



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL
CENTRO DE LA REPÚBLICA
(PROPAC)

DOCTORADO EN CIENCIA DE ALIMENTOS

**MICROESTRUCTURA Y REOLOGÍA DE MEZCLAS DE GRASA BUTÍRICA Y
MANTEQUILLA DE CACAO EN ACEITES VEGETALES**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M.C. CLAUDIA ÁLVAREZ SALAS

ASESOR:

DR. JORGE FERNANDO TORO VAZQUEZ

QUERÉTARO, QRO

MARZO 2007



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
DOCTORADO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
PROGRAMA DE POSGRADO EN ALIMENTOS DEL CENTRO
DE LA REPÚBLICA (PROPAC)

MICROESTRUCTURA Y REOLOGÍA DE MEZCLAS DE GRASA BUTÍRICA Y
MANTEQUILLA DE CACAO EN ACEITES VEGETALES

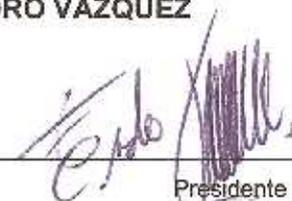
TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS

PRESENTA:
M.C. CLAUDIA ÁLVAREZ SALAS

ASESOR:
DR. JORGE FERNANDO TORO VAZQUEZ

SINODALES

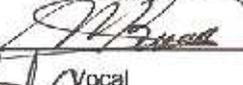
Dr. Jorge Fernando Toro Vazquez


Presidente

Dr. Eleazar M. Escamilla Silva


Secretario

Dr. Miguel A. Ruiz Cabrera


Vocal

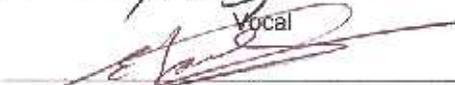
Dra. Alicia Grajales Lagunes


Vocal

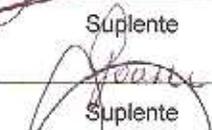
Dr. Carlos Regalado González

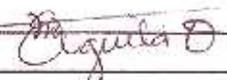

Vocal

Dr. Edmundo Mercado Silva

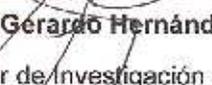

Suplente

Dra. Ma. Guadalupe F. Loarca Piña


Suplente



Q.B. Magali E. Aguilar Ortiz
Directora de la Facultad de Química


Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
Director de Investigación y Posgrado

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos del Centro de Investigaciones y Estudio de Posgrado (CIEP) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección del Dr. Jorge Fernando Toro Vazquez, profesor investigador y Director de la Facultad de Ciencias Químicas de dicha Universidad.

DEDICO ESTA TESIS

A mi padre Antonio que aunque en el cielo se encuentra, siempre su recuerdo estará en mi mente y en mi corazón y a mi madre Rosenda, a ambos por su inmenso amor y su enorme capacidad de entrega, pero sobre todo por enseñarme a luchar siempre por alcanzar mis sueños y metas.

A mis hermanos Ricardo, Laura Elena y José Antonio, por la fortaleza y el apoyo incondicional que siempre me han dado.

A mis sobrinas Laura Elizabeth, Ana Brenda y a mi sobrino Antonio, por el cariño que me brindan.

A Leopoldo, por hacerme saber que aunque a veces hago cosas que no logra comprender, jamás me juzga y permanece a mi lado, así como por los gratos momentos que hemos compartido.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Fernando Toro Vazquez, por ser mas que un asesor, un gran amigo que siempre me brindó su apoyo en los momentos adversos y más aún por su enorme paciencia y dedicación para realizar esta tesis.

A la Universidad Autónoma de Querétaro, en especial al DIPA por haberme dado la oportunidad de ingresar a su programa de Doctorado en Alimentos .

A la Facultad de Ciencia Químicas de la U.A.S.L.P., por las facilidades que me brindó para realizar este trabajo.

Al CONACYT, por el apoyo brindado a través de la beca que me otorgó y para el desarrollo del proyecto por el financiamiento dado a través del convenio número 48273-Z.

A mis sinodales, por el tiempo dedicado a la revisión de este trabajo y por sus valiosas aportaciones y comentarios.

A mis compañeros del Laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos del CIEP: Elizabeth García Leos, Concepción Maza Moheno, Elena Dibildox Alvarado, Juan Angel Morales Rueda, Jaime Reyes Hernández y David Pérez Martínez, por su amistad incondicional y por el apoyo y la motivación para seguir siempre adelante.

A la Dra. Nidia A. Morell Peña por ayudarme a comprender que cada fracaso supone un capítulo más en la historia de nuestra vida y una lección que nos ayuda a crecer.

RESUMEN.

Utilizando mezclas de 30% de mantequilla de cacao (MC) y 60% de grasa butírica anhidra (GBA) en aceite de canola o soya se evaluó el comportamiento del contenido de grasa sólida (SFC) y la microestructura de la red de cristales de triacilgliceridos (TAGs) y su efecto sobre las propiedades reológicas de módulo elástico (G') y punto de cedencia (σ^*) y la capacidad de retención de aceite (OBC). Lo anterior a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica (T_{Cr}) (9.5° a 13.0°C para 30% MC: Aceite de canola; 10.0° a 13.5°C para 30% MC: Aceite de soya; 19.0° a 24.0°C para ambas mezclas de 60% GBA). Mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) se obtuvieron los termogramas de cristalización y fusión para cada uno de los sistemas evaluados a las diferentes T_{Cr} . De los termogramas de cristalización para todas las mezclas en estudio se observó la presencia de dos exotermas de cristalización que fueron asociadas a las formas polimórficas β' y β respectivamente. De los termogramas de fusión se calcularon las temperaturas de fusión (T_M') correspondientes a los cristales β' a cada una de las T_{Cr} , para determinar con estas la temperatura de fusión en el equilibrio (T_M°) correspondiente para cada una de las mezclas. A su vez el valor de T_M° se empleó para calcular el superenfriamiento efectivo aplicado a cada T_{Cr} . La mezcla de 30%MC:Aceite de soya presentó un mayor valor de T_M° que la mezcla de 30%MC:Aceite de canola, debido a una menor afinidad estructural entre los TAGs de la MC y los TAGs del aceite de soya. Por lo tanto, la mezcla de 30%MC: Aceite de soya tuvo los mayores valores de superenfriamiento efectivo. Para ambas mezclas de 60% GBA los valores obtenidos de T_M° fueron estadísticamente iguales ($p < 0.10$). Independientemente de la mezcla evaluada el valor de SFC se vio afectado por el superenfriamiento efectivo. Los mayores valores de SFC se obtuvieron a las mayores condiciones de superenfriamiento. En el comportamiento de G' y σ^* en las mezclas de 30% MC en función de SFC se observaron dos regiones. La primera región estuvo asociada con las menores condiciones de superenfriamiento, en ella los valores de G' y σ^* decrecieron conforme incrementó SFC y la estructura de la red tridimensional de cristales de TAGs estuvo constituida por una mezcla de pequeños cristales β' y grandes cristales β . En la segunda región G' y σ^* incrementaron conforme incrementó SFC y la red se conformó únicamente por pequeños cristales β' , fue en esta región donde se tuvieron las mayores condiciones de superenfriamiento. Para las dos mezclas de 60% GBA los valores de G' y σ^* incrementaron conforme se incrementó SFC, así a las mayores condiciones de superenfriamiento la red de cristales de TAGs estuvo constituida por una mezcla de pequeños cristales β' y β , mientras que a las menores condiciones de superenfriamiento únicamente se observó la formación de pequeños cristales β' . Independientemente del tipo de mezcla, el valor de OBC incrementó conforme SFC aumentó y los menores valores de OBC se presentaron a las mayores condiciones de superenfriamiento.

