.2. Organogelación

La estructuración por organogelación forma parte de estrategias y tecnologías para impartir la funcionalidad de grasas sólidas a aceites en estado líquido. Esta necesidad viene de las recomendaciones nutricionales de disminuir el consumo de grasas saturadas y eliminar las grasas *trans* de la dieta. La sustitución de grasas por aceites líquidos puede representar cambios sustanciales en la calidad de productos alimenticios por lo que la estructuración tiene un papel estratégico en lograr las características necesarias en un sistema graso (Co y Marangoni, 2012). La estructuración natural de TAGs se da cuando, por enfriamiento, se limita su solubilidad y se promueve su ensamble por medio de nucleación y crecimiento de pequeños cristales, que interactúan con fuerzas no covalentes para finalmente formar una red continua cristalina (Rogers, 2009). Una alternativa para estructurar materiales lipídicos, con cantidades reducidas o sin ácidos grasos saturados, es la organogelación a través de moléculas organogelantes generalmente de bajo peso molecular, con aceites como fase líquida: así se llega también a la formación de redes continuas gelificadas, conformadas por pequeñas moléculas ensambladas en cristales líquidos, micelas, o redes fibrilares auto-ensambladas (Bot *et al.*, 2009). La formación de estas redes requiere el enfriamiento de una dispersión caliente de las moléculas de gelante en el aceite; que promueva la formación de partículas primarias al alcanzar la supersaturación con el descenso de temperatura (Rogers, 2017; Patel, 2018). El ejemplo básico que interesa a este estudio es la estructuración por organogelación a partir de MAGs: comienza a partir de un fluido isotrópico,

por disminución de proceso de cristalización pasan a una fase α (lamela inversa), la cual se explica por la organización de las cabezas de glicerol dentro de la bicapa, proveyendo cualidades elásticas a los sistemas, el proceso continúa hacia una fase sub- α , en la que se cristaliza la cadena alifática de cada MAG; y al seguir disminuyendo la temperatura, se alcanza la fase β , que es la más estable para el ensamble de las cadenas de MAGs (López-Martínez *et al.*, 2014).

La concentración crítica gelante (CCG) es la mínima concentración necesaria de agente gelante para formar un organogel en un solvente específico. Se diseñó el estudio de estos sistemas combinados, de tal manera que fuera posible evaluar las interacciones entre el gelante y cogelantes para lograr la estructuración de los solventes en forma de oleogeles (Cuadro 5).

Cuadro 5. Concentración crítica gelante (CCG) de los gelantes individuales en los dos sistemas de solventes estudiados.

Gelante/Solvente	CCG (%) en HOSFO	CCG (%) en Mezcla (BLEND)
MAG	2.0	4.0
PA	2.0	3.0
HD	2.5	3.5

A partir de lo observado en estos resultados, se descubrió una mejor capacidad de ensamble y gelificación de los sistemas gelante/HOSFO, con respecto a la mezcla con aceite de coco, puesto que en éste último caso se requiere mayor concentración de gelante para lograr la estructuración del solvente. Con el objetivo de estudiar mejor las interacciones y estructuración de los sistemas, se hizo un diseño (Cuadro 5) para evaluar a los MAG como gelantes base en combinación con PA y HD, por separado, como co-gelantes.

La elección de estas moléculas como co-gelantes está basada en la similitud en longitud de cadena (16-C) y naturaleza química, que sostienen con los componentes principales (monoglicéridos de ácido palmítico) de los MAGs que componen la mezcla gelante base.

El estudio de la capacidad gelante de ácidos y alcoholes grasos empieza a ganar relevancia pues estas moléculas ya eran empleadas como aditivos alimentarios, lo que significa que son seguros y comestibles (Lupi, 2017). Es interesante analizar su comportamiento gelante en mezclas con otros agentes gelantes, para ampliar las posibilidades de aplicación y seguir buscando alternativas de oleogelación que lleven a obtener productos con características fisicoquímicas de interés. La definición de un gel incluye las estructuras continuas con dimensiones macroscópicas permanentes en el intervalo de tiempo de un experimento analítico, y con comportamiento viscoelástico al estudiar su reología bajo ciertos límites de deformación (George y Weiss, 2006). Para definir la gelación de los sistemas a estudiar, la primera técnica elegida fue la más simple de las técnicas reológicas: el método del vial invertido. Las mezclas de aceites estructurados presentan un umbral de estructuración (CGC), que es posible determinar a través de un análisis visual (inversión de vial), al determinar el punto en el que el sistema no fluye al invertir el vial que lo contiene. En el caso de los geles de este estudio, se elaboraron para después ser evaluados después de 4 horas: Se invirtieron, durante 1 hora, los viales en el que estaban contenidos, cuando no se detectaba flujo del material en este intervalo de tiempo, se clasificaron como geles (Lan *et al.*, 2015). En el Cuadro 5 se muestran los resultados derivados de esta técnica. A concentraciones más bajas de MAGs, y en conjunto con el estructurante HD, la solubilidad de esta mezcla en el solvente HOSFO es mayor, en comparación con los sistemas de MAGs + PA, en ambos solventes. En el sistema HOSFO, incluso en la mayor concentración de MAGs (C3) en mezcla con HD, la estabilidad del material cristalino no es suficiente para mantener una red que retenga al solvente. Los cristales formados por el HD presentaban un gran tamaño, visibles nítidamente a simple vista; en adición con la mezcla de MAGs, no conforman una estructura

cristalina que permita la inmovilización necesaria del solvente, la diferencia de tamaño entre los cristales de HD, en contraste con los de MAGs, impiden la estructuración de una red estable, a pesar de un contenido de sólidos alto con respecto a los otros sistemas (5.17% ±0.12). Al evaluar la CCG de los agentes gelantes combinados los resultados mostraron una mayor capacidad de gelación por parte de la combinación de MAG con PA, en comparación con MAG y HD (Cuadro 6). En todas las combinaciones de concentraciones en los sistemas gelados con MAG+PA, se observó estructuración de ambos solventes; haciendo contraste con los resultados de la gelación con HD como co-gelante, pues en este sistema sólo se observó gelación en la mezcla de HD con la más alta concentración de MAG (C3) en el sistema solvente BLEND. La información del Cuadro 6, muestra los resultados de pruebas de gelación por inversión de vial. En donde se establece que no se formó un gel (No GEL), significa que al invertir el vial que contiene la formulación especificada, ésta fluyó por las paredes del vial por efecto de la fuerza de gravedad.

Cuadro 6. Capacidad gelante por CCG (concentración crítica gelante) de los organogel de MAG en mezcla con PA y HD a cuatro diferentes concentraciones: C1 = ½ C2; C2 = ½ CGC y C3 = CGC + 1%, en los dos sistemas solventes: HOSFO y BLEND.

	HOSFO			
Co-Gel/MAG	C1	C2	CGC	C3
PA CGC	GEL	GEL	GEL	GEL
HD CGC	No GEL	No GEL	No GEL	No GEL
	BLEND (mezcla)			
PA CGC	GEL	GEL	GEL	GEL
HD CGC	No GEL	No GEL	No GEL	GEL

En investigaciones más recientes, el enfoque se da en estudiar el efecto de mezclas de gelantes, principalmente para buscar cambios reológicos; con el objetivo de obtener materiales grasos con las propiedades de viscoelasticidad que permitan su aplicación como sustitutos de grasas saturadas y *trans*, para uso alimenticio. Las mezclas estudiadas normalmente incluyen MAGs, debido a sus ya conocidas y deseables características gelantes (Lopez-Martinez *et al.*, 2015). Por este comportamiento ya conocido de los MAGs se decidió aplicarlos como agentes gelantes en los sistemas a estudiar. El componente estructurante/gelante de un organogel, aunque está en la menor proporción con respecto al solvente o componente a inmovilizar, es el agente inmovilizador que dará estructura al sistema. Mecánicamente, el requerimiento para que un material actúe como organogelante es: presentar el balance adecuado entre su afinidad por el solvente (aceite comestible), y la suficiente insolubilidad en éste; para desarrollar un fenómeno de formación de partículas primarias en función de la supersaturación, temperatura, etc., alterando las interacciones soluto-solvente. Estas partículas primarias experimentan posteriormente un auto ensamble molecular (formación de agregados definidos), y una subsecuente auto organización (los agregados forman estructuras de más alto ordenamiento); creando finalmente estructuras supramoleculares pueden formar una red tridimensional para atarpar físicamente al aceite (líquido) en un sistema con comportamiento de gel (Patel, 2018). Con el fin de hacer un análisis de las probables interacciones entre gelantes y agentes co-gelantes, se diseñaron sistemas en los que los MAGs fungieron como gelantes, mientras que el ácido palmítico (PA) y el hexadecanol (HD) se usaron como co-gelantes. La formación de una red que permite la gelación, sucede cuando la concentración de los estructurantes excede la concentración crítica. El co-gelante HD usado individualmente logró la estructuración de ambos solventes, HOSFO y BLEND; aunque al aplicarlo en mezcla con MAGs, sólo se logró la estructuración del solvente BLEND a la concentración más alta de MAGs (C3). La estructura de la muestra en general aumenta junto con el incremento en la concentración de agentes gelantes (Schaink *et al.*, 2007). Se ha observado, en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

otros estudios previos, que en general, los alcoholes grasos producen una mayor estructuración (ej. firmeza de los geles), comparados con los ácidos grasos de la misma longitud, a la misma concentración, destacando al ácido palmítico (PA) como la excepción (Gandolfo *et al.*, 2004). Los resultados obtenidos se ajustan a estas observaciones: por separado, los agentes -PA y HD- lograron la gelación de los dos sistemas solventes. Por otro lado, al evaluar las interacciones entre MAGs y co-gelantes, se observó un fenómeno de interés en el que solamente el PA, como co-gelante, reforzó la estructuración de MAGs: se obtuvieron geles en todas las concentraciones y en ambos solventes. Esto no sucedió con su alcohol, HD, pues en combinación con MAGs su capacidad estructurante decayó. Esto demuestra que aunque un agente gelante pueda estructurar solventes de forma independiente, su comportamiento en combinación con uno o varios agentes puede resultar totalmente diferente; situación que puede atribuirse a modificaciones en la solubilidad de los agentes en el solvente, interrupción de interacciones entre partículas que debiliten la estructura, es probable que el HD esté afectando la capacidad de autoensamble de los MAGs, interfiriendo en la estabilidad de puentes de hidrógeno e interacciones de Van der Waals (Calligaris *et al.*, 2014; López-Martínez *et al.*, 2015).

7.2.1 Caracterización calorimétrica de organogeles

La caracterización calorimétrica de los organogeles en las concentraciones propuestas en el diseño experimental; así como de los controles, permitió obtener los termogramas que describen el comportamiento térmico de todos los sistemas.

Al analizar el comportamiento de los sistemas estructurados en las Figuras 8 - 11 se observa el comportamiento de los sistemas, así como la forma de interacción entre los agentes gelantes y co-gelantes. La cristalización de MAGs en los dos solventes (HOSFO y BLEND) (Figuras 8-B y 9-B), muestra dos exotermas a 62 °C y 9 °C, correspondientes a las mesofases α y sub- α , respectivamente. Mientras que las mesofases funden a 65 °C y 12 °C, respectivamente. Este comportamiento ha sido observado en estudios previos de estas moléculas estructurantes (López-Martínez *et al.*, 2014; 2015; Toro-Vázquez *et al.*, 2013). Los agentes gelantes en este estudio (MAGs) aplicados como parte de una mezcla comercial, tienen en su composición un 55% de monopalmitato de glicerilo, es decir, monoglicéridos de ácidos grasos de 16-C, por lo que al analizar las posibles moléculas co-gelantes, el ácido palmítico (PA) de 16 carbonos, así como su alcohol, el hexadecanol (HD), tienen la estructura ideal para evaluar las interacciones estructurantes al formar parte de un sistema organogelado (Calligaris *et al.*, 2014). Mientras más largas y saturadas son las cadenas hidrocarbonadas de un componente lipídico, presentan mayor comportamiento sólido; desde este punto de vista, los ácidos grasos saturados, como el palmítico, son moléculas ideales para estructurar aceites (Daniel y Rajasekharan, 2003). Los agentes gelantes elegidos para este estudio son capaces de auto-ensamblarse en forma de fibras o placas por medio de interacciones no covalentes como: puentes de hidrógeno, apilamiento π - π , interacciones coulombicas y fuerzas de van del Waals (Da Pieve *et al.*, 2010); y aunque la estructuración no sea evidente, por ejemplo por técnicas visuales, pueden detectarse las interacciones con otras técnicas, como la calorimetría diferencial de barrido.

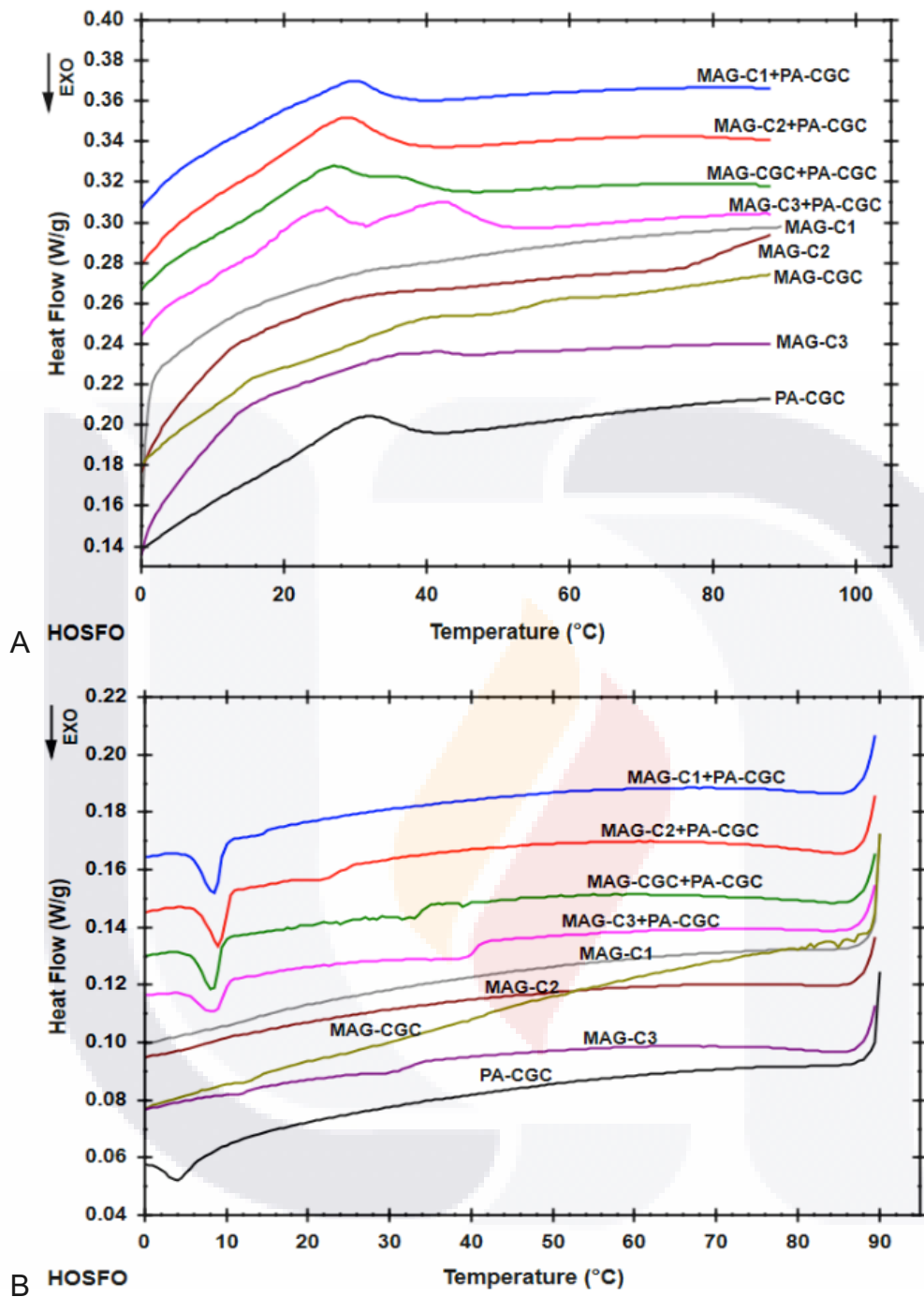


Figura 8. Comportamiento de A) fusión y B) cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y ácido palmítico (MAG+PA) en aceite de cártamo alto en trioleína (HOSFO)

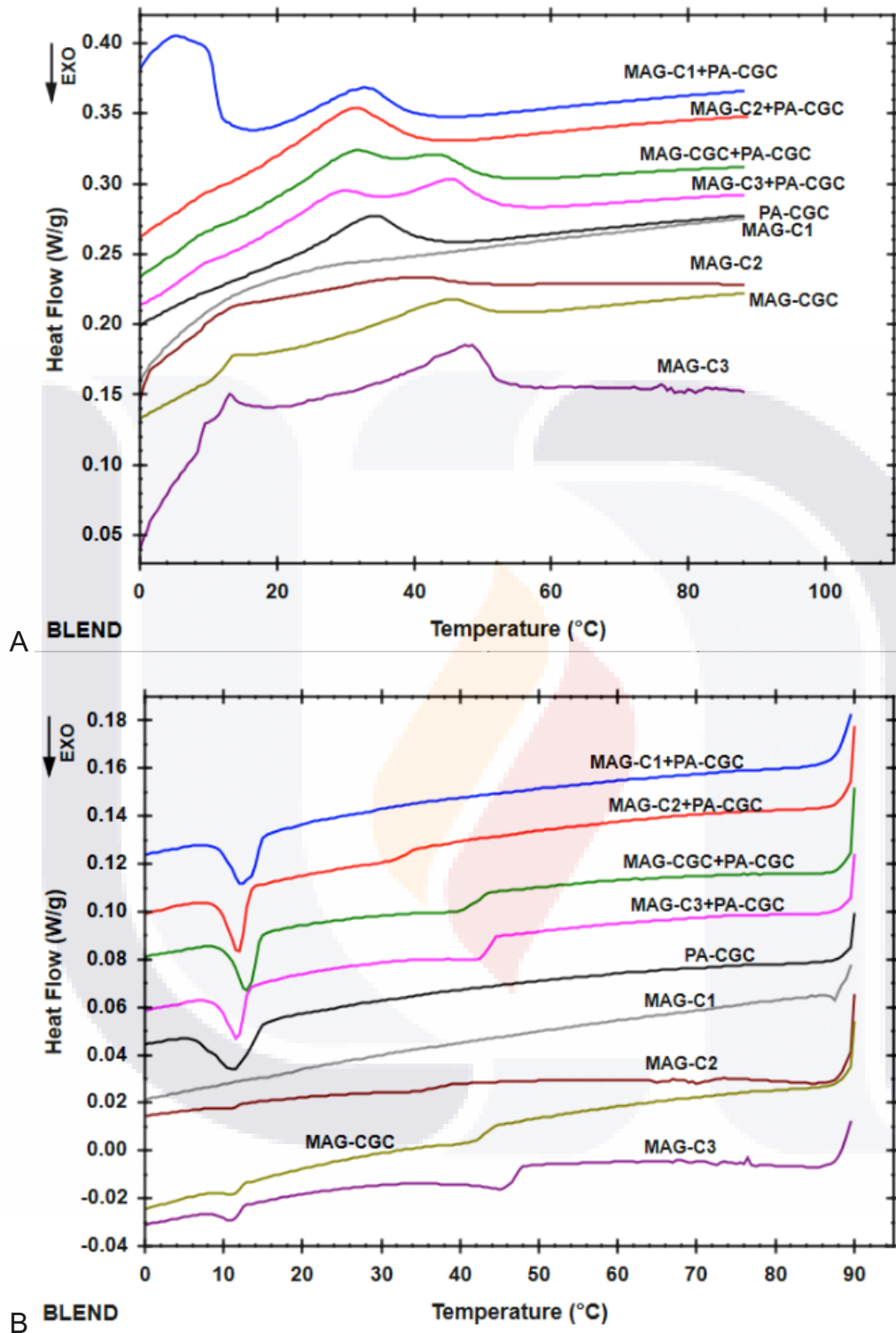


Figura 9. Comportamiento de A) Fusión y B) cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y ácido palmítico (MAG+PA) en Mezcla de HOSFO y aceite de coco (BLEND)

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

A partir del comportamiento térmico de los sistemas, se observa la interacción potencial del ácido palmítico en la estructuración de los solventes con MAGs, pues las transiciones de este ácido graso, principalmente en la primera cristalización, coinciden con las transiciones observadas en los organogeles de MAGs (exotermas entre los 12-15 °C).

La mezcla comercial de MAGs, además del 55% de monopalmitato de glicerilo mencionado, contiene 37.6% de monoestearato de glicerilo, así como un bajo porcentaje de ácidos grasos libres (7.5%) y agua (0.8%). Una alternativa al uso de la mezcla comercial de MAGs, es el uso de los monoglicéridos en estado puro, pues se entiende que la presencia del monoestearato de glicerilo y demás componentes menores, puede afectar la organización de la red cristalina, que pretende complementarse con los co-gelantes de 16 carbonos. Proyectando la aplicación comercial de los sistemas, es más conveniente el uso de la mezcla comercial por su precio y mayor disponibilidad en el mercado. Aunque se usó la mezcla de monoglicéridos, el comportamiento térmico de los MAGs es compatible con el del co-gelante PA, al observarse el comportamiento de cristalización individual (auto-organización) que ocurre en un intervalo de temperatura muy similar para ambos gelantes, por lo que al combinarlos se refuerza la inmovilización y estructuración de los solventes.

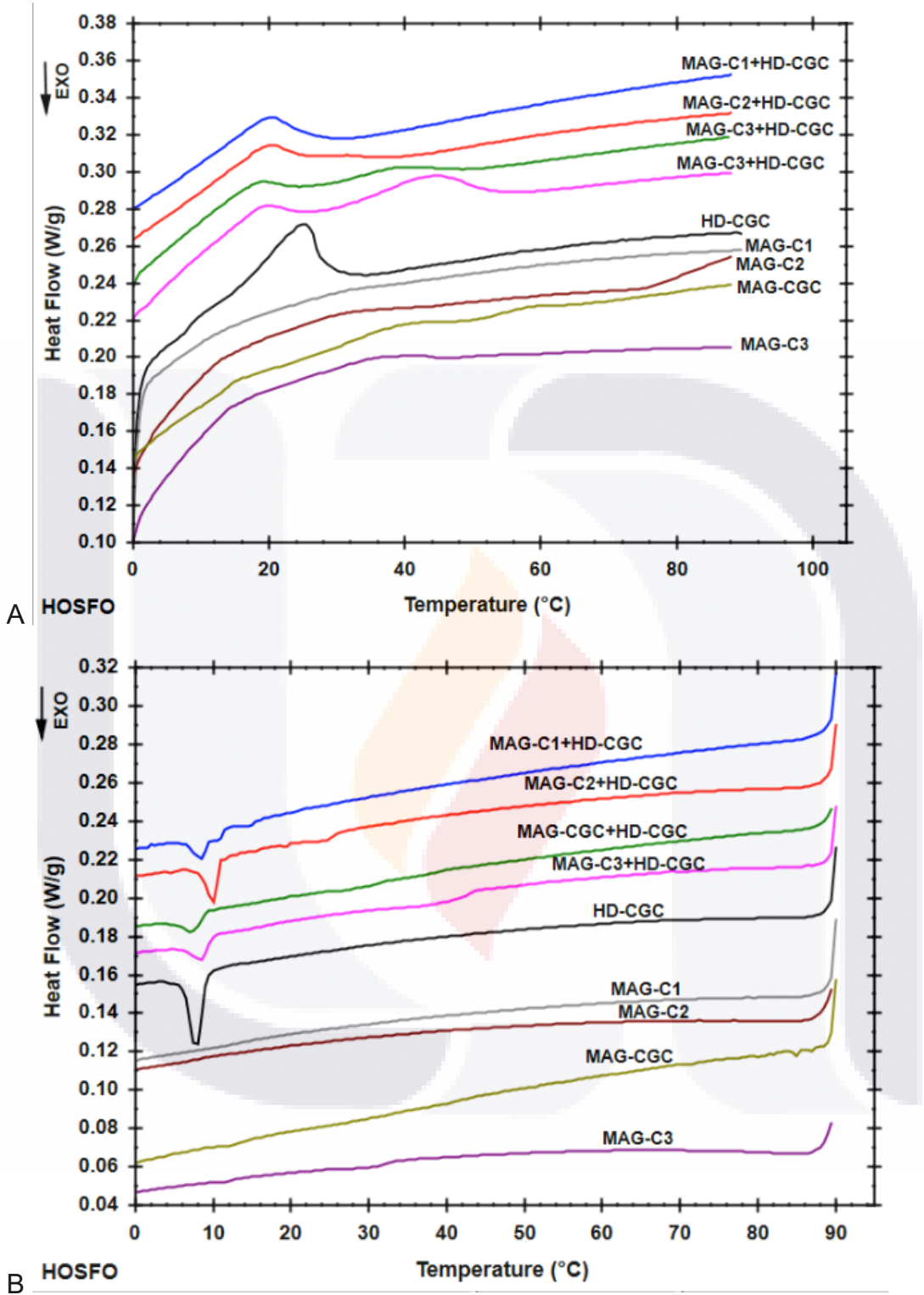


Figura 10. Comportamiento de A) fusión y B) cristalización, de organogeles estructurados con monoglicéridos y hexadecanol (MAG+HD) en HOSFO

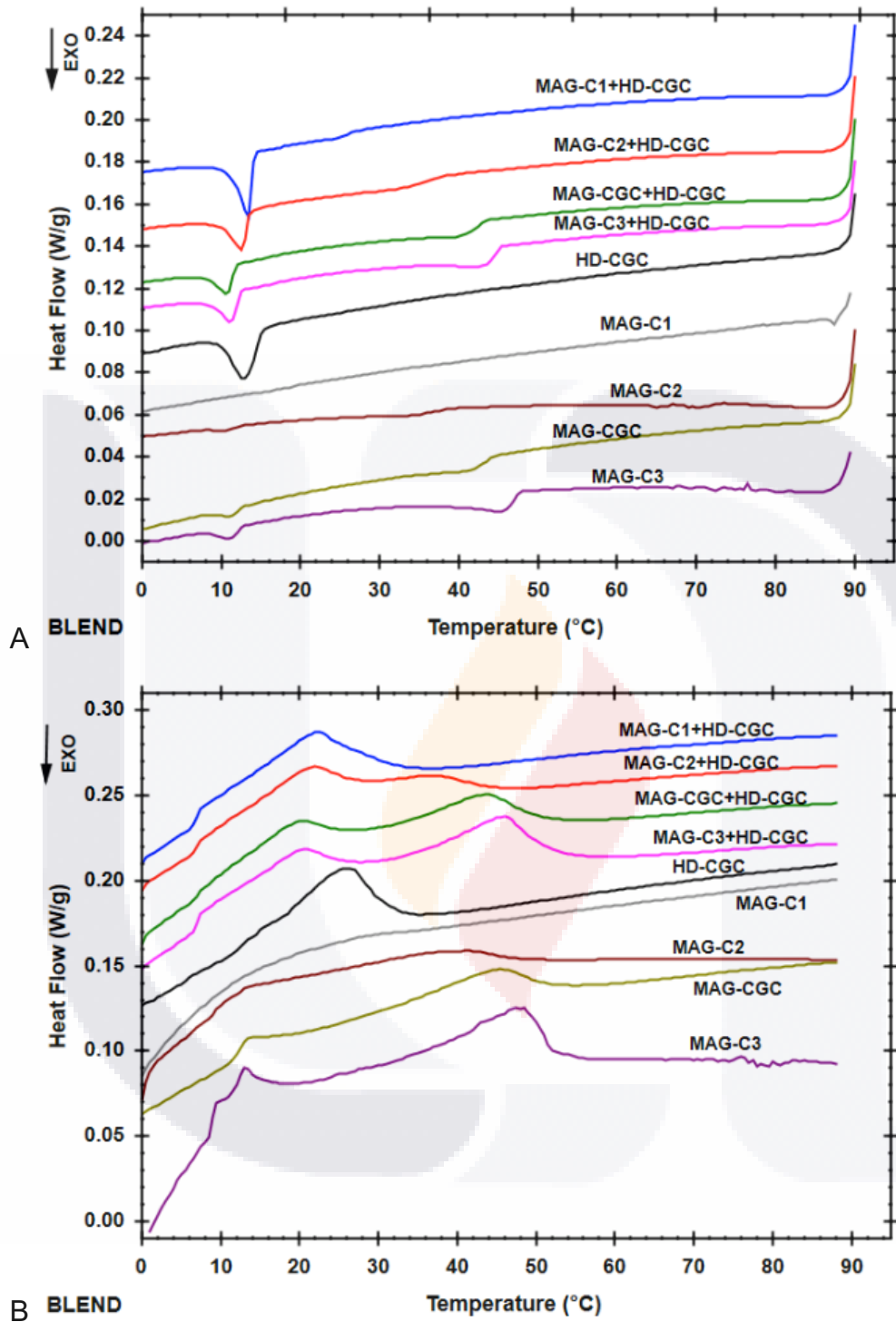


Figura 11. Comportamiento de A) Fusión y B) cristalización de organogeles estructurados con monoglicéridos y hexadecanol (MAG+HD) en mezcla solventes (BLEND)

Las dos moléculas co-gelantes (Figuras 8 - 11) cristalizan a temperaturas cercanas a la mezcla de MAGs; esto es un indicio de que, en el análisis térmico de las mezclas de gelante más cogelantes, pueda estar observándose una co-cristalización. Esto es evidente en los sistemas MAGs+PA en HOSFO (Figura 8). En el control de PA se observa un exoterma a 4 °C, al interactuar con MAGs, esta temperatura de cristalización aumenta; se ha observado que cuando están presentes dos o más gelantes en un sistema, la presencia de diferentes unidades de estructuración llevan a una transición sólido-sólido, que pueden atribuirse a la formación de cristales mixtos, explicándose por un incremento en la tasa de nucleación, inducida por el agente co-gelante al reducir la energía interfase (Bot y Flóter, 2018). Con los gelantes utilizados en este estudio, en donde el primer exoterma coincide en intervalo de temperatura, estaría sucediendo que el co-gelante utiliza a los MAGs como punto de nucleación con el incremento en la concentración de MAGs, se hace más notoria la presencia de otra transición exotérmica entre 30 y 40 °C, presentando una entalpía mayor con la máxima concentración de MAGs (C3); mostrando así, un comportamiento de cristalización dependiente de la concentración. Esto indica la interacción entre MAGs y PA. Se explicó anteriormente que la fase lamelar inversa de los MAGs es su forma de estructurarse; en los sistemas combinados, a medida que aumenta la concentración de MAGs se hace necesaria mayor energía para la formación de esta fase lamelar. Estos resultados, junto con los descritos en la gelación por ausencia de flujo (inversión de vial), permiten establecer que el PA fortalece los puentes de H entre los grupos polares de MAGs, a través de sus grupos carboxilo (Sintang *et al*, 2016). Estas interacciones podrían verse reflejadas en algún efecto sinérgico en las propiedades mecánicas finales.