Palabras clave: Mantequilla de cacao, grasa butírica anhidra, cristalización, superenfriamiento, propiedades reológicas y polimorfismo.

ABSTRACT.

The behavior of the solid fat content (SFC) and the crystal network structure of triacylglycerides (TAGs) was evaluated in blends of cocoa butter (CB) or anhydrous milk fat (AMF) with canola or soybean oil. The blends of CB in the vegetable oil were in a 30 to 70 ratio (wt/vol), while the AMF blends were in a 60 to 40 ratio (wt/vol). In the same way, the relationships of SFC and the microstructure of the crystal network with the elastic modulus (G'), yield stress (σ^*), and the oil binding capacity (OBC) of the crystallized blends was established. The crystallization temperatures (T_{cr}) investigated were within 9.5° to 13.0°C for the 30%CB:Canola oil blend, 10.0° to 13.5°C for the 30%CB:Soybean oil blend and 19.0° to 24.0°C for the AMF blends. The crystallization and melting thermograms of the blends were obtained by differential scanning calorimetry (DSC). The crystallization thermograms showed two exotherms associated to β' and β polymorphs of crystallized TAGs from CB and AMF. The melting thermograms were used to calculate the melting temperature (T_M') of β' crystals. This variable was further used to determine the equilibrium melting temperature (T_M°) for each blend. The T_M° values were used to calculate the effective supercooling as function of T_{cr} . Thus, the effective supercooling was higher in the 30%CB:Soybean oil blend than in the 30%CB:Canola oil blend. In contrast, both 60%AMF blends achieved the same effective supercooling ($P < 0.10$). Independent of the blend the effective supercooling affected the SFC profile, achieving the highest values at the highest supercooling conditions. Regarding the behavior of G' and σ^* for the CB blends two regions as a function of the SFC were clearly observed. In the first region G' and σ^* decreased and SFC increased, and the microstructure of the crystallized TAGs was constituted by a mixture of small β' crystals and large β crystals. In the second region the microstructure was formed just by small β' crystals. In this region, both the G' and σ^* values increased as SFC also increased. Regarding the AMF blends, G' and σ^* increased in a direct relationship with SFC. At the highest effective supercooling blends crystallized as a mixture of small β' and β crystals, while at the lowest effective supercooling the crystal network was formed mainly by β' crystals. The OBC increased as SFC increased, this independent of the blend evaluated. In general, the lowest OBC values were obtained under the highest supercooling conditions.

Key words: Cocoa butter, anhydrous milk fat, crystallization, supercooling, rheological properties, polymorphism.

ÍNDICE DE CONTENIDO.

RESUMEN.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Lípidos.....	3
2.1.1. Triacilglicéridos (TAGs).....	4
2.1.2. Ácidos grasos <i>trans</i> (AGT).....	6
2.2. Transiciones de fase de los TAGs.....	8
2.2.1. Cristalización de TAGs.....	11
2.2.1.1. Superenfriamiento.....	11
2.2.1.2. Nucleación.....	14
2.2.1.3. Crecimiento del cristal.....	17
2.2.2. Polimorfismo.....	18
2.2.3. Comportamiento de fase de sistemas binarios de TAGs.....	21
2.3. Cinética de cristalización.....	23
2.31. Modelo de Avrami.....	23
2.4. Mantequilla de cacao.....	26
2.5. Grasa butírica.....	29
2.7. Formación de la red tridimensional de cristales de TAGs.....	35
2.7.1. Reología.....	35
3. OBJETIVOS.....	40
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
4.1. Materiales.....	41

4.1.1. Preparación de las mezclas.....	41
4.2. Métodos.....	42
4.2.1. Determinación del perfil de TAGs.....	42
4.2.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	42
4.2.2.1. Régimen dinámico.....	42
4.2.2.2. Régimen isotérmico.....	43
4.2.3. Contenido de grasa sólida.....	45
4.2.4. Parámetros de la cinética de cristalización.....	47
4.2.5. Reología de los sistemas evaluados.....	47
4.2.5.1. Determinación de la elasticidad (G') y el punto de cedencia (s^*).....	47
4.2.6. Microscopia de luz polarizada.....	49
4.2.7. Capacidad de retención de aceite por el sistema cristalizado.....	50
4.2.8. Análisis estadístico.....	51
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	52
5.1. Composición química de la materia prima.....	52
5.2. Propiedades de cambio de fase para las mezclas de mantequilla de cacao o grasa butírica anhidra en los aceites vegetales.....	56
5.3. Cinéticas de cristalización bajo condiciones isotérmicas.....	65
5.4. Contenido de grasa sólida (SFC) y cálculo de los parámetros de la ecuación de Avrami para las mezclas.....	73
5.5. Comportamiento de G'_{eq} , s^* y OBC_{eq} en función de SFC_{eq} en las mezclas....	88
6. CONCLUSIONES.....	97
7. BIBLIOGRAFÍA.....	99

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Representación esquemática de moléculas hipotéticas y reales de TAGs simples y mixtos que se encuentran en aceites y grasas naturales (Tomada de Blaurock, 1999).....	5
Figura 2. Cambios en las propiedades termodinámicas en las transiciones de (a) primer orden y (b) segundo orden. Donde G = Energía libre de Gibbs, H = Entalpía, S = Entropía, V = Volumen y Cp = Capacidad calorífica (Tomada de Roos, 1995a).....	10
Figura 3. Representación esquemática del arreglo lamelar de los TAGs en el estado líquido en función de la temperatura y el tiempo (Tomada de Hartel, 2001).....	12
Figura 4. Arreglos estructurales de los TAGs previos al proceso de nucleación (Tomado de Toro-Vazquez, J.F., diagrama no publicado).	15
Figura 5. a) Distribución espacial de la cadena acilo en el empaquetamiento de los TAGs. b) Empaquetamiento de los ácidos grasos en las diferentes formas polimórficas. c) Representación esquemática del empaquetamiento en capas de TAGs. (Tomada de Kalnin <i>et al.</i> , 2004).....	19
Figura 6. Esquema de las transiciones polimórficas que se presentan en la grasa butírica (Tomada de Grotenhuis <i>et al.</i> , 1999).....	34
Figura 7. Etapas de la formación de la red tridimensional de los cristales de grasa (Tomada de Walstra <i>et al.</i> , 2001).....	36
Figura 8. Determinación de la temperatura de inicio de cristalización (T_o) y la temperatura final de la fusión (T_f) en el análisis térmico dinámico por DSC.....	44
Figura 9. (a) Determinación de la entalpía de cristalización (H_{Cr}) y (b) entalpía (H_M), temperatura máxima (T_m) y temperatura final (T_f) de fusión del análisis isotérmico por DSC.....	46
Figura 10. Curva típica del contenido de grasa solida (%SFC) en función del tiempo de cristalización a temperatura constante.....	48
Figura 11. Termogramas de la cristalización dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.....	57

Figura 12. Termogramas de la cristalización dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.....	58
Figura 13. Termogramas de la fusión dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones de MC.....	60
Figura 14. Termogramas de la fusión dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.....	62
Figura 15. Comportamiento del la temperatura de inicio (onset) de cristalización dinámica (T_o) y la temperatura final de la fusión (T_f) en función de la proporción de mantequilla de cacao (A) y grasa butírica anhidra (B) en mezclas con aceite de canola o aceite de soya.....	65
Figura 16. Termogramas de cristalización en función del tiempo a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica (T_{Cr}) para las mezcla de 30% de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya.....	66
Figura 17. Termogramas de cristalización en función del tiempo a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica (T_{Cr}) para las mezclas de 60% de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya.....	67
Figura 18. Termogramas de fusión obtenidos después de la cristalización isotérmica para las mezclas de 30% de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya cristalizadas a diferentes temperaturas de cristalización.....	70
Figura 19. Termogramas de fusión obtenidos después de la cristalización isotérmica para las mezclas de 60% de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya cristalizadas a diferentes temperaturas de cristalización.....	71
Figura 20. Curvas del contenido de grasa sólida (SFC) en % a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica para las mezclas de (A)30%MC: Aceite de canola y (B) 60%GBA:Aceite de canalo en función del tiempo.....	74