Los alcoholes grasos, como el hexadecanol, de 16 carbonos, al igual que los MAGs, son moléculas anfifílicas con un grupo hidroxilo unido a la cadena alifática. La presencia del grupo polar, les imparte la habilidad de auto-ensamblarse en diferentes formas. El tipo de estructuras que los alcoholes

grasos pueden formar, depende de su longitud de cadena y de su concentración, además influye el tipo de solvente y las condiciones de procesamiento (Lupi *et al.*, 2013; Bot y Flöter, 2018). En la Figura 10-B En donde se muestra la cristalización de HD (en su CCG) en el solvente HOSFO, se observa un exoterma a una Tcr (temperatura de cristalización) de 13 °C. Esta Tcr se ve disminuida en presencia de MAGs, lo que significa que estos componentes afectan los requerimientos de energía para comenzar a cristalizar y por lo tanto, para estructurar al solvente. Los sistemas formulados con hexadecanol presentaron menor capacidad de estructuración, en comparación con las fórmulas conteniendo ácido palmítico; su CCG fue mayor, es decir se requirió mayor cantidad de hexadecanol para gelar/estructurar los sistemas solventes. De acuerdo con Daniel Co y Marangoni (2012), las transiciones de alcoholes grasos son dependientes de la concentración y de la longitud de la cadena, esto debido a que mientras más grupos $-CH_2-$ se encuentren presentes en la cadena del alcohol, existirán más interacciones estructurantes. El hexadecanol de 16 carbonos, no interactúa con los MAGs, de manera que pueda lograrse la estructuración de los aceites vegetales. La combinación de estos agentes gelantes, promueve la solubilización de las moléculas en el aceite, por lo que son visibles las transiciones térmicas, pero no es posible estructurar al aceite y visualizar la gelación. Sin embargo, por sí solo, en el análisis visual sí presenta capacidad de estructuración, con especial afinidad por la mezcla de HOSFO+CO (BLEND); esto fue posible observarlo al monitorear la gelación: dentro de la primera hora de enfriamiento del gel, a simple vista se notaban los cristales de tamaño considerable desarrollados por el hexadecanol, además de que era evidente la inmovilización del sistema solvente. En el comportamiento de cristalización de MAGs+HD, en HOSFO, se observa, en el caso de la segunda transición, un cambio de segundo orden en contraste con la transición correspondiente en el solvente BLEND, con un exoterma y un comportamiento de gel (el único en las mezclas con HD) en las pruebas visuales de inversión de vial. En otros estudios, se ha determinado que no existe relación entre el tipo de solvente utilizado y la estructuración final, en

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

sistemas donde han sido utilizadas mezclas de ácidos grasos con alcoholes grasos como agentes gelantes (Gandolfo *et al.*, 2004; Schaink *et al.*, 2007). Sin embargo, como ya se mencionó, al observar las transiciones en la cristalización para ambos sistemas solventes, presentadas por los sistemas de MAGs combinados con HD, las diferencias pueden relacionarse con la prueba de gelación por inversión, así como con las características químicas de los solventes. La presencia de los ácidos grasos de cadena media, componentes mayoritarios del aceite de coco, por poseer cadenas alifáticas más pequeñas, estaría modificando la polaridad del sistema solvente, disminuyendo las interacciones entre gelante y co gelante (Lupi *et al.*, 2018), dando por consiguiente el resultado de sistemas menos estructurados, que no pasan la prueba de inversión de vial. Esto se relaciona con el comportamiento térmico del aceite de coco, con una temperatura de fusión alrededor de 26 °C, la cual coincide con el intervalo de las transiciones sucedidas en los sistemas estudiados, esta característica fisicoquímica del aceite de coco como solvente, contribuye a los fenómenos de estructuración en la mezcla con la mayor concentración de MAGs. Entonces, el aceite de coco altera el comportamiento de estructuración en función de la concentración de los agentes gelantes y de la temperatura de los sistemas. Con respecto al comportamiento de la mezcla con HD en HOSFO, en el comportamiento de fusión se nota un exoterma principal a 26 °C, con un hombro a 10 °C, el cual se atribuye a una transición de fase sólido-sólido (López-Martínez, 2014), aún sin la formación de geles, al presentar transiciones térmicas estos sistemas están formando cristales sin la estructura suficiente para evitar que el aceite fluya. Por la naturaleza química del alcohol graso y su afinidad con MAGs, podemos hablar de una intersolubilización entre estos componentes, lo que está disminuyendo sus posibilidades y capacidad de estructuración.

Los sistemas de MAGs + PA, presentaron estructuración en todas las combinaciones de concentraciones.

7.2.2. Caracterización reológica de organogeles y su relación con la microestructura y contenido de sólidos.

A partir de la caracterización térmica de los oleogeles formulados, se observaron transiciones importantes indicando una posible estructuración en el comportamiento exotérmico (cristalización) a 15 °C y -2 °C; por lo que estas temperaturas se eligieron para hacer los análisis reológicos y de microscopía.

La reología de un organogel proporciona datos sobre sus interacciones microestructurales y cómo esto se refleja en sus características mecánicas.

Los experimentos reológicos de los sistemas en estudio se desarrollaron bajo régimen oscilatorio, para evaluar el módulo de almacenamiento (G') en función de la frecuencia. Previo a esto, es necesario determinar la naturaleza y propiedades mecánicas de la estructuración en cada sistema, para lo cual, se realizaron barridos de deformación. Estas pruebas se realizaron en un intervalo de deformación de 0.001 a 100% a 1 Hz de frecuencia constante, así, los sistemas se llevan hasta el rompimiento completo de la estructura formada, para conocer sus límites de deformación plástica y determinar la región viscoelástica lineal (RVL), que se define como la región en la que, con el esfuerzo aplicado, no se logra la destrucción del gel (estructura). Un sistema con comportamiento de gel (viscoelástico) presentará valores de módulo elástico mayores a los del módulo viscoso ($G' > G''$). Este comportamiento se presentó en todos los oleogeles estudiados; aunque por supuesto se presentaron variaciones en los valores de G' encontrados para cada sistema, en función de las proporciones de gelantes y solventes. Como se explicó, los barridos de deformación permitieron definir la RVL, dentro de la que se eligió un valor de deformación para realizar los barridos de frecuencia y dilucidar las características del comportamiento viscoelástico de los oleogeles. Los análisis reológicos se realizaron tomando en cuenta que los oleogeles son materiales cuya estructura depende en gran medida de la temperatura (Lupi *et al.*, 2016)

por lo que la temperatura de las mediciones fue cuidadosamente controlada por un sistema Peltier.

En las evaluaciones visuales, los organogeles de MAGs resultaron tener buenas características de atrapamiento del aceite; aunque reológicamente, para el sistema solvente HOSFO, los geles de MAGs con la menor concentración (MAGC2) presentaron una G' notablemente inferior y con alta dependencia de la frecuencia, al compararse con el resto de los sistemas con otras concentraciones y combinaciones de organogelantes; este comportamiento de gel débil se presentó con las dos temperaturas de estudio. Las variaciones en la composición y concentraciones resultaron en diferentes mecanismos de cristalización y por ende en diferencias en la fuerza de los geles.

En las microfotografías de la Figura 13 se observan los cristales formados por los oleogeles. Los MAGs formaron estructuras esferulíticas y aglomeraciones cristalinas; las esferulitas se forman por la agregación de cristales en forma de agujas, que crecen a partir de un centro de nucleación y que tienen diferente orden de ramificaciones, formando, por lo tanto, estructuras cristalinas relativamente grandes. En estudios previos de la microestructura de MAGs, se ha encontrado que presentan esta estructura de aguja, consistente con lo observado a través de las microfotografías realizadas para este estudio (López-Martínez *et al.*, 2014). La microestructura de PA se define por el desarrollo de nucleación estocástica (Sagiri, 2018), resultando en la formación de cristales que forman redes estructurales en forma de fibras (Figura 13).

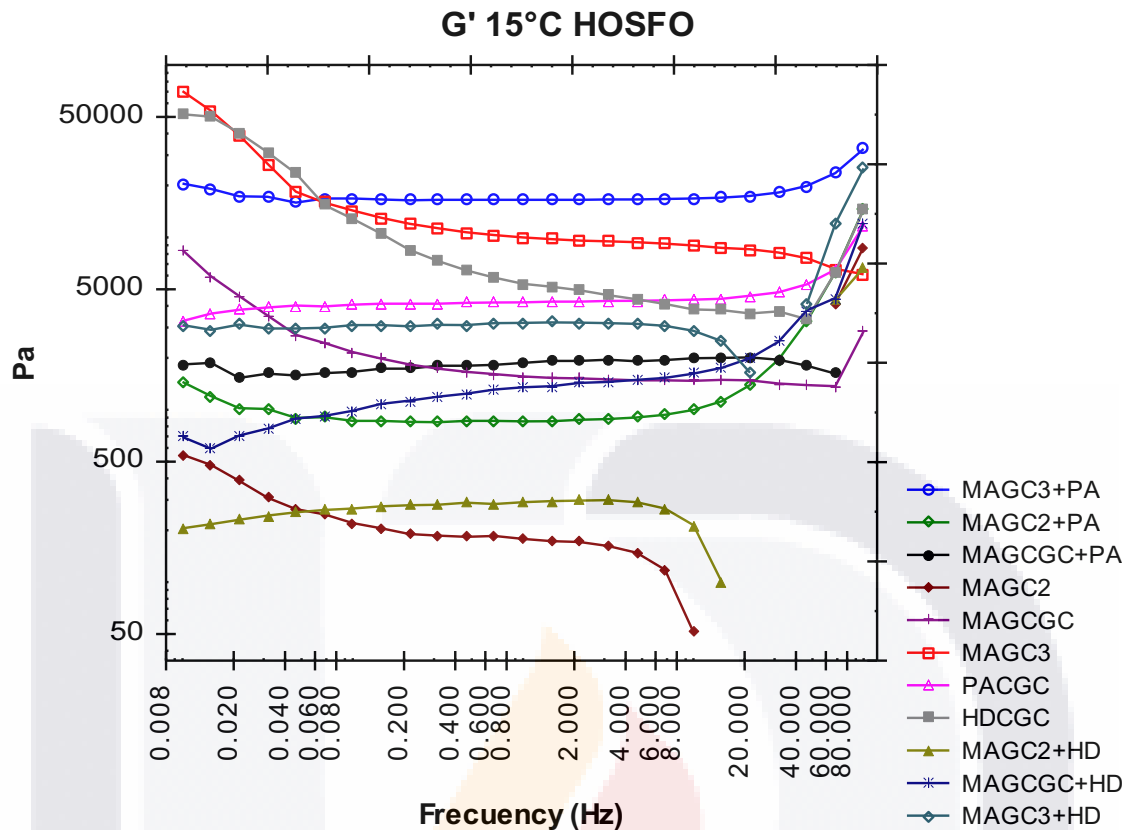


Figura 12. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en aceite de cártamo alto en ácido oleico (HOSFO) a 15 °C

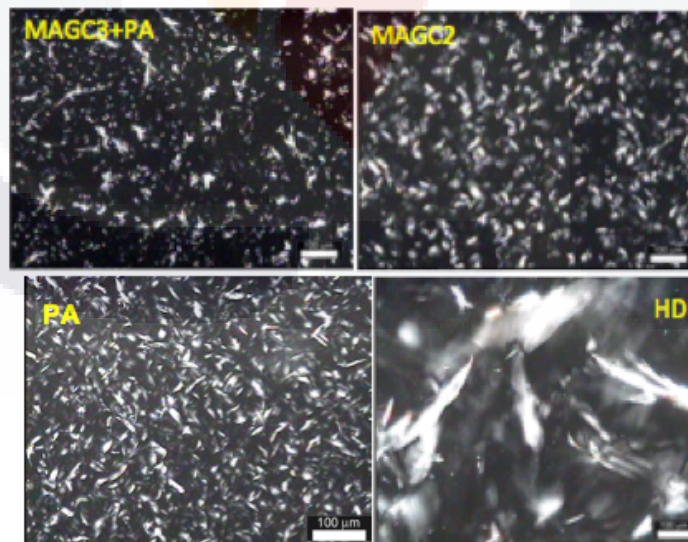


Figura 13. Microfotografías a 20x con MLP de sistemas en aceite de cártamo alto en ácido oleico (HOSFO) a 15 °C

Al combinarse con MAGs, se observa en la microestructura del gel un comportamiento de auto ordenamiento, notándose que ambos componentes cristalizan de manera independiente, formando unidades de estructuración características, como se describieron anteriormente (cristales esferulíticos + fibrosos), que contribuyen al fortalecimiento sinérgico de las propiedades reológicas de los geles formados (Figura 12). En investigaciones más recientes se ha encontrado el efecto positivo de co-gelantes, para retardar la transición de cristales sub- α a β en MAGs, fortaleciendo de esta manera sus propiedades térmicas, mecánicas y de inmovilización de los aceites (Aguilar-Zárate *et al.*, 2019).

El comportamiento reológico exhibido por el alcohol graso, HD, como estructurante (Figura 12), presentó una tendencia de valores altos de G' en los barridos de frecuencia, lo interesante de este agente es que, en las pruebas de inversión de vial, su capacidad de estructuración resultó siempre inferior a la del resto de los gelantes y combinaciones de ellos; por lo que se esperaba ver esto reflejado en los estudios reológicos. Al descubrir su alta capacidad de estructuración en su independencia de G' con respecto a la frecuencia, se procedió al análisis de su estructura cristalina por microscopía. Inicialmente, la búsqueda resultó en ciertas complicaciones, hasta que se encontró que esto se debía a que los cristales formados por HD se presentan como grandes placas interconectadas, lo que explica su fuerza de estructuración, y al mismo tiempo que ésta pudiera perderse tan fácilmente al aumentar la temperatura al realizar las pruebas de inversión. En este sentido, al descubrir su reología, y observar la morfología cristalina, los oleogeles de HD pudieran tratarse como materiales con estructuras dependientes de la temperatura del sistema, por sus temperaturas características de fusión/cristalización (22-25 °C), muy cercanas a temperaturas en las que se realizaron los estudios a 15 °C.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

A 15 °C en el solvente HOSFO, la combinación de HD con MAGs en su CCG, presenta una disminución en su contenido de sólidos, con respecto a la combinación con la concentración más alta de MAGs (C3); de 3.81% \pm 0.3 a 2.51% \pm 0.01.

Se especula que, a pesar de que MAGs se encuentran en su CCG, la falta de estructuración se debe a la diferencia en las estructuras moleculares, desarrollándose una interferencia en el apilamiento y ordenamiento de cada componente gelante, obstaculizando la cristalización, por lo que se forma menor cantidad de masa cristalina. El umbral de estructuración de HD está muy finamente delimitado, muy probablemente también influido por la naturaleza del solvente; ya que en las pruebas de inversión sólo resistieron el flujo aquellos sistemas en solvente BLEND, que contiene aceite de coco, el cual se puede suponer que participa en potenciar la estructuración, esto por su alto contenido en sólidos, asimismo al mismo tiempo influye en la pérdida de estructura en función de la temperatura.

Al analizar el comportamiento reológico de los sistemas estudiados, siguiendo el diseño experimental, se puede observar que, para los oleogeles en HOSFO, los gelantes puros, presentaron una G' notablemente mayor que los sistemas con co-gelantes. (Figura 14) Para este solvente, HOSFO, a 15 °C, la mezcla de PA más MAGs en su concentración más alta, también presentó una mayor elasticidad en su estructura; y a -2 °C, esta misma concentración de MAGs en combinación con HD, presentó fuerza de estructuración sólo superada por MAGs y HD en sus máximas concentraciones. Este comportamiento es consistente con HD y MAGs en este sistema solvente. La sinergia reológica observada en varios sistemas combinados de MAGs con PA, puede explicarse con la observación de las estructuras cristalinas desarrolladas, pues las esferulitas formadas por MAGs se ven reforzadas por las pequeñas placas cristalinas del ácido graso, la presencia de PA como co-gelante provoca que los agregados cristalinos de las esferulitas de MAGs se distribuyan, y a través de esta dispersión de los cristales, es posible lograr una red con mayor entrelazamiento, mejor atrapamiento de los sistemas solventes y por lo tanto

influir positivamente en las propiedades viscoelásticas (Figura 15). Microscópicamente puede explicarse esto también por la dispersión cristalina y posterior formación de cristales mixtos; de acuerdo con las microfotografías se puede sugerir que estos cristales mixtos se forman como estructuras más pequeñas que permiten una mayor fase sólida en el oleogel (Figura 15)

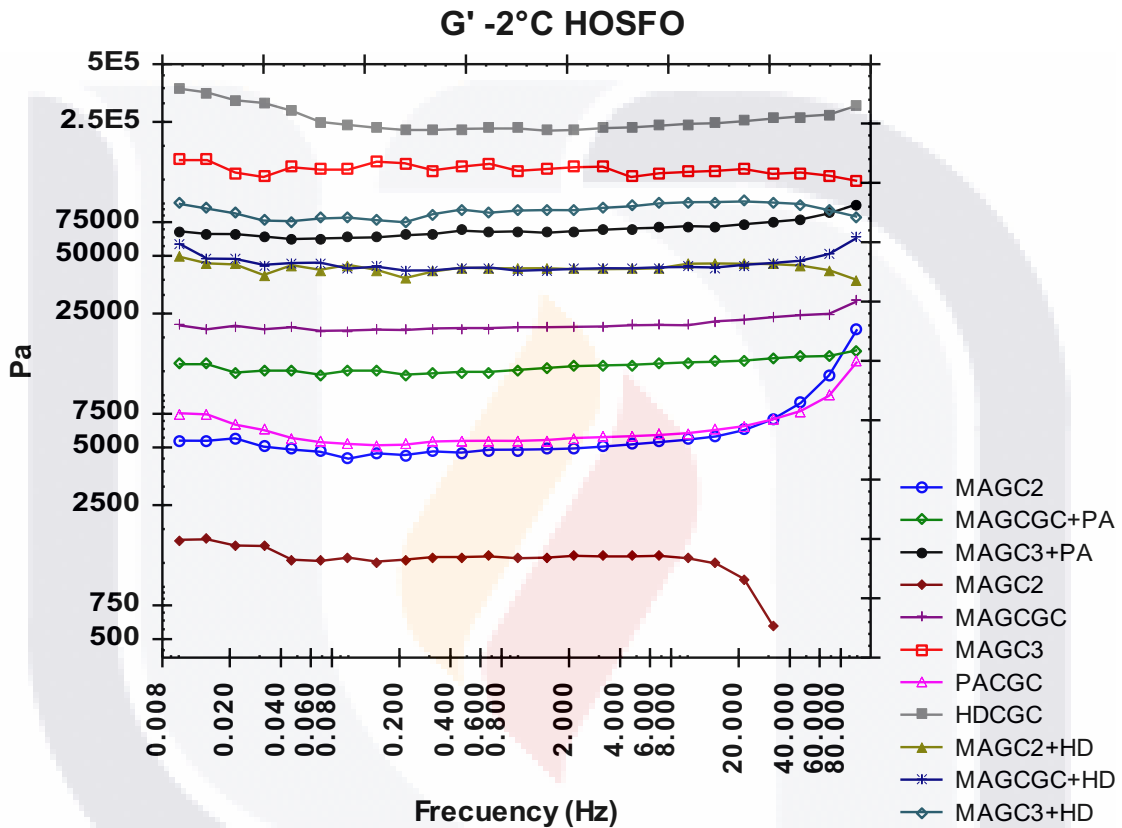


Figura 14. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en aceite de cártamo alto en ácido oleico (HOSFO) a -2 °C

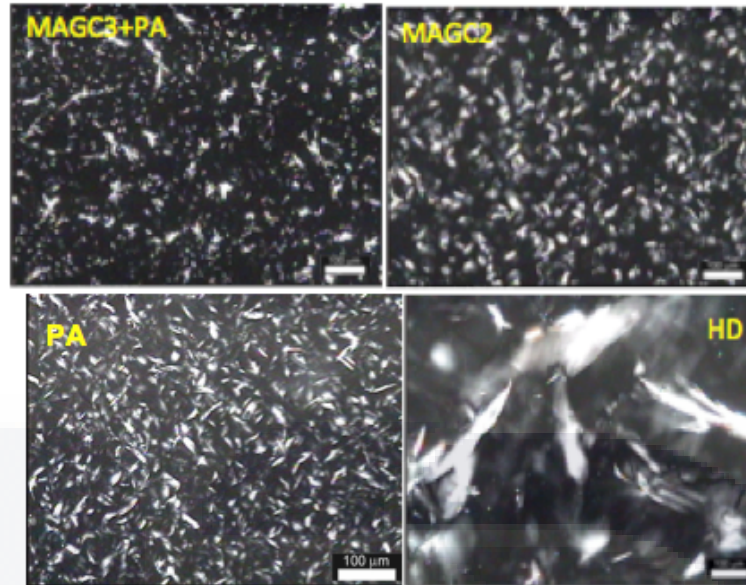


Figura 15. Microfotografías a 20x con MLP de los sistemas en aceite de cártamo alto en ácido oleico (HOSFO) a -2 °C

El análisis del comportamiento reológico de los sistemas en solvente BLEND, hace evidente la superioridad en estructuración que presenta el HD a 15 °C, esto con respecto al resto de las concentraciones y combinaciones de agentes gelantes (Figura 16). Por debajo de este oleogel se encuentran, en cuanto a fuerza de estructuración, las combinaciones de MAGs en su más alta concentración con los dos cogelantes, PA y HD. Es notable que, a esta temperatura estudiada, el HD tiene una G' diez veces mayor que los dos sistemas que le siguen en estructuración viscoelástica, observándose una alta capacidad de gelación en este sistema en contraste con el de menor estructuración, MAGs, en su concentración más baja de estudio (MAGC2).

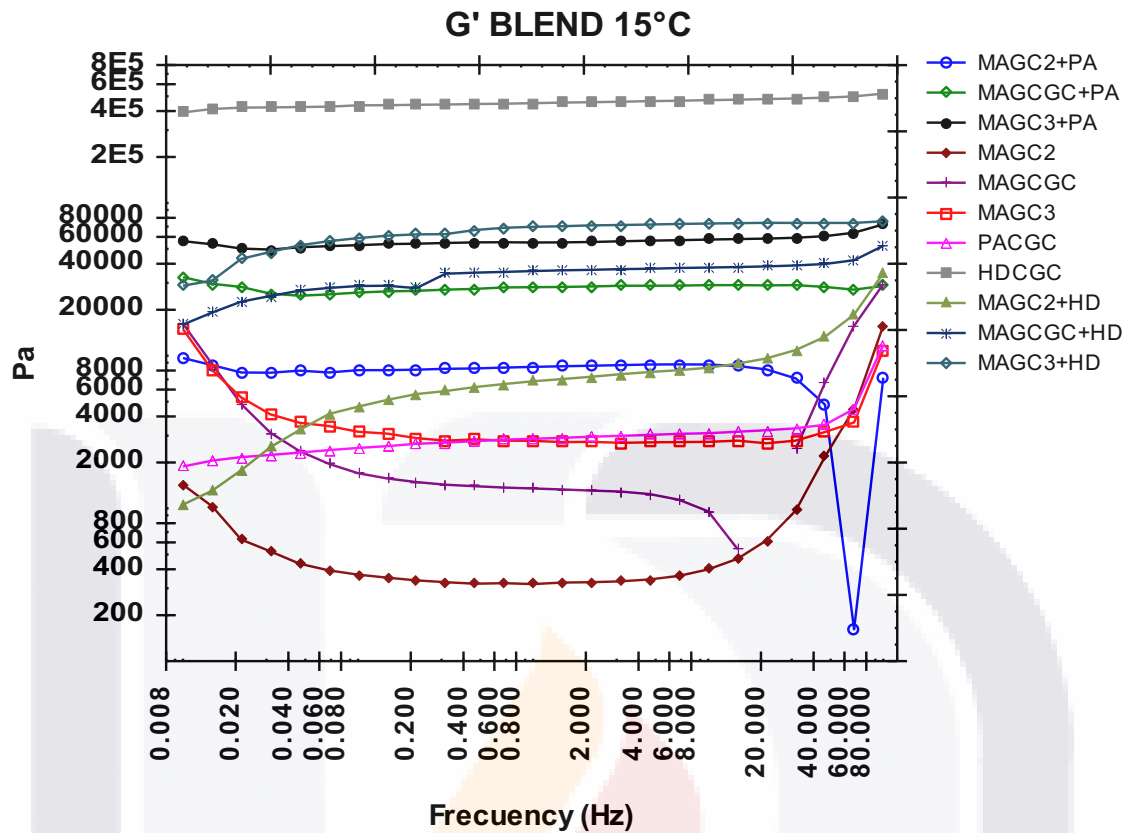


Figura 16. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a 15 °C

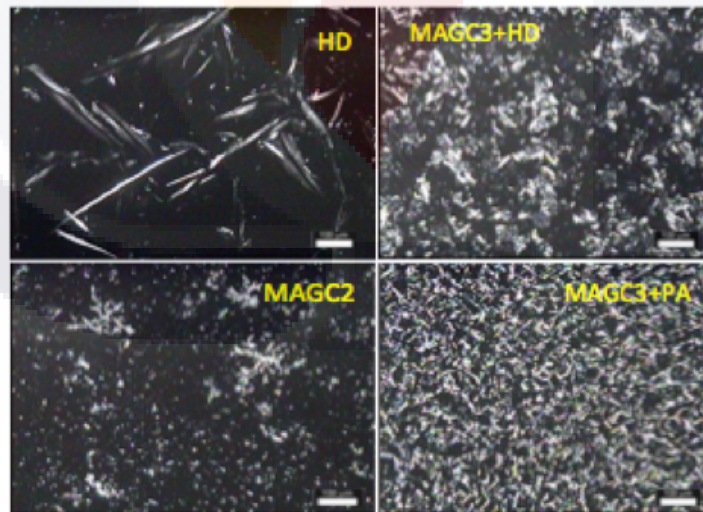


Figura 17. Microfotografías a 20x con MLP de los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a 15 °C

Los oleogeles en BLEND a -2° C presentan una alta dependencia en la frecuencia, con un gran incremento en la G' al seguir los barridos de frecuencia, esto se atribuye a la estructuración en otra forma polimórfica a esa temperatura, pues los ácidos grasos y alcoholes grasos cristalizan preferentemente en forma β' , y además, se considera la influencia de la mezcla de solventes, específicamente la presencia de los AGCM del CO y a las características térmicas de este aceite solvente, que a esta temperatura por debajo de 0° C, se encuentran en su mayoría cristalizados, influyendo en el comportamiento de cristalización y viscoelasticidad de los sistemas, específicamente en el valor de G' , que aumenta por la mayor cantidad de sólidos (i.e. aceite de coco). Por lo tanto, puede observarse que para los sistemas MAGC2 y PACGC, la presencia de aceite de coco en el sistema solvente tiene un impacto sobre su estructuración, en función de la frecuencia aplicada, hacia los 2000 Hz, estos dos sistemas mencionados, desarrollan un aumento en su capacidad de estructura (G'), destacando del resto de los sistemas, en los que no se observa esta dependencia tan marcada en función de la frecuencia, lo que define reológicamente a un gel débil (Figura 18).

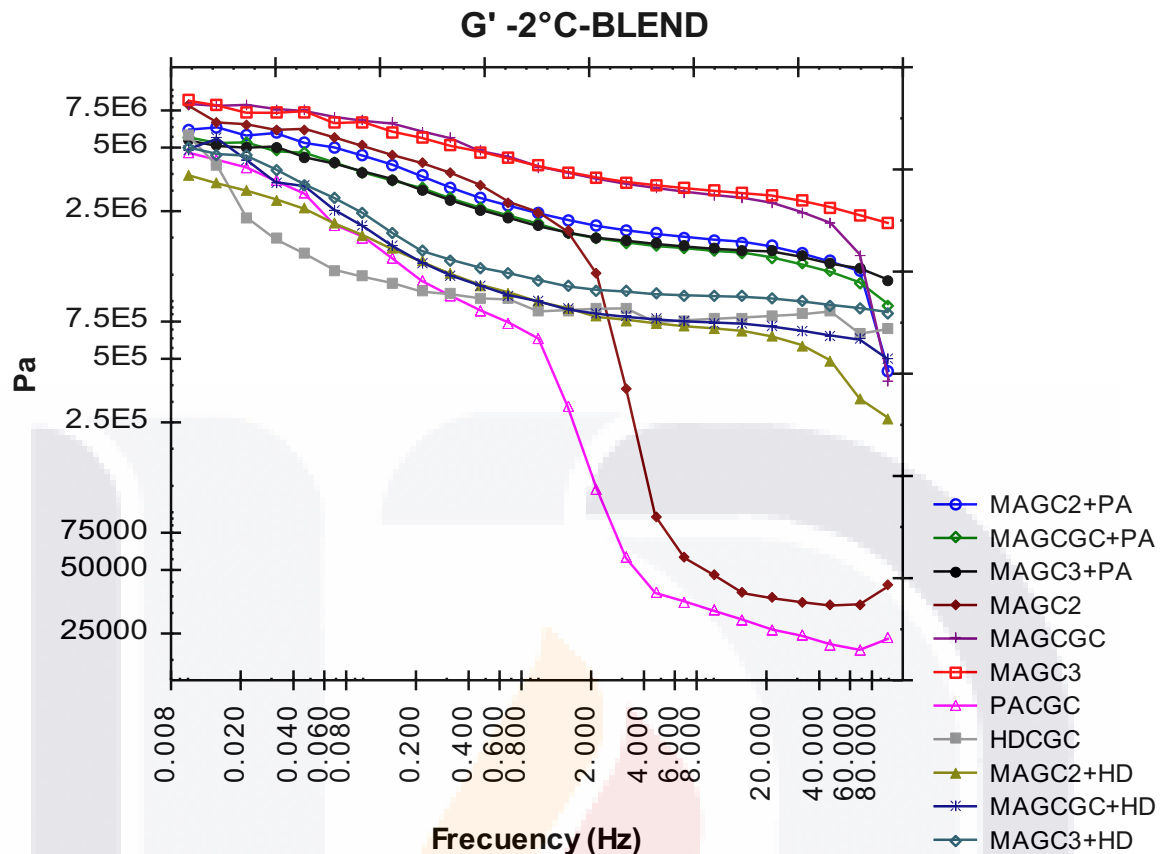


Figura 18. Módulo de almacenamiento (G') para los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$

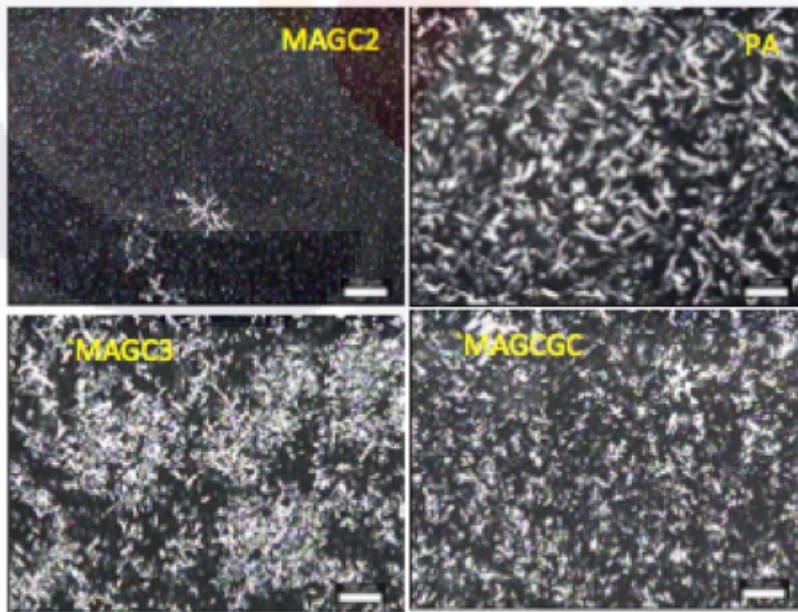


Figura 19. Microfotografías a 20x con MLP de los sistemas en mezcla de HOSFO + aceite de coco (BLEND) a $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

A partir de los barridos de frecuencia, se obtuvo la información para poder indicar que la G' es constante en prácticamente el resto de los sistemas estudiados, lo que coincide con el comportamiento de un gel verdadero.

Los tres agentes, por separado tienen la capacidad de gelar aceites aunque al observar los geles elaborados, en el almacenamiento se presentaron algunos problemas de estabilidad; por lo que el interés de hacer las mezclas de agentes y evaluarlos por las diferentes técnicas, especialmente por reología, está basado en la evidencia previa de que en muchos casos, la capacidad gelante y las cualidades reológicas se ven potenciadas al hacer mezclas de gelantes (López-Martínez *et al.*, 2015; Lupi *et al.*, Sintag *et al.*, 2016) Asimismo, existen estudios en donde se ha analizado el comportamiento gelante y reológico de los MAGs, individualmente o en combinación con sustancias de otra naturaleza como polímeros o esteroides, y también hay investigación extensa acerca de la combinación de ácidos grasos con alcoholes grasos, por lo que en este estudio se están explorando por primera vez las probables interacciones entre MAGs y moléculas de ácidos y alcoholes grasos.

El comportamiento reológico reveló patrones generales en las características de los sistemas: a medida que aumenta la concentración de los agentes gelantes se presenta un comportamiento viscoelástico consistente, con G' mayores y sin dependencia de la frecuencia.

Por las características reológicas de los sistemas analizados, a partir de los barridos de frecuencia, se concluye que los sistemas tienen las propiedades adecuadas para generar sistemas suficientemente estructurados y así poder pensar en una aplicación como sustitutos de grasas sólidas (saturadas o *trans*).

8. CONCLUSIONES

La interesterificación modificó el comportamiento térmico de las muestras grasas originales.

La interesterificación causó una homogeneidad en la forma y tipo de cristales formados, eliminando la granulosidad indeseable de la manteca de cerdo.

Al realizar el análisis estadístico, no se observaron diferencias significativas entre los dos métodos de interesterificación (enzimático y químico); por lo que se decidió utilizar sólo las mezclas modificadas enzimáticamente, en las etapas posteriores del proyecto.

Al analizarse la aplicación potencial de las grasas interesterificadas, se observó que presentaban un comportamiento similar a la manteca de cacao, por lo que se elaboraron formulaciones con diferentes proporciones de mezclas interesterificadas y cacao. La mezcla con 80% de cacao y 20% de mezcla interesterificada, presentó un comportamiento térmico y un contenido de sólidos similar al de la manteca de cacao, por lo que se propuso un uso potencial como sustituto parcial de manteca de cacao.

Al analizar la textura y microestructura del sistema, se encontró que la formación de agregados mayores, con más alta densidad cristalina, tuvieron el efecto de una mayor firmeza en el sustituto CBR80, que en el de la manteca de cacao control; por lo que esta mezcla resultaría un buen candidato para elaborar un sustituto de manteca de cacao.

La combinación de gelantes con longitudes de cadena similares promovió la formación de cristales mixtos que permitió una mejor estructuración de los aceites vegetales líquidos. La composición del tipo de aceite vegetal utilizado como solvente, influye en las propiedades térmicas de los organogel producidos, al afectar los procesos de cristalización.