Figura 21. Valores del contenido de grasa solida en el equilibrio (SFC_{eq}) en % en función de la temperatura de cristalización isotérmica (T_{Cr}) para las mezclas de (A) 30% de mantequilla de cacao y (B) 60% de grasa butírica anhidra.....	76
Figura 22. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada de la mezcla 30%MC:Aecite de canola cristalizada a (A) 9.5°C por 10 minutos y (B) 13.0°C por 100 minutos; y de la mezcla 30%MC:Aceite de soya cristalizada a (C) 10.0°C por 10 minutos y (D) 13.5°C por 100 minutos.....	80
Figura 23. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada MLP para la mezcla de 30%MC: Aceite de canola cristalizada a (A) 9.5°C por 100 min (B) 10.5°C por 120 min, (C) 11.5°C por 190 min y (D) 13.0°C por 450min.....	82
Figura 24. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezcla de 30%MC: Aceite de soya a (A) 10.0°C por 80 min (B) 11.0°C por 190 min, (C) 12.0°C por 220 min y (D) 13.5°C por 490min.....	83
Figura 25. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezcla de 60%GBA:Aceite de canola cristalizada a (A) 19.0°C por 150 min (B) 20.0°C por 180 min, (C) 22.0°C por 200 min y (D) 24.0°C por 220min.....	86
Figura 26 Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezcla de 60%GBA:Aceite de soya cristalizada a (A) 19.0°C por 150 min (B) 20.0°C por 180 min, (C) 22.0°C por 200 min y (D) 24.0°C por 220min.....	87
Figura 27. Comportamiento de G'_{eq} y G''_{eq} en función del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) para las mezclas al 30% de mantequilla de cacao en los aceites de canola y soya.....	90
Figura 28. Comportamiento de G'_{eq} y G''_{eq} en función del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) para las mezclas al 60% de grasa butírica anhidra en los aceites de canola y soya.....	93
Figura 29. Comportamiento de la capacidad de retención de aceite en el equilibrio (OBC_{eq}) en función del ccontenido de grasa sólida en el equilibrio(SFC_{eq}) de las mezclas de (A) 30% de manteca de cacao y (B) 60% de grasa butírca anhidra en los aceites de canola y soya.....	95

ÍNDICE DE CUADROS.

Cuadro 1. Composición (%) de ácidos grasos y triacilglicéridos de mantequilla de cacao (Tomada de Smith, 2001).....	27
Cuadro 2. Nomenclatura de las formas polimórficas de la mantequilla de cacao (Tomada de Smith, 2001).....	29
Cuadro 3. Composición (%) de ácidos grasos de la grasa butírica (Tomada de Hartel y Kaylegian, 2001).....	31
Cuadro 4. Arreglo posicional de los ácidos grasos en la molécula del TAG (Tomada de Hartel y Kaylegian, 2001).....	33
Cuadro 5. Característica de las fracciones que constituyen la grasa butírica (Tomada de Timms, 1980).....	34
Cuadro 6. Composición porcentual de triacilglicéridos (TAGs) de grasa butírica anhidra.....	54
Cuadro 7. Composición porcentual de triacilglicéridos (TAGs) de manteca de cacao, aceite de canola y aceite de soya.....	55
Cuadro 8. Contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}), superenfriamiento efectivo, Índice de Avrami (n) y constante de velocidad de cristalización (z) para las mezclas de 30%MC: Aceite de canola y 30%MC: Aceite de soya en función de la temperatura de cristalización (T_{cr}).....	78
Cuadro 9. Contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}), superenfriamiento efectivo, Índice de Avrami (n) y constante de velocidad de cristalización (z) para las mezclas de 30%MC: Aceite de canola y 30%MC: Aceite de soya en función de la temperatura de cristalización (T_{cr}).....	79

1. INTRODUCCIÓN.

Los lípidos son importantes componentes de los alimentos y tienen una amplia aplicación dentro del área de los mismos. Los lípidos tienen la característica de conferir propiedades nutricionales, organolépticas y estructurales a los productos en los que se encuentran presentes. El efecto de los lípidos sobre la calidad y estabilidad de un alimento está principalmente relacionado al contenido, distribución en la matriz del producto, composición química, a sus cambios físicos durante el procesamiento y a las interacciones con otros componentes (Kolakowska y Sikorski, 2003).

Los lípidos empleados en la industria de la confitería y la panificación están compuestos por grasas plásticas. Las características físicas, tales como la untabilidad, la suavidad y la consistencia de las grasas plásticas dependen de los siguientes factores: (1) la cantidad de cristales de triacilglicéridos (TAGs) presentes a una temperatura determinada (contenido de sólidos), (2) el punto de fusión de los cristales de TAGs formados y (3) la forma polimórfica de los cristales de TAGs. Una grasa puede ser visualizada como una masa de cristales de TAGs unidos entre sí (fase sólida) en la cual se encuentra dispersa la fase líquida. La plasticidad de una grasa depende de la proporción apropiada entre la fase sólida y la líquida (o'Brien, 1998). Es esencial tener un balance entre la fase sólida y líquida, ya que la fase sólida se deforma bajo la aplicación de una fuerza mientras que la líquida fluirá. La relación entre ambos comportamientos determinará las propiedades viscoelásticas de la grasa y por lo tanto su textura.

En la práctica el porcentaje de sólidos en las grasas plásticas varía entre el 10 y 30%. Sin embargo, en la elaboración de grasas plásticas se emplea la mezcla directa de aceites parcialmente hidrogenados que contienen una gran cantidad de isómeros *trans* de ácidos oleico y linoleico, con el subsecuente impacto sobre la salud de los consumidores. En general la tendencia mundial demuestra una preocupación y toma de conciencia por parte de los consumidores, los productores y los profesionales de la salud a disminuir el consumo de ácidos grasos *trans*. Los ácidos grasos *trans* favorecen el aumento de los principales factores de riesgos vinculados con enfermedades cardiovasculares. Por esta razón se justifica la preocupación en buscar

formas alternas en la preparación de grasas plásticas sin la utilización de aceites con ácidos grasos *trans* (León-Camacho, 2003). Una de estas alternativas es la utilización de mezcla de la grasas de alta temperatura de fusión (mantequilla de cacao) o sus fracciones (grasa butírica) con aceites nativos de alto grado de insaturación. Sin embargo, existe información limitada sobre el proceso de cristalización en este tipo de sistemas, ya que la mayoría de las investigaciones realizadas en esta área involucra el uso de aceites parcialmente hidrogenados con ácidos grasos *trans*.