Reológicamente se observó que el solvente HOSFO presentó mejores interacciones con los agentes gelantes puros y combinaciones, lográndose mejor capacidad de estructuración, G' mayores y con nula o poca dependencia de la frecuencia, lo que los define como geles fuertes.

En reología se presentaron efectos notables en las propiedades viscoelásticas con respecto al sistema solvente utilizado, pues los organogeles desarrollados en la mezcla de solventes BLEND, presentaron en general menor G' , con mayor dependencia de la frecuencia.

La microestructura de los sistemas resultó concomitante con el comportamiento reológico de los sistemas, observándose mayores dispersiones cristalinas, mayor densidad de sólidos y estructuras mixtas que permitieron un mejor atrapamiento del gel en los sistemas que coincidentemente presentaron mejores propiedades viscoelásticas en reología.

Los organogeles de mezclas de gelantes en HOSFO tienen las cualidades reológicas necesarias para pensarse como posibles sustitutos de grasas *trans* en industria de alimentos. La aplicación potencial específica sería tema de otro estudio futuro, enfocado en esta tarea.

Los organogeles elaborados con MAGs + PA como co-gelante, resultaron en estructuras más estables y con mejores propiedades reológicas, en comparación con la combinación de gelantes MAGs + HD. La mayor compatibilidad entre MAGs y PA se explica por la formación de diferentes unidades estructurantes, que previenen la agregación de la masa cristalina, lo que es un problema por ejemplo con los geles elaborados sólo con MAGs; propiciando una mejor distribución espacial de la masa en la fase oleosa.

La incompatibilidad de MAGs con HD, se explica por el tamaño tan grande de cristales formados por HD, que obstaculizan cualquier interacción con las partículas cristalinas de MAGs. Esto hace que los cristales de MAGs se conformen en esferulitas alargadas, lo que resulta en una dispersión cristalina homogénea, comportándose como si no existiera un co-gelante, situación que que aumenta las probabilidades de formación de agregados débiles sin suficiente capacidad de atrapar el aceite.

9. BIBLIOGRAFÍA

- Adewale, P., Mba, O., Dumont, M.J., Ngadi, M., Cocciardi, R. 2014. Determination of the iodine value and the free fatty acid content of waste animal fat blends using FT-NIR. *Vib. Spectrosc.* 72: 72-78.
- Aguilar-Zárate, M., De la Peña-Gil, A., Álvarez-Mitre, F.M., Charó-Alonso, M.A., Toro-Vázquez, J.F. 2019. Vegetable and Mineral Oil Organogels Based on Monoglyceride and Lecithin Mixtures. *Food Biophys.* <https://doi.org/10.1007/s11483-019-09583-1>.
- Badui Dergal, S. 2006. Química de los Alimentos. Capítulo 4: *Lípidos*. Pp 245-300.
- Bhat, S.G., Sukumaran, R. K. 2013. Valorization of Food Processing By-Products. *Chapter 10: Enzyme Technologies for Biocoverison of Food Processing By-Products*. CRC Press. Taylor & Francis Group. Pp 233-265.
- Bin Sintang, M.D., Rimaux, T., Van de Walle, D., Dewenttinck, K., Patel, A.R. 2016. Studying the oil structuring properties of monoglycerides and phytosterols mixtures. *Eur J Lipid Sci Technol.* 119: 1500517. doi:10.1002/ejlt.201500517.
- Bot, A., Flöter, E. 2018. Structuring Edible Oil Phases with Fatty Acids and Alcohols. Chp 5 In: *Edible Oil Structuring*. Edited by Ashok R. Patel. *Royal Soc Chem*.
- Bot, A., Veldhuizen, Y.S.J., den Adel, R., Roijers, E.C. 2009. Non-TAG structuring of edible oils and emulsions. *Food Hydrocoll.* 23: 1184-1189.
- Calligaris, S., Mirolo, G., Da Pieve, S., Arrighetti, G., & Nicoli, M. C. 2014. Effect of oil type on formation, structure and thermal properties of gamma-oryzanol and betasitosterol-based organogels. *Food Biophys.* 9(1), 69–75.
- Campos, R., Narine, S., Marangoni, A.G. 2002. Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. *Food Res Int.* 35(10): 971-981.

- Cardona Rincón, J.A., Herrera, M.L. 2013. Chocolate. *Ciencia e Investigación*. Tomo 63 No. 2: 55-62.
- Cassiday, L. Coconut Oil Boom. 2016. *INFORM AOCS*. Vol 27(5).
- Chaleepa, K., Szepes, A., Ulrich, J. 2010. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. *Chem Phys Lipids*. 163:390-396.
- Chen, C.H., Van Damme, I., Terenjev, E.M. 2009. Phase behavior of C18 monoglyceride in hydrophobic solutions. *Soft Matter*. 6: 432-439.
- Chen, B., McClements, D.J., Decker, E.A. 2013. Design of Foods with Bioactive Lipids for Improved Health. *Annu. Rev. Food. Sci. Technol.* 4:35-46.
- Co, E.D., Marangoni, A.G. 2012. Organogels: An alternative Edible Oil-Structuring Method. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 89: 749-780.
- Daniel, J., Rajasekharan, R. 2003. Organogelation of plant oils and hydrocarbons by long-chain saturated FA, fatty alcohols, wax esters, and dicarboxylic acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80: 417-421.
- Da Pieve, S., Calligaris, S., Co, E., Nicoli, M.C., Marangoni, A.G. 2010. Shear nanostructuring of monoglyceride organogels. *Food Biophys*. 5:211-7.
- Da Silva, R.C., Cotting, L.N., Poltronieri, T.P., Balcao, V.M., de Almeida, D.B., Goncalves, L.A.G., Grimaldi, R., Gioelli, L.A. 2009. The effects of enzymatic interesterification on the physical-chemical properties of blends of lard and soybean oil. *Food Sci Technol*. 42: 1275-1282.
- Da Silva, R.C., Schaffer de Martini Soares, F.A., Hazzan, M., Capacla, I.R., Almeida Goncalves, M.I., Gioielli, L.A. 2012. Continuous enzymatic interesterification of lard and soybean oil blend: Effects of different flow rates on physical properties and acyl migration. *J Mol Catal B Enzym*. 76(2012) 23-28.
- Da Silva, R.C., Badan Ribeiro, A.P., Schaffer de Martini Soares, F.A., Capacla, I.R., Hazzan, M., Oliveira dos Santos, A., Pavie Cardoso, L., Gioielli, L.A. 2013. Microstructure and Thermal Profile of Structured Lipids Produced by Continuous Enzymatic Interesterification. *J Am Oil Chem Soc*. 90:631-639.

- Da Silva, R.C., Schaffer de Martini Soares, F.A., Mayumi Maruyama, J., Roque Dagostinho, N., Adami Silva, Y., Neves Rodrigues, J., Gioelli, L.A. 2016. Microscopic approach of the crystallization of tripalmitin and tristearin by microscopy. *Chem Phys Lipids*. doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2016.04.004.
- Davidovich –Pinhas, M., Barbut S., Marangoni, A.G. 2016. Development, Characterization, and Utilization of Food-Grade Polymer Oleogels. *Annu Rev Food Sci T*. 11: 48 (4.1-4.27).
- De Clercq, N., Danthine, S., Nguyen, M. T., Gibon, V., & Dewettinck, K. 2012. Enzymatic Interesterification of palm oil and fractions: Monitoring the degree of Interesterification using different methods. *J Am Oil Chem Soc*. 89(2): 219–229.
- De Clercq, N., Kadivar, S., Van de Walle, D., De Pelsmaeker, S., Ghellynck, X., Dewettinck, K. 2017. Functionality of cocoa butter equivalents in chocolate products. *Eur Food Res Technol*. 243: 309.
- De la Peña-Gil, A., Álvarez-Mitre, F.M., González-Chávez, M.M., Charó-Alonso, M.A., Toro-Vázquez, J.F. 2017. Combined effect of shearing and cooling rate on the rheology of organogels developed by selected organogelators. *Food. Res. Int*. 93: 52-65.
- De Oliveira, G.M., Badan Ribeiro, A.P., Guenter Kieckbusch, T.G. (2015). Hard fats improve technological properties of palm oil applications in fat-based products. *LWT-Food Sci Technol*. 63.2: 1155-1162.
- Dijkstra, A.J. 2013. Edible Oil Processing from a Patent Perspective. Chapt 11: *Interesterification*. P 231-242.
- Divakar, S. 2013. Enzymatic Transformation. Chapt 3: *Lipases*. Springer-India. pp 23-38.
- Edmund, D.C. & Marangoni, A.G. 2012. Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. *J Am Oil Chem Soc*. 89: 749-780.
- Figura, L.O., Teixeira A.A. (Editors). 2007. Rheological Properties. In: *Food Physics*. Springer, Berlin, Hidelberg. Doi https://doi.org/10.1007/978-3-540-34194-9_4.

- Gandolfo, F.G., Bot, A., Flöter, E. 2004. Structuring of Edible Oils by Long-Chain FA, Fatty Alcohols, and Their Mixtures. *J Am Oil Chem Soc.* Vol. 81, no. 1: 1-6.
- García de Sotero, D., Sandoval de Águila, J., Saldaña Ramírez, R., Cárdenas de Reátegui, G., Soplín Ríos, J.A., Sotero Solís, V., Paván Torres, R., Macini Filho, J. 2008. Fraccionamiento e Interesterificación del aceite de palma (*Elaeis guineensis*) cultivado en la amazonia peruana. *Grasas y Aceites.* 59(2): 104-109.
- Garden, J.L., Bourgeois, O. 2012. Encyclopedia of Nanotechnology. *Nanocalorimetry.* Springer. pp 1491-1504.
- George, M., Weiss, R.G. 2006. Low molecular-mass organic gelators, in *Molecular Gels. Materials with self-assembled fibrillar networks.* Ed by R.G. Weiss, P Terech. Springer. Pp 449-453.
- Gregersen, S. B., Miller, R. L., Hammershøj, M., Andersen, M. D., & Wiking, L. (2015). Texture and microstructure of cocoa butter replacers: Influence of composition and cooling rate. *Food Structure.* 4: 2–15.
- Gregersen, S.B., Povey, M.J.W., Kidmose, U., Andersen, M.D., Hammershoj, M., Wiking, L. 2015. Identification of important mechanical and acoustic parameters for the sensory quality of cocoa butter alternatives. *Food Res Int.* 76 :637-644.
- Höhne, G.W.H., Hemminger, W.F., Flammersheim, H.J. 2003. Differential Scanning Calorimetry. 2a edición. Springer. 257 pp.
- Hu, F., Stampfer, M., Manson, J., Rimm, E., Colditz, G., Rosner, B., *et al.* 1997. Dietary fat intake and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med.* 337: 1491-9.
- Hu, F., Stampfer, M., Manson, J., Ascherio, A., Colditz, G., Speizer, F., *et al.* 1999. Dietary saturated fats and their food sources in relation to the risk of coronary heart disease in women. *Am J Clin Nutr.* 70: 1001-8.
- Hughes, N.E., Marangoni, A.G., Wright, A.J., Rogers, M.A., Rush, J.W.E. 2009. Potential food applications of edible oil organogels. *Trends Food Sci Tech.* 20: 470-480.

- INEGI. 2011. Ed. 2013. Boletín de Estadísticas Vitales.
- International Programme on Chemical Safety (IPCS). 2007. *Metanolato de Sodio*. OMS. ICSC: 0771.
- Jahurul, M.H.A., Zaidul, I.S.M., Norulaini, N.A.N., Sahena, F., Jinap, S., Azmir, J., Sharif, K.M., Mohd Omar, A.K. 2013. Cocoa butter fats and possibilities of substitution in food products concerning cocoa varieties, alternative sources, extraction methods, composition, and characteristics. *J Food Eng.* 117: 467-476.
- Jiménez-Colmenero, Francisco. 2007. Healthier Lipid Formulation Approaches In Meat-Based Functional Foods. Technological Options For Replacement Of Meat Fats By Non-Meat Fats. *Trends Food Sci Tech.* 18.11: 567-578.
- Kadivar, S., De Clercq, N., Mokbul, M., Dewettinck, K. 2016. Influence of enzymatically produced sunflower oil based cocoa butter equivalents on the phase behavior of cocoa butter and quality of dark chocolate. *LWT-Food Sci Technol.* 66: 48-55.
- Kalnin, D., Lesieur, P., Artzner, F., Keller, G., Olivon, M. 2005. Systematic investigation of lard polymorphism using combined DSC and time-resolved synchrotron X-ray diffraction. *Eur J Lipid Sci Technol.* 107: 594-606.
- Kardash, E., Tur'yan, Y.I. Acid Value Determination in Vegetable Oils by Indirect Titration in Aqueous-alcohol Media. 2005. *Croatica Chem Acta.* 78(1): 99-103.
- Khalid, N., Khan, R.S., Hussain, M.I., Farooq, M., Ahmad, A., Ahmed, I. 2017. A comprehensive characterisation of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient-a review. *Trends Food Sci Tech.*
- Kim, J.Y., Lim, J., Lee, J., Hwang, H-S., Lee, S. 2017. Utilization of oleogels as a replacement for solid fat in aerated baked goods: Physicochemical, rheological, and tomographic characterization. *J Food Sci.* Vol. 82 Nr. 2(445-452).

- Kris-Etherton, P., Yu, S. 1997. Individual fatty acids on plasma lipids and lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr.* 65: 1628S-44S.
- Lan, Y., Corradini, M.G., Weiss, R.G., Raghavan, S.R., Rogers, M.A. 2015. To gel or not to gel: correlating molecular gelation with solvent parameters. *Chem Soc Rev.* DOI: 10.1039/c5cs00136f
- Li, L., Ji, F., Wang, J., Li, Y., Bao, Y. 2015. Esterification degree of fructose laurate exerted by *Candida antarctica* lipase B in organic solvents. *Enzyme Microb Technol.* 69: 46-53.
- Liu, K.J., Chang, H.M., Liu, K.M. 2007. Enzymatic synthesis of cocoa butter analog through interesterification of lard and tristearin in supercritical carbon dioxide by lipase. *Food Chem.* 100(4): 1303-1311. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.010.
- Loisel, C., Keller, G., Lecq, G., Bourgaux, C., Ollivon, M. 1998. Phase transition and polymorphism of cocoa butter. *J Am Oil Chem Soc.* Vol. 25, no.4. 425-438.
- Lopes, T.I.B., Ribeiro, M.D.M.M., Ming, C.C., Grimaldi, R., Goncalves, L.A.G., Marsaioli, A.J. 2016. Comparison of the regiospecific distribution from triacylglycerols after chemical and enzymatic interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated high oleic sunflower oil blend by carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Food Chem.* 212:641-647.
- López de la Fuente B. 2014. Modificación de la Manteca de Cerdo para su Aprovechamiento en la Industria de Panificación. Tesis. Escuela de Negocios Gastronómicos. Universidad Panamericana campus Bonaterra.
- López-Martínez, A., Morales-Rueda, J. A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. A., Marangoni, A. G., & Toro-Vazquez, J. F. 2014. Comparing the crystallization and rheological behavior of organogels developed by pure and commercial monoglycerides in vegetable oil. *Food Res Int* 64, 946–957.
- López-Martínez, A., Charó-Alonso, M.A., Marangoni, A.G., Toro-Vázquez, J.F. 2015. Monoglyceride organogels developed in vegetable oil with and without ethylcellulose. *Food Res Int.* 72: 37-46.