El desarrollo de una fase sólida en un líquido, requiere de la presencia de una fuerza termodinámica que impulse a la organización de las moléculas (TAGs) en estructuras sólidas, venciendo las fuerzas que se oponen al establecimiento de una interfase sólida en una matriz líquida (aceite vegetal). Esta fuerza termodinámica conocida como superenfriamiento se establece a través de una disminución en la temperatura a la cual la menor estructura de agregados moleculares (núcleos inestables) están en equilibrios con las moléculas en la fase líquida (Toro-Vazquez *et al.* 2001). Por otro lado, en el estudio de la cinética de cristalización en aceites vegetales se han aplicado varios modelos, entre los que se encuentra el modelo de Avrami (Avrami, 1940). Este modelo ha sido ampliamente utilizado para la determinación de los parámetros cinéticos de cristalización de los TAGs, donde el exponente de la ecuación de Avrami (n), es un parámetro asociado con el mecanismo de crecimiento del cristal y z , una constante de velocidad global de cristalización, que involucra tanto la nucleación como el crecimiento del cristal (Toro *et al.*, 2002a).

Por otro lado, al encontrarse un aceite o mezcla de aceites en condiciones de superenfriamiento, los TAGs eventualmente desarrollarán una red tridimensional de cristales de TAGs esto es, una matriz de sólido formada por cristales de TAGs en la cual se encuentra dispersa la fase de aceite como un continuo (Narine y Marangoni, 1999, Walstra *et al.*, 2001). Las propiedades mecánicas del sistema cristalizado dependen de esta red, particularmente las reológicas, que son las responsables de proporcionar la firmeza, la consistencia o propiedades de tipo sólido (viscoelasticidad) al sistema y subsecuentemente su textura (Marangoni y Rousseau, 1999; Narine y Marangoni, 1999). Este es el caso particular de sistemas alimenticios como la mantequilla, margarina, chocolate, coberturas, cremas vegetales untadas y helados.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1. Lípidos

Los lípidos son biomoléculas orgánicas formadas principalmente por carbono e hidrógeno y generalmente también por oxígeno en un porcentaje muy bajo. Además pueden contener fósforo, nitrógeno y azufre. Los lípidos son un grupo heterogéneo de compuestos orgánicos que se clasifican juntos tomando como base sus propiedades comunes de solubilidad, siendo insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos apróticos no polares (BeMiller, 1991).

La forma más común de clasificar a los lípidos es en simples, complejos o derivados. Los lípidos simples son ésteres de ácidos grasos y dentro de este grupo se encuentran a las grasas, los aceites y las ceras. Los lípidos simples son relativamente neutros en función a su carga. En contraste, los lípidos complejos poseen un mayor grado de carga y son el resultado de la conjugación de lípidos simples con moléculas no lipídicas como son los fosfolípidos, glucolípidos y las lipoproteínas. Finalmente los lípidos derivados agrupan a sustancias que son, al igual que la mayoría de los lípidos, insolubles en agua pero sin embargo no son lípidos simples ni complejos. Dentro de este grupo se encuentran por ejemplo los esteroides, los carotenoides y las vitaminas liposolubles (Nawar, 1996).

En base a la clasificación de los lípidos los simples son los más abundantes en la naturaleza y son las grasas y los aceites los principales representantes de este grupo (Dibildox-Alvarado y Toro-Vazquez, 1997). Las grasas y los aceites tienen como principales constituyentes a los triacilglicéridos (TAGs) los cuales representan entre el 94-98% de su composición (Kalokawska y Sikorki, 2003). La distinción entre un aceite y una grasa es en base a su estado físico a temperatura ambiente, los aceites son líquidos mientras que las grasas son sólidas. También se puede hacer una diferenciación en función a su origen, normalmente los aceites provienen de una fuente vegetal o de animales marinos, mientras que las grasas se encuentran en tejidos animales (Weiss, 1983).

2.1.1. Triacilglicéridos.

Los TAGs son el resultado de la esterificación de una molécula de glicerol con tres moléculas de ácidos grasos como se muestra en la Figura 1 (Larson, 1994). Si los tres ácidos grasos son iguales se denominan TAGs simples y si al menos uno de los ácidos grasos es diferente se trata de TAGs mixtos (Nawar, 1996). Los ácidos grasos que esterifican a la molécula de glicerol se unen a los átomos de carbono numerados como sn-1, sn-2 y sn-3 iniciando de arriba hacia abajo (Figura 1).

Los ácidos grasos son moléculas formadas por una larga cadena hidrocarbonada de tipo lineal con un número par de átomos de carbono y su grupo funcional, un grupo carboxilo (-COOH), se encuentra en un extremo de la cadena. Los ácidos grasos se clasifican en saturados e insaturados. Los ácidos grasos saturados sólo tienen enlaces simples entre los átomos de carbono mientras que los ácidos grasos insaturados tienen uno o varios enlaces dobles en su cadena y sus moléculas presentan dobleces, con cambios en el ángulo de enlace en los lugares donde se encuentra un doble enlace (German y Simoneau, 1998). Los ácidos grasos insaturados son clasificados en función del número de enlaces dobles presentes en la molécula como mono, di y poliinsaturados. A su vez dependiendo de la posición de los dobles enlaces los ácidos grasos pueden ser conjugados si los enlaces dobles son adyacentes, o no conjugados si los enlaces dobles están separados por un grupo metileno. Los enlaces dobles también presentan isomerías cis y trans. El isómero cis tiene los átomos de carbono de hidrógeno del mismo lado del carbono y el trans los tiene en lados opuestos (Weiss, 1983).

El conocimiento de la distribución de los ácidos grasos en la estructura de los TAGs es importante, ya que este influye en las propiedades físicas y químicas que presentan las grasas y los aceites. Así, las grasas se encuentran en estado sólido a temperatura ambiente ya que los TAGs que las constituyen presentan un alto contenido de ácidos grasos saturados. En contra parte los aceites son líquidos porque estos tienen TAGs con una mayor cantidad de ácidos grasos mono o poliinsaturados. Por lo

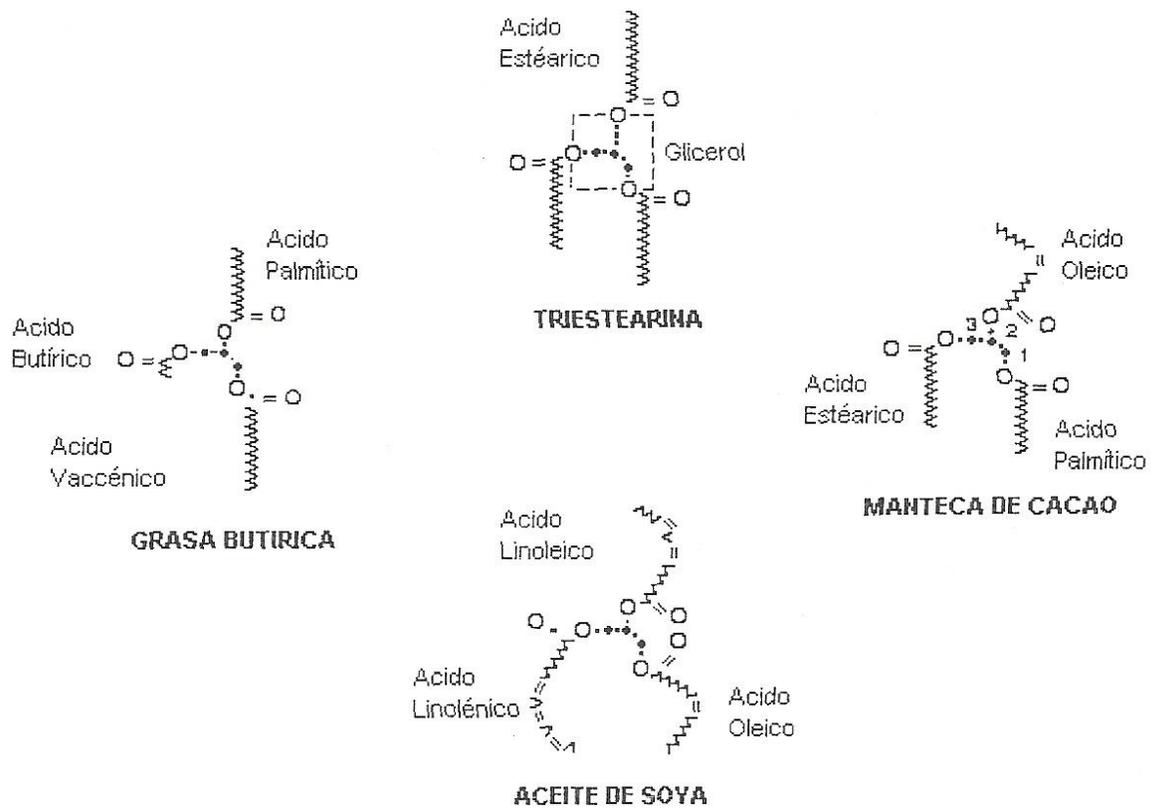


Figura 1. Representación esquemática de moléculas hipotéticas y reales de TAGs simples y mixtos que se encuentran en aceites y grasas naturales (Tomada de Blaurock, 1999).

tanto las propiedades físicas de las grasas y los aceites se ven afectadas por la longitud de cadena, el número y posición de los enlaces dobles, la configuración cis/trans de los ácidos grasos presentes en los TAGs así como también de su distribución dentro de la molécula (Dibildox-Alvarado y Toro-Vazquez, 1997).

2.1.2. Ácidos grasos *trans* (AGT).

En la alimentación se incorporan tres tipos de ácidos grasos: saturados, monoinsaturados y polinosaturados. A éstos debemos agregar un cuarto grupo que ha centrado la atención de investigadores y que han demostrado poseer efecto sobre problemas relacionados con enfermedades cardiovasculares y el metabolismo celular, que son los isómeros *trans* de los ácidos grasos (AGT). En términos generales los ácidos grasos saturados dietarios producen un aumento de las lipoproteínas séricas de baja densidad (LDL) y un decremento de las lipoproteínas de alta densidad (LHL), lo que conlleva a un incremento del nivel de colesterol en la sangre, en tanto que aquellos con uno o más dobles enlaces (configuración cis), ejercen el efecto opuesto. Respecto de los isómeros *trans* de los ácidos grasos, a pesar de ser insaturados, tienen efecto similar a la de los ácidos grasos saturados (Katan, *et al.*, 1995; Stender y Dyerberg, 2004; Hunter, 2005).

En la industria de la panificación y la confitería se requiere de grasas que confieran características especiales a los productos como la palatabilidad, la untabilidad y la textura. Es por eso que la industria utiliza tecnología especializada para alterar la composición de los ácidos grasos en aceites vegetales con el fin de modificar sus propiedades de cambio de fase así como su estabilidad ante la oxidación y así poder obtener grasas plásticas. Sin embargo, al modificar los ácidos grasos contenidos en los TAGs naturales durante los procesos de extracción y purificación de los mismos, como un efecto secundario al proceso, se producen transformaciones indeseables que alteran las propiedades biológicas y químicas de dichos TAGs. Una de las más importantes alteraciones es la transformación de los ácidos grasos *cis* a *trans*,

fenómeno que también ocurre durante el proceso térmico de la elaboración de los alimentos (Grandgirard *et al.*, 1984; Moore, 2003).

La sensibilidad de los aceites vegetales ante el tratamiento térmico varía notablemente con la composición en ácidos grasos de los mismos. Por ejemplo en el aceite de girasol (86% insaturados) el calentamiento a 240° C (temperatura de freído) durante 2 horas, produce 5% de isómeros *trans*, mientras que en el aceite de palma (50 % insaturados), el mismo tratamiento produce 0.3 % de estos isómeros (Grandgirard *et al.*, 1984). El proceso químico de hidrogenación es la principal forma de modificar las propiedades de cambio de fase de aceites vegetales y puede ser total o parcial, teniendo como objetivo la obtención de grasas sólidas, las cuales son la base de la fabricación de margarinas y shortenings (grasas emulsionables). Durante la hidrogenación parcial se producen aproximadamente 40% de isómeros *trans* (Grandgirard *et al.*, 1984; Eller *et al.*, 2005).

Como ya se mencionó desde el punto de vista nutricional y de salud los ácidos grasos saturados y los *trans* favorecen el aumento de los principales factores de riesgos vinculados con enfermedades cardiovasculares. Por tanto se tiene la necesidad de disminuir el consumo de productos que contengan grasas vegetales parcialmente hidrogenadas como una de las medidas para disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares, uno de los mayores problemas de salud en los próximos años (Parcerisa *et al.*, 1999; Stender y Dyerberg, 2004; Hunter, 2005). Adicionalmente, las tendencias actuales de los consumidores son las de adquirir productos naturales con un mínimo procesamiento químico (Moore, 2003; Hunter, 2005). Es por eso que debido al impacto que tienen los AGT sobre la salud, instituciones de los Estados Unidos de Norteamérica, como la Food and Drug Administration (FDA) han establecido regulaciones para que todos los productos alimenticios indiquen en las etiquetas el contenido de AGT presentes en sus productos (Eller *et al.*, 2005).

Los productores de aceites vegetales a nivel mundial buscan el desarrollo de nuevas alternativas que les permitan obtener aceites vegetales y derivados de estos libres

de AGT y que ofrezcan la funcionalidad requerida para los productos alimenticios en los que se vayan a utilizar. La interestificación química o enzimática es una de las alternativas usadas para la modificación de las propiedades funcionales de los aceites vegetales, desafortunadamente su uso se ve limitado debido al alto costo que este proceso implica (Moore, 2003). Dentro de este contexto, la cristalización de TAGs de mezclas de una fracción de TAGs de alta temperatura de fusión (ej. grasa butírica y manteca de cacao) con un aceite vegetal poliinsaturado, representa una alternativa viable (Toro-Vazquez *et al.*, 2000).

2.2. Transiciones de fase de los TAGs.

Las propiedades funcionales tales como la palatabilidad, untabilidad y textura asociadas al uso de aceites y grasas, en productos como chocolate, mantequilla y margarinas, depende de la capacidad de los TAGs para desarrollar una fase sólida, de su perfil de cristalización-fusión, su estado polimórfico y de la organización fractal que presente la red tridimensional de cristales. Aunado a esto, las condiciones de procesamiento como el tiempo y la temperatura juegan un papel significativo en la cristalización de los TAGs, ya que de ellos depende la cinética de las transformaciones polimórficas y el perfil de cristalización-fusión (Toro-Vazquez *et al.*, 2002a).

Considerando que los aceites y las grasas son mezclas de diferentes familias de TAGs, estos no tienen propiedades físicas específicas. Especialmente no presentan una transición de fase definida como la fusión o cristalización, sino que muestran perfiles de temperatura para la fusión y la cristalización (Dibildox-Alvarado y Toro-Vazquez, 1997).

Una transición de fase se define como el cambio del estado físico de un material a otro diferente por efecto de la temperatura, la presión, la polaridad del solvente o una combinación de estos efectos (Roos, 1995b; Atkins, 1986).

El cambio en la energía libre de Gibbs (G) o el potencial químico (μ) en función de una variable de estado como la temperatura, se utiliza para fundamentar la

clasificación de las transiciones de fase. Sobre la base de la discontinuidad observada en el orden de la derivada de μ o G que ocurre en las funciones de estado a la temperatura de transición en particular, las transiciones de fase se dividen en transiciones de primer orden, segundo orden y de orden superior (Ehrenfest, 1933).