- Lupi, F.R., Gabriele, D., Greco, V., Baldino, N., Seta, L., de Cindio, B. 2013. A rheological characterisation of an olive oil/fatty alcohols organogel. *Food Res. Int.* 51: 510-517.
- Lupi, F.R., Greco, V., Baldino, N., Cindio, B.D., Fischer, P., Gabriele, D. 2016. The effects of intermolecular interactions on the physical properties of organogels in edible oils. *J Colloid Interface Sci.*
- Lupi, F.R., Shakeel, A., Greco, V., Baldino, N., Calabro, V., Gabriele, D. 2017. Organogelation of extra virgin olive oil with fatty alcohols, glyceryl stearate and their mixture. *LWT- Food Sci Technol.* 77: 422-429.
- Lupi, F.R., De Santo, M.P., Ciuchi, F., Baldino, N., Gabriele, D. 2018. The role of edible oils in low molecular weight organogels rheology and structure. *Food Res. Int.* 111: 399-407.
- Lusas E.W., Alam, M.S., Clough, R.C., Riaz, M.N 2012. Animal and Vegetable Fats, Oils, and WaxesJ. In: *Handbook of Industrial Chemistry and Biotechnology*. A. Kent (editor). 1323-1401.
- Marangoni de Oliveira, G., Badan Ribeiro, A.P., Guenter Kieckbusch T. 2015. Hard fats improve technological properties of palm oil for applications in fat-based products. *LWT Food Sci Technol.* 63: 1155-1162.
- Meng, Z., Liu, Y., Shan, L., Jin, Q., Wang, X. 2010. Reduction of Graininess Formation in Beef Tallow-Based Plastic Fats by Chemical Interesterification of Beef Tallow and Canola Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 87(12): 1435-1442.
- Miklos, R., Zhang, H., Lametsch, R., Xu, X. 2013. Physicochemical properties of lard-based diacylglycerols in blends with lard. *Food Chem.* 138: 608-614.
- Mohamed, I.O. 2015. Enzymatic Synthesis of Cocoa Butter Equivalent from Olive Oil and Palmitic-Stearic Fatty Acid Mixture. *Appl Biochem Biotechnol.* 175: 757-769.
- Moreno Safra, N., Perea Villamil, A. 2008. Enzymatic Interesterification for the Production of Special Fats Using Lipase from *Thermomyces lanuginosus*. *PALMAS*. Vol. 29. No. 4. P 73-79.

- Naderi, M., Farmani, J., Rashidi, L. 2016. Structuring of Chicken Fat by Monoacylglycerols. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 93: 1221-1231.
- Nandi, N. 2011. Chirality in Biological Nanospaces: Reactions in Active Sites. *Chapter four: Influence of chirality on the hydrolisis reactions within the active site of hydrolases.* CRC Press. pp 107-116.
- NMX-F-101-1987. 1987. Alimentos. Aceites y Grasas vegetales o animales. Determinación de Índice de Acidez. NORMAS MEXICANAS. Dirección General de Normas.
- NMX-F-110-1999. 1999. Manteca de Cerdo. Denominación, especificaciones y Métodos de prueba. NORMAS MEXICANAS. Dirección General de Normas. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.
- NMX-F-152-SCFI-2011. 2011. Alimentos – Aceites y Grasas Vegetales o Animales- Determinación del Índice de Yodo por el método Ciclohexano – Método de Prueba. NORMAS MEXICANAS. Dirección General de Normas. Secretaría de Economía.
- Nugrahini, A.D., Soerawidjaja, T.H. 2015. Directed Interesterification of Coconut Oil to Produce Structured Lipid. *Agric Agric Sci Procedia.* 3: 248-254
- O'Keefe, S.F. 2002. Food lipids. Akoh, C.C., Min, D.B. Chapter 1: Nomenclature and Classification of Lipids. Marcel Dekker Inc. NY.
- Palla, C., Carrín, M.E. 2014. 0% *Trans*: Interesterificación y Fraccionamiento como estrategias tecnológicas. Ciencia e Investigación. Tomo 64. No. 2.
- Patel, A.R. 2018. Oil Structuring: Concepts, Overview and Future Perspectives. Chp 1 In: Edible Oil Structuring. Edited by Ashok R. Patel. *Royal Soc Chem.* pp 3-18.
- Peyronel, M.F., Acevedo, N.C., Marangoni, A.G. 2010. Structural and mechanical properties of fats and their implications for food quality. In: Chemical deterioration and physical instability of food and beverages. Edited by Skibsted L.H., Risbo J., Andersen M.L. CRC Press, NY. pp 216-259

- Peyronel, M.F. 2018. Chptr 11: Methods used in the study of the physical properties of fats. In: Structure-Function Analysis of Edible Fats. Edited by Alejandro G. Marangoni. Second Edition. AOCS Press. pp 313-385.
- Ramel, P.R., Co, E.D., Acevedo, N.C., Marangoni, A.G. 2016. Structure and functionality of nanostructured triacylglycerol crystal networks. *Progress in Lipid Res.* 64(12 p).
- Ribeiro A.P. B., Basso, R.C., Grimaldi, R., Gioielli, L.A., Goncalves, L.A.G. 2009. Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. *Food Anal. Methods.* 2.4: 282-302.
- Rios, R., Pessanha, M., Almeida, P., Viana, C., Lannes, S. 2014. Application of fats in some food products. *Food Sci Technol (Campinas).* 34(1): 3-15.
- Riquelme Coloma, I.A. 2006. Interesterificación química de grasa animal y aceite de nuez. Tesis. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
- Rogers M.A. 2009. Novel structuring strategies for unsaturated fats – Meeting the zero-trans, zero-saturated fat challenge: A review. *Food Res Int.* 42: 747-753.
- Sagiri, S.S., Behera, B., Rafanan, R.R., Bhattacharya, K., Pal, K., Banerjee, I., Rousseau, D. 2012. Organogels as Matrices for Controlled Drug Delivery: A Review on the Current State. *Soft Mater.* 12: 47-72.
- Sagiri, S.S., Samateh, M., John, G. 2018. Biobased Molecular Structuring Agents. Chapter 2 In: Edible Oils Structuring. Edited by Patel, A.R. Royal Society of Chemistry.
- Sandana Mala, J.G., Takeuchi, S. 2011. Analytical Chemistry: Methods and Applications. *Chapt 7: Understanding Structural Features of Microbial Lipases – An Overview.* Apple Academic Press. pp 114-135.
- Sangwal, K., Sato, K. 2012. Nucleation and Crystallization Kinetics of Fats. In: Marangoni A.G., editor. *Struct. Anal. Edible Fats.* 1st ed. AOCS Press. p 25-78.

- Sato, K. 2001. Crystallization behavior of fats and lipids- a review. *Chem Eng Sci.* 56(7): 1325-1331.
- Schäink, H.M., van Malssen, K.F., Morgado-Alves, S., Kalnin, D., van der Linden, E. 2007. Crystal Networks for edible oil organogels: Possibilities and limitations of the fatty acid and fatty alcohol systems. *Food Res. Int.* 40: 1185-1193.
- Shahidi, F., Senanayake, S.P.J.N. 2006. Nutraceutical and Specialty Lipids and their Co-Products. *Chapter 1: Nutraceutical and Specialty Lipids.* Taylor and Francis Group. pp 1-25.
- Shen, Z., Birkett, A., Augustin, M.A., Dungey, S., Versteeg, C. 2001. Melting Behavior of Blends of Milk Fat with Hydrogenated Coconut and Cottonseed Oils. *J Am Oil Chem Soc.* 78(4): 387-394.
- Steen, L., Rigolle, A., Glorieux, S., Paelinck, H., Fraeye, I., Goderis, B., Foubert, I. 2015. Isothermal crystallization behavior of lard at different temperatures studied by DSC and real-time XRD. *Food Res Int.* 69: 49-56.
- Stokes, J. R., Boehm, M. W., & Baier, S. K. (2013). Oral processing, texture and mouthfeel: From rheology to tribology and beyond. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 18(4), 349–359. doi:10.1016/j.cocis.2013.04.010
- Szczeszna-Antczak, M., Kaminska, J., Florczak, T., Turkiewicz, M. 2014. Cold Adapted Yeast. *Chapter 16: Cold-Active Yeast Lipases: Recent Issues and Future Prospects.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp 353-375.
- Rivera-Pérez, C., García-Carreño, F. 2007. Enzimas Lipolíticas y su Aplicación en la Industria del Aceite. *BioTecnología.* Vol 11 No. 2. P 37-45.
- Stortz, T.A., Zetzl, A.K., Barbut, S., Cattaruzza, A., Marangoni, A.G. 2012. Edible oleogels in food products to help maximize health benefits and improve nutritional profiles. *Lipid Tech.* Vol 24; No. 7.
- Toro-Vázquez, J.F., Morales-Rueda, J.A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M.M., González-Chávez, M.M. 2007. Thermal and

- textural properties of organogels developed by candelilla wax in safflower oil. *J Am Oil Chem Soc.* 84(11): 989-1000.
- Toro-Vazquez, J. F., Morales-Rueda, J., Torres-Martínez, A., Charó-Alonso, M. A., Mallia, V.A., & Weiss, R. G. 2013. Cooling rate effects on the microstructure, solid content, and rheological properties of organogels of amides derived from stearic and (R)-12-hydroxystearic acid in vegetable oil. *Langmuir.* 29(25), 7642–7654.
- Torrejón, C., Uauy, R. 2011. Calidad de grasa, arterioesclerosis y enfermedad coronaria: efectos de los ácidos grasos saturados y ácidos grasos *trans*. *Rev. Med. Chile.* 139: 924-931.
- Vaclavik, V.A., Christian, E.W. 2014. Essentials of Food Science. *Chapter 12: Fat and Oil Products*. Springer. Pp 233-261.
- Valenzuela, R., Valenzuela, A. 2013. Lipid Metabolism. *Chapter 1: Overview about Lipid Structure*. pp 3-20.
- Valoppi, F., Calligaris, S., Barba, L., Šegatin, N., Ulrih, N. P., & Nicoli, M. C. (2016). Influence of oil type on formation, structure, thermal and physical properties of monoglyceride-based organogel. *Eur J Lipid Sci Tech.* doi:10.1002/ejlt.201500549
- Wang, F., Liu, Y., Jin, Q., Meng, Z., Wang, X. 2011. Characterization of cocoa butter substitutes, milk fat and cocoa butter mixtures, *Eur J Lipid Sci Tech.* 113(9): 1145-1151.
- Wang, F.C., Gravelle, A.J., Blake A.I., Marangoni, A.G. 2015. Novel Trans Fat Replacement Strategies. *COFS*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.08.006>.
- Wang, F.C., Marangoni, A.G. 2016. Advances in the application of Food Emulsifier a-gel Phases: Saturated Monoglycerides, Polyglycerol Fatty Acid Esters, and their Derivatives. *J Colloid Interface Sci.* doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2016.08.012>
- West, R., & Rousseau, D. (2016). Crystallization and rheology of palm oil in the presence of sugar. *Food Res Int.* 85, 224–234. doi:10.1016/j.foodres.2016.05.010

Zhang, L., Yang, G., Chen, J., Bi, Y., Chen, S., Tan, D., Fu, J., Peng, D. 2015. Effect of Lard Quality on Chemical Interesterification Catalyzed by KOH/Glycerol. *J. Am. Oil Chem. Soc.* Pp

Zetzi, A.K., Marangoni, A.G. 2012. Structured oils and fats (organogels) as food ingredient and nutraceutical delivery systems. In Garti N, McClements DJ, editors, *Encapsulation Technol. Deliv. Syst. Food Ingredients Nutraceuticals*. Woodhead Publishing Ltd. pp 392-411.



ANEXO



MODIFICATION OF LARD'S THERMAL PROPERTIES TO IMPROVE ITS FUNCTIONALITY: POTENTIAL COCOA BUTTER SUBSTITUTE

MODIFICACIÓN DE LAS PROPIEDADES TÉRMICAS DE LA MANTECA DE CERDO PARA MEJORAR SU FUNCIONALIDAD: SUSTITUTO POTENCIAL DE MANTECA DE CACAOMANAGEMENT

María del Carmen Gutiérrez Guerrero¹, Flor de María Alvarez Mitre², Jorge Fernando Toro Vázquez², Fidel Guevara Lara³, Juan Jáuregui Rincón^{1*}

¹ Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Básicas. Depto. de Ingeniería Bioquímica. C.P. 20131. Aguascalientes, Ags., México.

² Universidad Autónoma de San Luis Potosí; Facultad de Ciencias Químicas, Centro de Investigación y Estudios de Posgrado, Laboratorio de Físicoquímica de Alimentos. C.P. 78210. San Luis Potosí, S.L.P., México.

³ Universidad Autónoma de Aguascalientes. Centro de Ciencias Básicas. Depto. de Química. C.P. 20131. Aguascalientes, Ags., México.

ABSTRACT

Lard is an animal fat containing specific triacylglycerols (TAGs) where the saturated fatty acids are mainly located in the sn-2 position providing it with inadequate attributes for the food industry, such as graininess. By Interesterification, a redistribution of fatty acids within the glycerol molecule takes place modifying fats and oils properties. Interesterification of lard and coconut oil (CO) blends at 70:30 and 80:20 ratios, resulted in IB_c70, IB_c80 (enzymatic procedure) and IB_c70, IB_c80 (chemical procedure). They were characterized by their acidity index (AI), iodine index (II) and thermal behavior by differential scanning calorimetry (DSC). It results showed that the highly saturated TAGs in CO affects lard only at the 70:30 ratio. DSC results made evident that the IB_c and IB_c melting profiles are not significantly different. Additionally, they showed higher crystallization and melting enthalpies compared to native lard, indicating a higher degree of intermolecular arrangement. These findings led to an application as a potential cocoa butter (CB) substitute. A mixture (CBR80) of 20% IBE70 and 80% CB, resulted in a thermal behavior that most resembled CB. Microstructure and texture showed CBR80 as a feasible CB replacer.

Keywords: Lard, Interesterification, Cocoa butter replacer

RESUMEN

La manteca de cerdo es una grasa que contiene triacilglicérolos (TAGs) específicos, en donde los ácidos grasos saturados se localizan principalmente en la posición sn-2, lo que determina atributos (textura arenosa) inadecuados para la industria alimentaria. Con la interesterificación, los ácidos grasos son redistribuidos dentro de la molécula del glicerol, modificando las propiedades de lípidos. Se interesterificaron mezclas de manteca de cerdo y aceite de coco (CO) en proporciones 70:30 y 80:20, obteniéndose IBE70, IBE80 (proceso enzimático) y IBC70, IBC80 (proceso químico). Se caracterizaron por índice de acidez, índice de yodo (II) y perfil térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los resultados de II mostraron la influencia de los TAGs saturados del CO

en las mezclas 70:30. Mediante DSC se encontró que no hay diferencia significativa entre los perfiles de fusión de IBE e IBC. Ambas presentaron entalpías de cristalización y fusión mayores que la manteca original, indicando un mayor orden de arreglo intermolecular. Estos resultados apuntaron hacia un potencial sustituto de manteca de cacao (CB). Se hicieron estudios térmicos, de microestructura y textura de una mezcla con 20% de IBE70 y 80% de CB (CBR80), como posible ingrediente para la confección de un sustituto de CB.

Palabras clave: Manteca de cerdo, Interesterificación, Sustituto de Manteca de Cacao

INTRODUCTION

Some edible fats and oils are not suitable for its application on many food products, mainly due to its difficulties for crystallization, melting temperature range and their consistency. Overall, the industry does not consider animal fats as the best ingredient for use in food formulations (Jimenez-Colmenero 2007; de Oliveira *et al.*, 2015). Furthermore, some other fats with important uses in food industry, such as milk fat, cocoa butter (CB), among others, are expensive and/or its supply is uncertain (Ríos *et al.*, 2014; Gregersen *et al.*, 2015); therefore, there is a need to seek modification processes to make poorly functional fats applicable to a wider range of products. Modification procedures include hydrogenation, fractionation, interesterification and blends. Partial hydrogenation was for many years the traditional oil processing method, with the inconvenience of *trans* fatty acids formation and their adverse effects on human health (Ribeiro *et al.*, 2009). Therefore, healthier alternatives are needed and a particular interest in the interesterification process has increased in recent years arising from the fact that the resulting modified fats do not possess undesirable byproducts (*i.e.* *trans* fats), and the process is relatively inexpensive (Zhang *et al.*, 2015). Interesterification leads to the rearrangement of the acyl groups within or between TAGs molecules modifying the physicochemical properties (*e.g.* thermomechanical properties) of the final fat, maintaining

*Autor para correspondencia: Juan Jáuregui-Rincón
Correo electrónico: jjaureg@correo.uaa.mx
Recibido: 19 de febrero de 2018
Aceptado: 28 de mayo de 2018

their fatty acid composition (De Clercq et al., 2011). Interesterification can be performed chemically or enzymatically. The chemical reaction involves sodium alkylates as main catalysts, which are easy to handle and remove, and can initiate the reaction in low concentrations, causing a random fatty acid redistribution. However, the application of chemical catalysis can cause the formation of soap and methyl esters. On the other hand, the enzymatic interesterification takes place under relatively mild conditions, reducing the oil/fat loss with fewer unit operations. This technique has the great advantage of allowing a specific redistribution of fatty acids, for design products (Zhang et al., 2015; Paula et al., 2014). Consequently interesterification is a promising tool that can be used to modify poorly functional fats, that when combined with vegetable oils, could enhance some of their thermomechanical properties (e.g. melting point, hardness) (Wang et al., 2016).