En el equilibrio, la μ de dos fases es igual ($\Delta\mu = 0$). Sin embargo, un cambio en μ o en G el cual ocurre a la temperatura de transición, produce una alteración en el equilibrio del sistema en el sentido del estado físico que posea el menor valor de μ o de G , resultando en una minimización de la energía libre de Gibbs ($\Delta G < 0$). Sobre esta base y de acuerdo a la clasificación de las transiciones de fase propuesta por Ehrenfest (1933), las transiciones de primer orden se caracterizan por presentar una discontinuidad en el comportamiento de μ o de G al aplicar la primera derivada en función de la temperatura y cambios en las variables termodinámicas como son la entalpía (H), la entropía (S) y el volumen (V), además la capacidad calorífica (C_p) de cada fase es diferente, pero no se vuelven infinitas a la temperatura de transición de fase. Las transiciones de segundo orden son aquellas en las cuales la segunda derivada de μ o G presentan una discontinuidad a la temperatura de transición y las variables termodinámicas de H , S y V de las dos fases son iguales en la temperatura de la transición, es decir H , S y V tienen un valor de cero, por lo tanto una transición de segundo orden no tiene calor latente asociado al cambio de fase, pero hay una discontinuidad en el valor de la capacidad calorífica (C_p) (Figura 2) (Roos, 1995b).

Por otro lado en términos macroscópicos podemos decir que una transición de primer orden se diferencia de una de segundo orden porque en la primera se presenta un cambio del estado físico de agregación del material, por ejemplo, un cambio de sólido a líquido. En contraste, en la transición de segundo orden se presentan cambios de fase representados principalmente por un cambio del estado amorfo tipo vítreo a un estado amorfo tipo plástico, sin llegar a producirse un cambio del estado (ej., fusión o cristalización) del material. Una transición de segundo orden

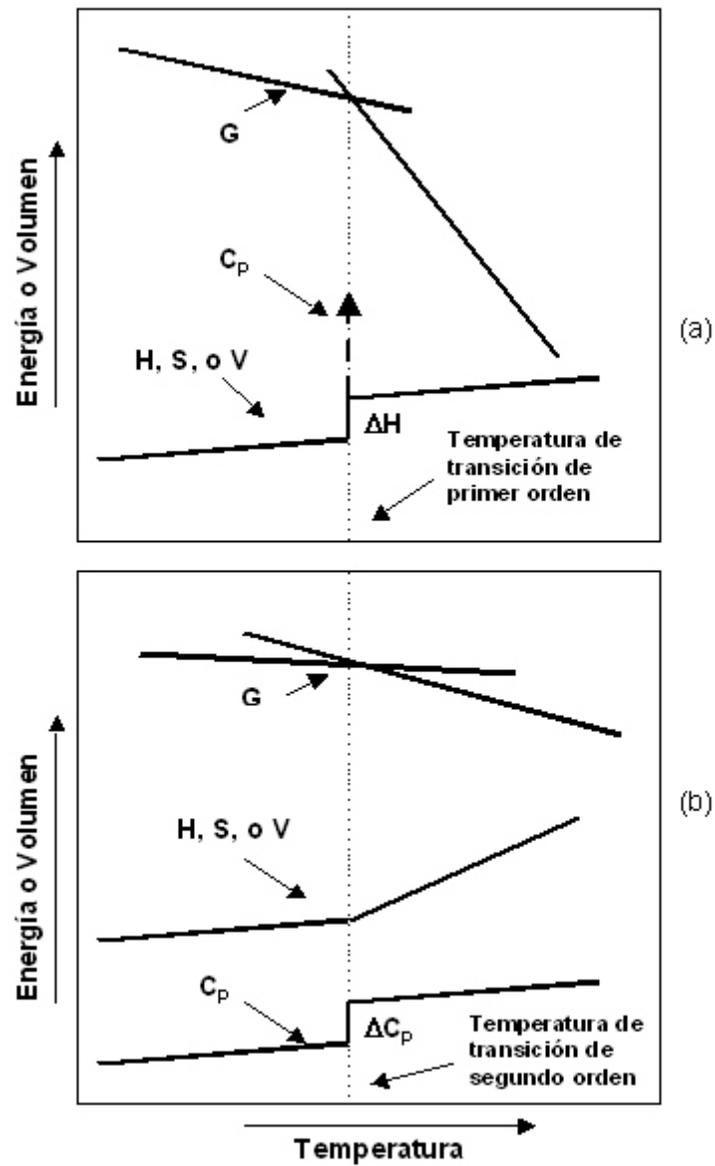


Figura 2. Cambios en las propiedades termodinámicas en las transiciones de (a) primer orden y (b) segundo orden. Donde G = Energía libre de Gibbs, H = Entalpía, S = Entropía, V = Volumen y C_p = Capacidad calorífica (Tomada de Roos, 1995a).

incluye también los cambios polimórficos de las formas cristalinas característicos de los TAGs.

2.2.1. Cristalización de TAGs

La cristalización de TAGs es el resultado de un ordenamiento mediante el cual las moléculas de TAGs se asocian a través de enlaces físicos desarrollándose una fase sólida en la matriz líquida (Boistelle, 1988).

En general, en el proceso de cristalización se involucran tres eventos diferentes:

- Nucleación
- Crecimiento del cristal
- Maduración o perfeccionamiento del cristal.

Estos eventos se dan simultáneamente a diferentes velocidades, lo que dificulta determinar las cinéticas para cada una de las etapas (Herrera y Hartel, 2000; Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

En la cristalización de grasas y aceites se ha propuesto que las moléculas de TAGs en el estado líquido se asocian en una forma lamelar (Figura 3), formando una especie de agregados conocidos como lamelas (Hartel, 2001). Los TAGs en estado líquido se encuentran en movimiento caótico. Por arriba de la temperatura de fusión las moléculas se agregan y se disocian de manera dinámica en lamelas, las cuales crecen cada vez más grandes conforme se presenta el descenso de la temperatura o con el tiempo a temperaturas por abajo del punto de fusión, hasta la formación de un núcleo estable. Un núcleo es el agregado molecular mas pequeño que puede existir en un medio líquido a una temperatura y concentración específica (Larson, 1994).

2.2.1.1. Superenfriamiento.

En el desarrollo de una fase sólida a partir de una fase líquida, debe existir una fuerza termodinámica que impulse a la organización de las moléculas (TAGs) en

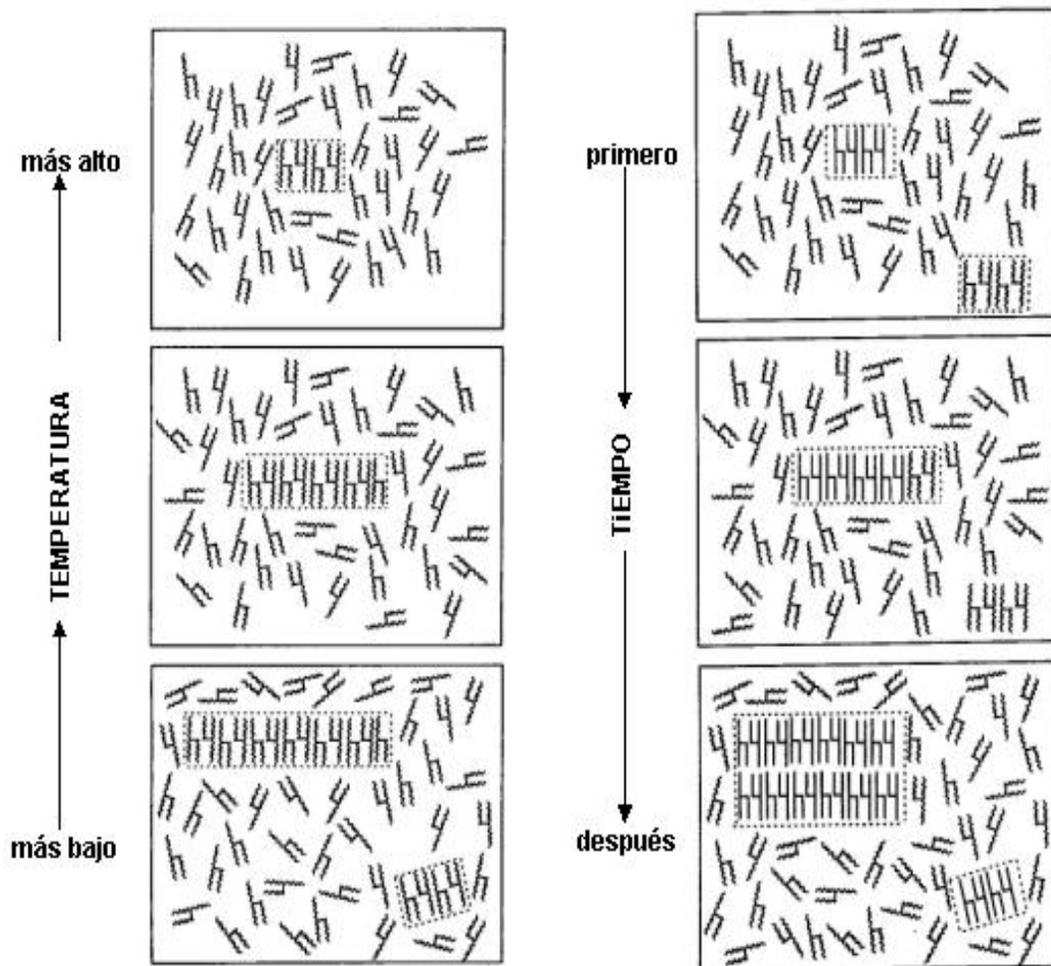


Figura 3. Representación esquemática del arreglo lamelar de los TAGs en el estado líquido en función de la temperatura y el tiempo (Tomada de Hartel, 2001).

estructuras sólidas, venciendo la barrera de energía libre que se opone a la formación de una nueva fase (Boistelle, 1988; Hartel, 2001; Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

La fuerza impulsora está dada por el superenfriamiento o por la supersaturación. El término de superenfriamiento se emplea cuando la cristalización se origina a partir de un fundido de un solo componente (TAG puro), o en la mayoría de los casos, de dos o más componentes (aceite vegetal), con el objetivo de obtener ya sea la solidificación de un sistema puro, o más frecuentemente, la purificación de un sistema multicomponente (cristales mezclados). La supersaturación se emplea cuando la cristalización de una sustancia en particular (una familia de TAGS) se da a partir de una solución (aceite vegetal en hexano) y el objetivo es la separación de un compuesto puro (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

Para la cristalización de TAGs la fuerza termodinámica impulsora comúnmente utilizada es el superenfriamiento. El superenfriamiento relativo (ΔT) es definido como $\Delta T = T - T_M'$ donde T_M' es la temperatura de fusión del compuesto que cristaliza. En el caso de aceites y grasas es la temperatura de fusión del componente de mas alta temperatura de fusión y T es la temperatura de cristalización isotérmica del sistema (Toro-Vazquez *et al.*, 2001). Sin embargo, en sistemas complejos como los TAGs se ha observado que el valor de ΔT calculado de manera experimental depende de las condiciones experimentales en las cuales se lleve a cabo la cristalización. Así, el superenfriamiento calculado con cualquier T_M' es un parámetro relativo que nos impide realizar el análisis comparativo de la cinética de cristalización de sistemas de diferente composición y evaluar el efecto de la temperatura de cristalización. El efecto de estos fenómenos pueden ser eliminados si se realiza el cálculo de la temperatura de fusión de equilibrio (T_M°), que a su vez sirve para el cálculo del superenfriamiento efectivo ($T_M^\circ - T_{cr}$).

El superenfriamiento efectivo ($T - T_M^\circ$) es la diferencia entre la temperatura de fusión en el equilibrio, T_M° , y la temperatura isotérmica de cristalización, T . El valor de T_M° es la temperatura donde la más pequeña agregación de moléculas (núcleos de

TAGs inestables) están en equilibrio con las moléculas en la fase líquida (TAGs en la "organización líquida" lamelar en el aceite vegetal) (Figura 4). T_M° se utiliza particularmente en la cristalización de polímeros en donde se ha establecido una metodología práctica para su determinación; esta metodología ha sido aplicada a sistemas de aceites por Toro-Vazquez *et al.*, (2000). El superenfriamiento efectivo a su vez es requerido en la determinación de los parámetros que establecen la cinética de cristalización (energía crítica de cristalización).

De acuerdo con lo anterior, durante el proceso de cristalización, las agregaciones pequeñas de moléculas que no cuenten con el arreglo tridimensional requerido para desarrollar un núcleo estable de cristal, fundirán por abajo de T_M° . A temperaturas muy por debajo de T_M° el sistema tenderá a alcanzar el equilibrio termodinámico a través de la nucleación y crecimiento del núcleo (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

2.2.1.2. Nucleación.

La nucleación es la formación de agregados moleculares resultado de la adición de monómeros (TAGs) los cuales deben alcanzar un tamaño crítico para llegar a ser termodinámicamente estables (Boistelle, 1988; Herrera *et al.*, 1998).

La nucleación puede darse de forma instantánea, si los núcleos aparecen todos casi al mismo tiempo o de forma esporádica que es cuando el número de núcleos va incrementando en forma lineal en función del tiempo (Wright *et al.*, 2000).

La nucleación se divide en primaria y secundaria. La nucleación primaria a su vez se subdivide en homogénea y heterogénea. La nucleación homogénea se da a partir de una solución o fundido de TAGs puros y la fase sólida se desarrolla en ausencia de partículas extrañas. Este tipo de nucleación raramente ocurre en situaciones prácticas (Toro-Vazquez *et al.*, 2001). La nucleación heterogénea es aquella en donde los núcleos son formados sobre sustratos que pueden ser impurezas o sustancias extrañas o sustancias propias de la naturaleza de la fase madre pero agregadas de otras fuentes que actúan como centros de nucleación