Lard is an animal fat obtained from the adipose tissue of pig by a rendering process. Lard is distinctive from other fats because the saturated fatty acids are mainly located in the *sn*-2 position and the unsaturated fatty acids in the external positions. It is also known that lard crystallizes generally in the most stable polymorph of fats (i.e. β). Unfortunately, this provides it with inadequate functional characteristics such as graininess and poor creaming, limiting its use in the food industry (Steen et al., 2015; Seriburi and Akoh, 1998; Campos et al., 2002). On the other hand, coconut oil (CO) has gained importance in food and cosmetic industries over recent years. The unique fatty acid composition of this oil, containing more than 65% medium-chain fatty acids (fatty acids of 6 to 12 carbon atoms), provides higher water solubility and better digestibility than fats with TAGs containing long-chain fatty acids (Cassiday, 2016; Nugrahini et al., 2015). CO crystallizes mostly in the desired polymorphic β' form (Chaleepa et al., 2010) which delivers a smooth texture (Campos et al., 2002). Hence, for the purpose of this investigation, we choose CO as blending oil for the interesterification process to improve the physicochemical and functional properties of lard. In previous studies, blends of lard and vegetable oil (i.e. soybean oil) have been modified through enzymatic interesterification in order to obtain structured lipids to be applied as plastic fats and human milk fat substitutes, with a successful outcome (Silva et al., 2012; da Silva et al., 2013). Moreover, there are studies focused on alternatives for fats used as important ingredients in food products, such as CB, due to its high price and increasing demand. The basis of these alternatives are the modification of commercial vegetable oils and some animal fats through enzyme-catalyzed interesterification to obtain CB substitutes and/or equivalents (Kadivar et al., 2013).

In this study, two blends of lard and CO (80:20 and 70:30) were enzymatically and chemically interesterified resulting in an interesterified blend. Their physicochemical properties and possible application as a CB substitute were evaluated.

MATERIALS AND METHODS

Materials

The interesterified blends (IB) chemically (IB_c) and enzymatically (IB_e) were produced from blends of lard and CO in a 70:30 (IB_c70, IB_e70) and 80:20 ratio (IB_c80, IB_e80). Lard was obtained from a local butchery in Aguascalientes, Ags., Mexico and CO from Hain Pure Foods (The Hain Celestial Group, USA); and CB from Pealpan. San Luis Potosi, Mexico.

Interesterification

Chemical interesterification was achieved with sodium methoxide as a catalyst (Sigma-Aldrich) following Roy and Bhattacharyya (1993) method, with modifications. Samples of 100 g with 0.4 g of catalyst were held at 90 °C for 40 min with constant stirring (300 rpm) with a magnetic stirrer and under reduced pressure conditions. Then, the catalyst was neutralized with citric acid and the reaction mixture was washed with boiling water. Afterwards, the product was separated using a sedimentation funnel. Finally, product's moisture was removed with reduced pressure. IB_c samples were bottled and kept under refrigeration at 0 °C. For the enzymatic interesterification, the methodology of DeClercq et al. (2011) was applied, *sn*-1,3 specific lipase from *Candida antarctica B* (Novozyme) was used. The reaction mixture consisting of 100 g sample with 1% of enzyme was held at 70 °C for 30 h with constant stirring (200 rpm) under vacuum conditions. At the end of the reaction time, the mixture was filtered to recover the enzyme. Finally, the IB_e samples were bottled and kept under refrigeration at 0 °C.

Chemical characterization

The acidity and iodine index were determined through the official Mexican Normative procedures: NMX-F-101-1987 and NMX-F-152-SCFI-2011 respectively. Each determination was carried out with the corresponding replicate.

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

Hermetically sealed samples in aluminum pans were analyzed with a TA Instruments (New Castle, DE, USA) Model Q1000 equipment to determine their crystallization and melting thermograms. Samples were heated at 80 °C for 15 min, cooled to -40 °C at a rate of 10 °C/min. After 2 min at -40 °C, samples were heated to 80 °C, at a rate of 5 °C/min. Thermal parameters were obtained through a TA Instruments Universal Analysis 2000 (v. 4.5A) software. All determinations were carried out with a replicate.

IB blends with CB

Samples of IB_c70 were blended with CB at 20% (CBR20), 30% (CBR30), 50% (CBR50) and 80% (CBR80).

Solid Fat Content (SFC)

SFC was determined by AOCs official method (Cd 16b-93 1997); using a low resolution nuclear magnetic resonance equipment (the minispec mq20 BRUKER NMR Analyzer, Bruker Analytik; Rheinstetten, Germany). As CB is a stabilizing fat, it must be tempered before measuring SFC profile. Test tubes



were filled to a height of 4 cm and melted at 100 °C for 15 min, followed by the tempering at 60 °C for 5 min, 0 °C for 90 min, 26 °C for 40 h, 0 °C for 90 min. Finally, kept for 60 min at the measuring temperatures: 0, 5, 10, 20, 30, 40 and 60 °C. Each determination was carried out with a replicate.

Polarized Light Microscopy

The microstructure was analyzed using an Olympus BX51 microscope (Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) equipped with a color video camera (KP-D50; Hitachi Digital, Tokyo, Japan) and a Linkam TP94 heating/cooling stage (Linkam Scientific Instruments, Ltd., Surrey, England) connected to an LTS 350 temperature control station (Linkam Scientific Instruments, Ltd.) and a liquid nitrogen tank. A droplet of melted fat was placed between a glass slide and a glass slip. The sample was first melted at 60 °C, followed by the same thermic program used for SFC determination. After the 40 h incubation period at 26 °C, samples were placed on the heating/cooling stage and kept at 20 or 30 °C for 60 min. After the 60 min incubation time, polarized light microphotographs (PLM) were obtained at 20x.

Texture analysis

The texture was analyzed using a TA-XTPlus texture analyzer equipment (Stable Microsystems, Surrey, UK) with an aluminum 20 mm cylinder probe (P/20), using 5 Kg load cell. Samples were penetrated to a depth of 12 mm with a constant speed of 1.0 mm/s. Blends were analyzed at 0, 10, 20 and 30 °C respectively; and firmness (Kg) was recorded using the equipment software (Texture Exponent 32; Stable Microsystems). Five independent determinations for each sample were carried out.

Statistical analysis

The data was analyzed with the Statistica software (V 12.0 StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). A one-way ANOVA followed by a Tukey's significance test for comparison was applied to determine significant differences.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical characterization

Acidity index (AI) serves as an indicator of fats and oils quality since it represents the free fatty acids proportion in a system and it can be used as an estimation of fat's stability. According to official Mexican normative (NMX-F-110-1999), regarding lard's specifications, AI should not be higher than 1% (expressed as oleic acid). On another note, the international normative institution-Codex Alimentarius, establishes that lard can present AI values up to 1.25% (CODEX STAN 211-1999, 2015). Within this context for the IB₈₀ and IB₇₀, the AI resulted higher than the acceptable normative values, NMX-F-101-1987; NMX-F-110-1999 (4.51%±0.07 and 4.22%±0.1 respectively) indicating a considerable amount of free fatty acids in the studied samples. On the contrary, for the IB₈₀ and IB₇₀ the AI was 0.82%±0.07 and 1.09%±0.06 respectively, which is within the acceptable parameters. In

interesterification studies (performed enzymatically and/or chemically), it has been noticed that higher rates of diacylglycerides and free fatty acids are produced by the enzymatic process in comparison with the chemical interesterification, and that lipases are able to hydrolyze the TAGs to free fatty acids, mono and diacylglycerols. This can be associated with the presence of water in the sample, even with the enzyme preconditioning and water/moisture removal before the initiation of the interesterification process (Lopes *et al.*, 2016; Wirkowska-Wojdyla *et al.*, 2016). Therefore, this indicates that the interesterification of fatty acids in the chemical procedure is more effective than in the enzymatic procedure, under this study conditions. In spite of these differences, none of the IB samples presented any visible evidence of sensorial defects in terms of odor, color and consistency (results not shown).

Fat stability can also be evaluated by I₂ (iodine index), which allows us to measure the degree of unsaturation among the fatty acid chains present in oils and fats (Adewale *et al.*, 2014). Lipids with a higher I₂ have a tendency to oxidation due to the higher degree of double bounds leading to less stability. For the same percentage of CO in the IBs results, there are no significant differences between the samples I₂ (61.03 ±0.6 for IB₈₀; 60.91±0.5 for IB₈₀- and 34.45±0.6 for IB₇₀ and 34.26±0.5 for IB₇₀ (p>0.01). This, since during an interesterification process the fatty acid composition remains the same, including the degree of unsaturation, regardless of the process type (*i.e.* chemical or enzymatic). According to the official normative (NMX-F-110-1999), the acceptable I₂ for lard and byproducts is 45-70, and for this particular lard used in the blends, the I₂ was 62.63 ± 1.6, therefore for blends IB₈₀ and IB₈₀-, the amount of CO used was not sufficient to significantly change their I₂ (p>0.01). On another note, values of I₂ for blends IB₇₀ and IB₇₀ were lower than the I₂ normative values of lard but higher than the CO (6.3-10.6), and so the higher proportion of CO in IBs, largely affects lard, due to the highly saturated TAGs in CO (NMX-F-110-1999; CODEX STAN 211-1999., 2015) making it more stable in terms of oxidation.

Thermal properties

For discussion purposes of this study, as shown in Table 1, regarding the crystallization profile, the only crystallization temperature analyzed as the start of crystallization (*i.e.* beginning of the first exotherm) denominated T_c for all samples. For the melting profile, all melting temperatures were analyzed at the maximum of the endotherms (T_{m1}, T_{m2}, T_{m3}). As for the crystallization enthalpy (ΔH_c) and melting enthalpy (ΔH_m) only one value was determined as the sum of all transitions in the crystallization and melting profile correspondently. Moreover, uninteresterified blends (UIBs) of lard and CO were prepared in the same proportions of the IBs for comparison purposes (UIB70, UIB80).

First, it is evident that the general melting profile of all IBs as seen in Figure 1 is very similar. For the same proportion but different interesterification method the main melting parameters (*i.e.* T_{m1}, T_{m2}, T_{m3} and ΔH_m) are not significantly

Table 1. Crystallization (T_c) and melting (T_m , T_{m1} , T_{m2}) temperatures for raw materials (CO and Lard); Interesterified blends (IB₇₀ and IB₈₀) and Uninteresterified blends (UIB70 and UIB80).

Tabla 1. Temperaturas de cristalización (T_c) y fusión (T_m , T_{m1} , T_{m2}) de materias primas (CO y manteca de cerdo); Mezclas Interesterificadas (IB₇₀ and IB₈₀) y Mezclas no Interesterificadas (UIB70 and UIB80).

SAMPLES	T_c (°C)	ΔH_c (J/g)	T_m (°C)	T_{m1} (°C)	T_{m2} (°C)	ΔH_m (J/g)
CO	* 5.4 ± 0.3	* 106.7 ± 0.07	-	* 22.5 ± 1.4	-	* 130.5 ± 5
Lard	* 13.4 ± 3.8	* 71.7 ± 0.9	* -5.0 ± 1.2	-	* 28.5 ± 0.5	* 71.6 ± 1.1
IB ₇₀	* 11.8 ± 0.0	* 64.9 ± 0.8	* -2.3 ± 0.3	* 13.7 ± 1.4	* 28.1 ± 2.1	* 78.3 ± 0.9
IB ₈₀	* 14.2 ± 4.7	* 72.5 ± 0.6	* -5.2 ± 0.7	* 12.3 ± 3.0	* 30.6 ± 2.9	* 87.9 ± 2.2
UIB 70	* 5.1 ± 0.2	* 41.3 ± 0.1	* -2.6 ± 0.1	* 11.4 ± 0.3	* 26.7 ± 0.3	* 44.5 ± 1.1
UIB 80	* 7.2 ± 0.2	* 32.5 ± 0.8	* -3.6 ± 0.06	* 12.9 ± 0.07	* 27.9 ± 0.01	* 39.3 ± 0.3

Means ± SD n=2. Different letters mean significant differences (p<0.05)

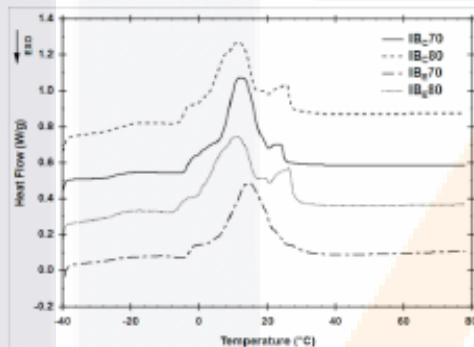


Figure 1. Melting thermograms of IB₇₀, IB₈₀, UIB₇₀, UIB₈₀ (see supporting information for crystallization thermograms).

Figura 1. Termogramas de fusión de IB₇₀, IB₈₀, UIB₇₀, UIB₈₀ (ver en información complementaria los termogramas de cristalización).

different (p<0.05) (see supporting information). This could be attributable to the small proportion of used enzyme (i.e. 1%), perhaps the use of a greater amount of enzyme could result in a different TAGs profile sufficient to differentiate the thermal behavior of the IB₇₀ products from the IB₈₀ products (De Clercq et al., 2011). Additional investigation is necessary to establish the relationship between enzyme concentration used in the interesterification process and the resultant TAGs profile. Since the interesterification method had no meaningful effect on the thermal behavior of the IBs only the IB₇₀ and IB₈₀ were chosen for further discussion.

The crystallization and melting profile are similar to those previously reported for a variety of native lard and CO (Fig. 2). The thermal behavior of these raw materials is of multiple transitions due to their complex TAGs profile and their polymorphic nature (Shen et al., 2001; Steen et al., 2015). In general, interesterification procedures led to modifications in the thermal properties (i.e. T_c , T_{m1} , T_{m2} , ΔH_c , ΔH_m) of the original raw materials (i.e. Lard and CO) and the UIBs (Table. 1, Fig. 2). UIBs thermal profiles are the result only of the mixed TAGs of

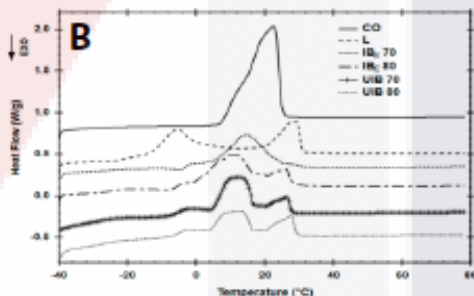
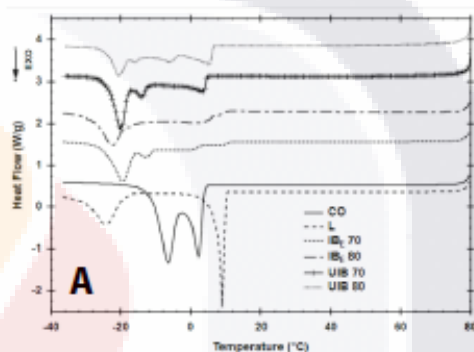


Figure 2. Thermal behavior of CO, Lard (L), IB₇₀, IB₈₀, UIB₇₀ and UIB₈₀ A) Crystallization, B) Melting.

Figura 2. Comportamiento térmico de CO, manteca de cerdo (L), IB₇₀, IB₈₀, UIB₇₀ y UIB₈₀ A) Cristalización, B) Fusión.

lard and CO with three very distinctive endotherms (Fig. 2B). The slight differences in values in T_{m1} and T_{m2} from lard and T_{m1} from CO, are due to dilution since they are in a mixture (da Silva et al., 2013; Miklos et al., 2013). The lower results in UIBs ΔH_c and ΔH_m values those for lard and CO, p<0.05 (Table 1); are related to the intermolecular arrangement (i.e. chain-

chain interactions) of TAGs species from the different crystalline forms (Silva *et al.*, 2012). The incompatibility among the different TAGs (e.g. due to a steric effect) (Kiyotaka, 2001) of lard and CO could be causing the energetic reduction. Thus, the differences of thermal parameters between the UIBs and the IB_s indicate changes in the TAGs composition achieved by interesterification (Silva *et al.*, 2012), this because the modification in the TAGs profile leads to changes in crystallization and polymorphic form of fats. Both IB_s resulted in a higher T_m (Table 1, Fig. 2A) than the correspondent UIBs, this could indicate that interesterification led to a higher percentage of trisaturated TAGs (da Silva *et al.*, 2013), which need less degree of supercooling to nucleate, nevertheless this should be confirmed by a qualitative chromatographic analysis. In the same line ΔH_c and ΔH_m values for the IB_s (Table 1) also showed higher values than their corresponding UIBs ($p < 0.05$). Thus the resultant TAGs composition in the IB_s could be leading to crystals with higher degree of intermolecular arrangement (Shen *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2012; da Silva *et al.*, 2013) (*i.e.* releasing/absorbing more energy).

On the other hand, when comparing IB_s thermal parameters directly with the original lard (Table 1, Fig. 2), the most noticeable difference is the appearance of T_m' . Since raw lard crystallizes in a β form (Campos *et al.*, 2002), T_m' should correspond to the melting point of that crystal lattice. The tendency of the IBs to have only one major exotherm at lower temperature (*i.e.* T_m') could be due to the formation of a less stable polymorph, most likely β' since the melting temperature is much closer to T_m for the CO (Chaleepa *et al.*, 2010). Considering that the crystallization of β form results in a brittle and grainy texture and β' in a smooth texture (Campos *et al.*, 2002), the formation of the new type of aggregation is most likely towards the disappearance of crystals responsible of the graininess flaw of lard (Miklos *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010). In other studies, vegetable oils low in saturated long-chain fatty acids, have been used in blends to reduce graininess of animal fats. Granular crystals are easily developed in lard and in other fats such as palm oil products, since long-chain fatty acids such as stearic and palmitic, have been linked with graininess formation; the addition of CO rich in medium-chain fatty acids, by interesterification, could reduce granular crystallization (Meng *et al.*, 2010). Even though the IB_s presented three melting temperatures (*i.e.* T_{m-1}), it is evident the tendency to have one major endotherm decreasing the preponderance of very distinctive multiple endotherms observed in lard and even in the UIBs (Fig. 2B). This indicates modifications in crystal aggregation to a more homogenous type of crystals. The latter is concomitant with the higher ΔH_m values observed in IB_s samples ($p < 0.05$), indicative of not only the incorporation of the saturated fatty acids of CO, but also a more orderly crystal aggregation (da Silva *et al.*, 2013; Meng *et al.*, 2010). Finally the only differences on thermal parameters between IB_s70 and IB_s80 samples rely mostly on the higher ΔH_c and ΔH_m values for IB_s80 ($p < 0.05$), indicating that the lower amount of fatty acids of CO, incorporated during interesterification, resulted in TAGs with higher degree of molecular interactions (Shen *et al.*, 2001).

The analysis and observation of this data, led us to find an application for the IBs, since their behavior resembled the one of CB. Therefore, some blends in different proportions of IB_s70 and CB were chosen; IB_s was chosen over the IBc due to the milder conditions of its modification process, assuming that the integrity of this blend components was better and IB_s70 was chosen over the IB_s80 due to the higher oxidation stability shown by the II analysis.

IBs blend with CB as potential substitute for CB

For the DSC results regarding CB, the melting profile resulted in one major exotherm with a characteristic melting temperature (T_m) of $21.0 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.2$ similar to what has been reported in other studies (Fig. 3) (Kadivar *et al.*, 2016). For the IB_s mixtures with CB (CBR20, CBR50, CBR80), results showed that the amount of CB in the mixture is proportional to their T_m (14.23 ± 0.5 , 17.01 ± 0.4 , $18.01 \pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ respectively). This corresponds to the contribution of the higher melting TAGs (*i.e.* saturated-oleoyl-saturated) contained in CB (Kadivar *et al.*, 2013). Consequently the CBR80, containing 80% of CB and 20% of IB_s, resulted on the thermal behavior that most resembles CB among the CBR mixtures (Fig. 3).

In addition to DSC, SFC profile is used to describe the melting behavior of fats, which influences highly in their

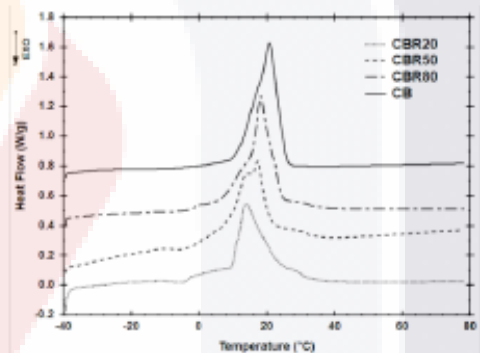


Figure 3. Melting thermograms of CBR20, CBR50, CBR80 and CB (see supporting information for crystallization thermograms).
 Figure 3. Termogramas de fusión de CBR20, CBR50, CBR80 y CB (ver en Información complementaria los termogramas de cristalización).

functionality. Depending on their SFC profile, a fat's suitability for a specific application can be established (Kadivar *et al.*, 2016). After recording the SFC of the CBR mixtures at different temperatures, an iso-solid diagram was built (Fig. 4). These iso-solid curves can provide information about the state and compatibility of a mixture at a given temperature (Kadivar *et al.*, 2016; Wang *et al.*, 2011). According to SFC results, the blend that most resembled CB behavior was once again the CBR80, at temperatures below $10 \text{ }^\circ\text{C}$, showing a SFC above 70% (Fig. 4). This indicates that CBR80 could be a promising

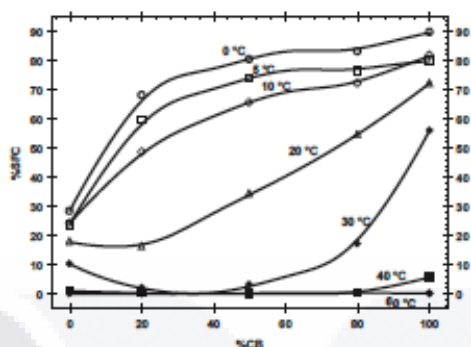


Figura 4. Iso-solid curves of CBR mixtures (see supporting information for %SFC values).

Figura 4. Curvas de iso-sólidos de mezclas de CBR (ver información complementaria para los valores de %SFC).

replacer ingredient at these temperatures for products that require low temperature processes and storage. Additionally it is important to mention that CBR80 at 20°C has the same amount of SFC as CB at 30°C (55.3% ± 1.6, p>0.2) making it suitable for wider applications.

In further physicochemical characterization, the texture of a fat is determined by their SFC and by its microstructure (Gregersen et al., 2015). Generally firmness in fats depends on intra-particle (crystal-crystal) and inter-particle (cluster-cluster) junctions of crystal clusters where their relative strength can be evaluated based on the density of packed crystals as they appear in microscopic images (Gregersen et al., 2015). Within this context and since so far, results indicated that the CBR80 mixture most resembles CB, PLMs were taken of samples with the same %SFC (CBR80 at 20°C and CB at 30 °C) (Fig. 5). Since both samples had the same amount of solids, differences in texture should be solely due to their microstructure. PLM of CBR80 (Fig. 5A) shows a

higher crystal density and a more orderly packed crystal network with larger crystal clusters than the looser network with lower degree of order developed by CB (Fig. 5B). The greater degree of order of the crystal network developed by CBR80 resulted from higher intra-particle junctions (i.e. bigger clusters) and higher inter-particle junctions (i.e. higher density) than CB (Fig. 5B). This explains the results from the texture analysis where CBR80 resulted in superior firmness than CB (27.3 ±2.7, 24.8 ±1.3 kg respectively). Therefore, this shows that CBR80 is capable of developing more firmness with less solids than CB, which can be useful in the tailoring of a CB substitute.

CONCLUSIONS

Results of the present study showed that interesterification (i.e. chemical or enzymatic) of lard in blends with CO successfully modified their physicochemical properties, indicating the development of a more functional fat. First, special attention was directed to their thermal profile, where it was clear that the resulting IBs were independent of the interesterification method used (i.e. chemical or enzymatic). IB₂ thermal properties indicated that interesterification could be leading to a higher proportion of more saturated TAGs forming crystals with higher degree of intermolecular arrangement. Additionally, IB₂ presented a more homogeneous crystallization with a lower major melting temperature (i.e. T_{m2}) probably by the formation of a less stable polymorph β' causing the disappearance of lard's granular crystals. With this in mind, in future work, quantitative chromatographic analysis is necessary to elucidate the specific modified TAGs profile. In addition, a detailed texture analysis along with X-ray determination is required to confirm the disappearance of the graininess flaw.

Finally, although a no precise CB substitute was found in this study, one mixture of IB₂ and CB (i.e. CBR80) was proved useful in the tailoring of a CB substitute by the similarities in the thermal parameters but with some differences in their texture.

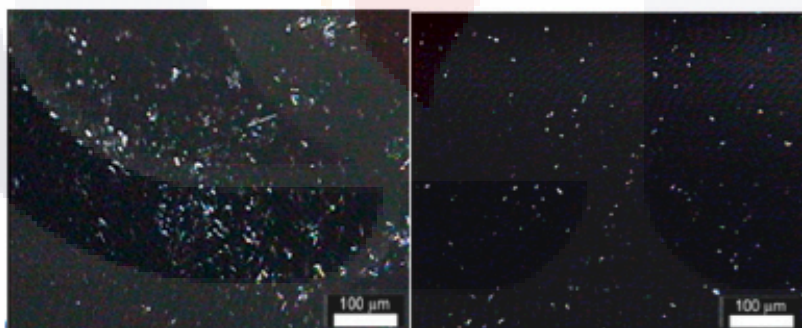


Figure 5. Microstructure of CBR80 (A) and CB (B).

Figura 5. Microestructura de CBR80 (A) y CB (B).

ACKNOWLEDGEMENTS

The author María C. Gutiérrez-Guerrero has been supported for her Ph.D. studies with a CONACYT grant (#407722). The technical support from Marisol Dávila-Martínez (Universidad Autónoma de San Luis Potosí) is greatly appreciated.

All the authors declare not to have any conflict of interests.

REFERENCES

Adewale, P., Mba, O., Dumont, M.J., Ngadi, M., Cocciardi, R. 2014. Determination of the iodine value and the free fatty acid content of waste animal fat blends using FT-NIR. *Vibrational Spectroscopy*. 72: 72-78.

Campos, R., Narine, S., Marangoni, A. 2002. Effect on cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard. *Food Research International*. 35(10): 971-981.

Cassidy, L. Coconut Oil Boom. 2016. *INFORM AOCS*. Vol 27(5).

Chaleepa, K., Szepes, A., Ulrich, J. 2010. Effect of additives on isothermal crystallization kinetics and physical characteristics of coconut oil. *Chemistry and Physics of Lipids*. 163(4-5): 390-396.

Chen, B., McClements, D.J., Decker, E.A. 2013. Design of foods with bioactive lipids for improved health. *Annual Review of Food Science and Technology*. 4.1: 35-56.

CODEX ALIMENTARIUS. Amendment 2015. Norma para aceites vegetales especificados. CODEX STAN 210-1999. Revisión 2009.

CODEX ALIMENTARIUS. Amendment 2015. Norma para grasas animales especificadas. CODEX STAN 211-1999.

da Silva, R. C., Ribeiro, A. P. B., De Martini Soares, F. A. S., Capacá, I. R., Hazzan, M., dos Santos, A. O., Gioielli, L. A. 2013. Microstructure and thermal profile of structured lipids produced by continuous enzymatic interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 90(5): 631-639.

De Clercq, N., Danthine, S., Nguyen, M. T., Gibon, V., Dewettinck, K. 2011. Enzymatic interesterification of palm oil and fractions: Monitoring the degree of interesterification using different methods. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 89(2): 219-229.

de Oliveira, G.M., Badan Ribeiro, A.P., Guenter Kieckbusch, T.G. 2015. Hard fats improve technological properties of palm oil applications in fat-based products. *LWT - Food Science and Technology*. 63(2): 1155-1162.

Gregersen, S. B., Miller, R. L., Hammershøj, M., Andersen, M. D., Wiking, L. 2015. Texture and microstructure of cocoa butter replacers: Influence of composition and cooling rate. *Food Structure*. 4: 2-15.

Jiménez-Colmenero, Francisco. 2007. Healthier Lipid Formulation Approaches In Meat-Based Functional Foods. *Technological Options For Replacement Of Meat Fats By Non-Meat Fats*. *Trends in Food Science & Technology*. 18(11): 567-578.

Kadıvar, S., De Clercq, N., Mokbul, M., Dewettinck, K. 2016. Influence of enzymatically produced sunflower oil based cocoa butter equivalents on the phase behavior of cocoa butter and quality of dark chocolate. *LWT - Food Science and Technology*. 66: 48-55.

Kadıvar, S., De Clercq, N., Van de Walle, D., Dewettinck, K. 2013. Optimisation of enzymatic synthesis of cocoa butter equivalent from high oleic sunflower oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 94(7): 1325-1331.

Kiyotaka Sato. 2001. Crystallization behaviour of fats and lipids — a review. *Chemical Engineering Science*. 56(7): 2255-2265.

Lopes, T.I.B., Ribeiro, M.D.M.M., Ming, C.C., Grimaldi, R., Gonçalves, L.A.G., Marsaioli, A.J. 2016. Comparison of the regiospecific distribution from triacylglycerols after chemical and enzymatic interesterification of high oleic sunflower oil and fully hydrogenated high oleic sunflower oil blend by carbon-13 nuclear magnetic resonance. *Food Chemistry*. 212: 641-647.

Meng, Z., Liu, Y., Shan, L., Jin, Q., Wang, X. 2010. Reduction of Graininess Formation in Beef Tallow-Based Plastic Fats by Chemical Interesterification of Beef Tallow and Canola Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 87(12): 1435-1442.

Miklos, R., Zhang, H., Lametsch, R., Xu, X. 2013. Physicochemical properties of lard-based diacylglycerols in blends with lard. *Food Chemistry*. 138: 608-614.

NMX-F-101-1987. 1987. Alimentos. Aceites y Grasas vegetales o animales. Determinación de Índice de Acidez. *NORMAS MEXICANAS*. Dirección General de Normas.

NMX-F-110-1999. 1999. Manteca de Cerdo. Denominación, especificaciones y Métodos de prueba. *NORMAS MEXICANAS*. Dirección General de Normas. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

NMX-F-152-SCFI-2011. 2011. Alimentos - Aceites y Grasas Vegetales o Animales- Determinación del Índice de Yodo por el método Ciclohexano - Método de Prueba. *NORMAS MEXICANAS*. Dirección General de Normas. Secretaría de Economía.

Nugrahini, Arita Dewi, and Tatang Hernas Soerawidjaja. 2015. Directed Interesterification Of Coconut Oil To Produce Structured Lipid. *Agriculture and Agricultural Science Procedia* 3: 248-254.

Paula, A. V., Nunes, G. F. M., Osório, N. M., Santos, J. C., de Castro, H. F., Ferreira-Dias, S. 2014. Continuous enzymatic interesterification of milkfat with soybean oil produces a highly spreadable product rich in polyunsaturated fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 117(5): 608-619.

Ribeiro A.P. B., Basso, R.C., Grimaldi, R., Gioielli, L.A., Gonçalves, L.A.G. 2009. Instrumental Methods for the Evaluation of Interesterified Fats. *Food Anal. Methods*. 2.4: 282-302.

Rios, R., Pessanha, M., Almeida, P., Viana, C., Lannes, S. 2014. Application of fats in some food products. *Food Science and Technology (Campinas)*. 34(1): 3-15.

Roy, S.S. & Bhattacharyya, D.K. 1993. Distinction Between Enzymically and Chemically Catalyzed Interesterification. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70: 1293.

Seriburi, V., Akoh, C.C. 1998. Enzymatic Interesterification of Lard and High-Oleic Sunflower Oil with *Candida antarctica* Lipase to Produce Plastic Fats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75(10): 1339-1345.

Shen, Z., Birkett, A., Augustin, M.A., Dungey, S., Versteeg, C. 2001. Melting Behavior of Blends of Milk Fat with Hydrogenated Coconut and Cottonseed Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78(4): 387-394.

Silva, R. C. da, Soares, F. A. S. D. M., Hazzan, M., Capacá, I. R., Gonçalves, M. L. A., Gioielli, L. A. 2012. Continuous enzymatic interesterification of lard and soybean oil blend: Effects

of different flow rates on physical properties and acyl migration. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 76: 23-28.

Steen, L., Rigolle, A., Glorieux, S., Paelinck, H., Fraeye, I., Goderis, B., oubert, I. 2015. Isothermal crystallization behavior of lard at different temperatures studied by DSC and real-time XRD. *Food Research International*. 69: 49-56.

Wang, F., Liu, Y., Jin, Q., Meng, Z., Wang, X. 2011. Characterization of cocoa butter substitutes, milk fat and cocoa butter mixtures. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 113(9): 1145-1151.

Wang, T., Wang, X., Wang, X. 2016. Effects of Lipid Structure Changed by Interesterification on Melting Property and Lipemia. *Lipids*. 51(10): 1115-1126.

Wirkowska-Wojdyła, M., Brys, J., Górska, A., Otrowska-Ligeza, E. 2016. Effect of enzymatic interesterification on physicochemical and thermal properties of fat used in cookies. *LWT - Food Science and Technology*. 74: 99-105.

Zhang, L., Yang, G., Chen, J., Bi, Y., Chen, S., Tan, D., Peng, D. 2015. Effect of lard quality on chemical Interesterification catalyzed by KOH/glycerol. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 92(4): 513-521.