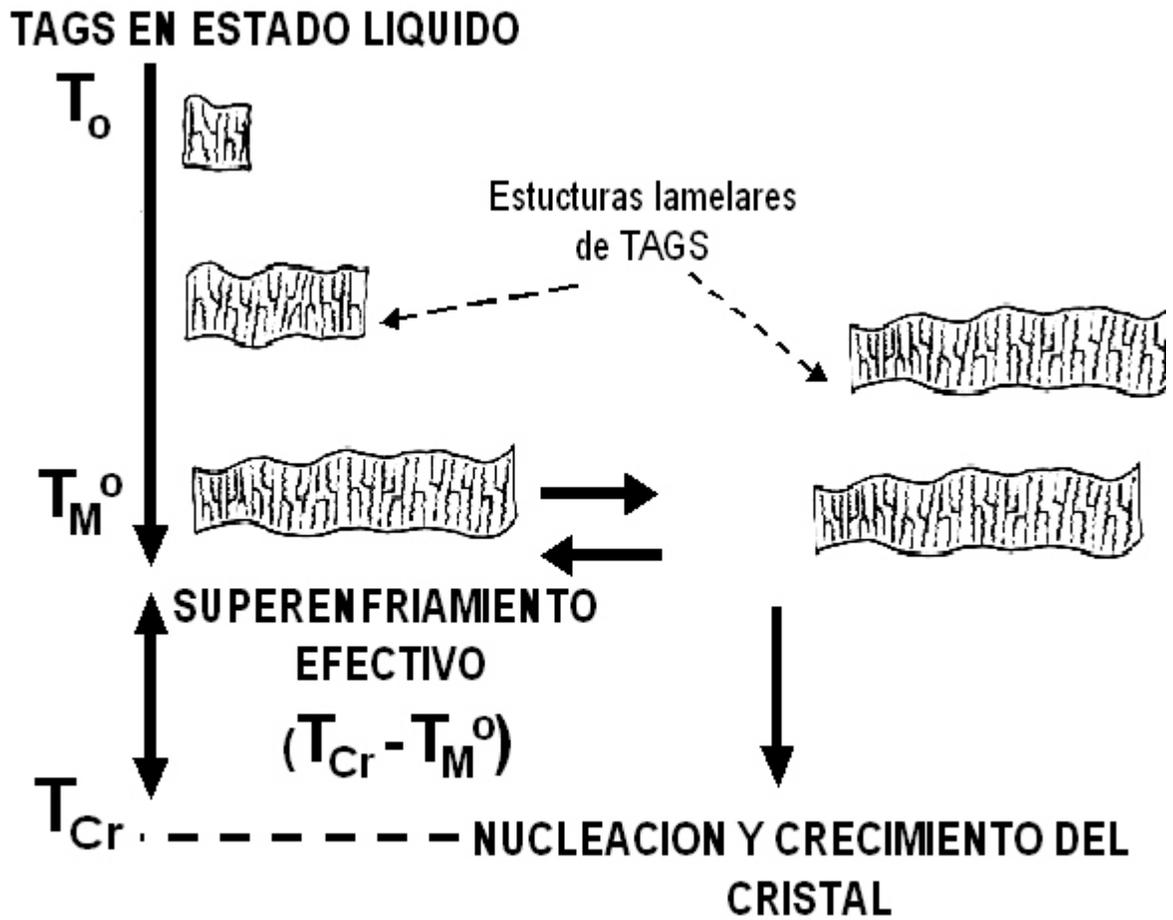


Figura 4. Arreglos estructurales de los TAGs previos al proceso de nucleación (Tomado de Toro-Vazquez, J.F., diagrama no publicado).

(Hartel 2001). En este tipo de nucleación interviene un parámetro adicional que es el ángulo de contacto entre las moléculas que cristalizan y la superficie del sustrato sobre el que cristalizan (Boistelle 1988). La presencia de sustratos promueve que la nucleación se origine a niveles mucho más bajos de superenfriamiento (es decir temperaturas de cristalización más elevadas) que los que se requieren para la nucleación homogénea (Hartel 2001).

En la nucleación secundaria, además de los parámetros involucrados en la nucleación primaria (temperatura y sustratos de cristalización), se tiene la aplicación de una fuerza externa como la agitación que incrementa la velocidad de cristalización pues facilita el contacto entre las moléculas de la fase líquida y los núcleos. Igualmente, los cristales formados sufren un rompimiento generando nuevos cristales que sirven a manera de nuevos puntos de nucleación. Lo anterior da lugar a la formación de núcleos bajo condiciones donde normalmente no se formarían (Boistelle, 1988; Toro-Vazquez *et al.*, 2001). El resultado final es una mayor velocidad de nucleación y crecimiento de cristal que bajo las condiciones de cristalización primaria.

La nucleación homogénea es uno de los procesos más raros de obtener en sistemas reales y se da únicamente en sistemas como ácidos grasos y TAGs muy puros. A nivel industrial debido a la presencia de sustancias extrañas se promueven la nucleación heterogénea, además existen fenómenos de rompimiento de cristales que inducen a la nucleación secundaria (Hartel, 2001).

Es importante cuantificar y evaluar la velocidad de nucleación bajo diferentes condiciones para poder tener un control sobre la cristalización de los alimentos. Conforme la fuerza impulsora (superenfriamiento) incrementa, la velocidad de nucleación incrementa también hasta llegar a un valor máximo en donde, si se sobrepasa este valor de fuerza impulsora la velocidad de nucleación tiende a un valor de cero a causa de que existe una restricción de la difusión molecular debida a un incremento significativo de la viscosidad del sistema (Hartel, 1992). Sin embargo la velocidad de nucleación no solo es controlada por la viscosidad de la

fase líquida. El balance entre el efecto del superenfriamiento y la velocidad de enfriamiento sobre la organización molecular de núcleos y el de la disminución de la difusión molecular asociado al incremento de la viscosidad determina en gran medida, el tiempo de inducción a la nucleación y la velocidad de nucleación (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

2.2.1.3. Crecimiento del cristal.

Una vez que los núcleos se han formado y su tamaño excede el tamaño crítico, inicia el proceso de crecimiento del cristal (Boistelle, 1998). El crecimiento del cristal se desarrolla mientras las moléculas tengan suficiente movilidad para llegar hasta la interfase del cristal y orientarse en la red molecular del cristal. Cuando el superenfriamiento aplicado es bajo, la velocidad de crecimiento del cristal es lenta, esto permite la incorporación de la molécula en sitios termodinámicamente más favorables. En el caso de un superenfriamiento elevado el crecimiento de cristal es rápido y las moléculas se integran de manera más desordenada a la red cristalina, produciendo un cristal menos organizado y termodinámicamente menos estable (Hartel, 2001). Es importante notar que durante el crecimiento del cristal, cuando las moléculas se integran a la estructura cristalina se libera el calor latente asociado al cambio de fase. Este calor es removido del sistema por conducción y convección a través de la fase líquida. En el caso de una cristalización desarrollada sobre una superficie, la transferencia de calor es principalmente a través del mismo cristal en crecimiento. En general, el crecimiento de los cristales de TAGs se ve afectado por el superenfriamiento del sistema, la movilidad de las moléculas y la liberación del calor latente en la cristalización.

Como ya se mencionó anteriormente, un superenfriamiento elevado resulta en velocidades de crecimiento mayores, este llega a un valor máximo que al ser sobrepasado produce un drástico incremento en la viscosidad del sistema lo que da como resultado una limitada movilidad molecular, provocando así un decremento en la velocidad de crecimiento del cristal (Hartel, 2001).

Más allá de los eventos de nucleación y crecimiento, en sistemas lipídicos a base de TAGs, estos procesos van encaminados a la formación de pequeños cristales a partir de un fundido, los cuales se asocian en partículas de mayor tamaño que a su vez se agregan en estructuras de mayor dimensión hasta formar una red tridimensional (Hartel, 2001). Esta red tridimensional es, en gran medida, responsable de las propiedades reológicas y texturales del sistema cristalizado. Las propiedades macroscópicas de la red de cristales de grasa son afectadas por la composición química de la grasa, la proporción sólido-liquido y el polimorfismo de los cristales (Awad *et al.*, 2004).

2.2.2. Polimorfismo.

Los TAGs se caracterizan por su complejo comportamiento estructural debido al polimorfismo que presentan (Kalnin *et al.*, 2004). El polimorfismo se define como la capacidad de un compuesto químico para formar diferentes estructuras cristalinas o mesofases (Sato y Garti, 1998). El polimorfismo implica la existencia de diferentes estructuras sólidas cristalinas para el mismo TAGs y esta asociado con diferentes arreglos de empaquetamiento molecular tridimensional de los TAGs. Para cristales de TAGs puros los estados polimórficos son, en orden ascendente de estabilidad térmica β' y β (Figura 5) (Larson, 1994). Algunos factores que determinan la forma polimórfica que se originará en un sistema son la pureza de los componentes, la temperatura, la velocidad de enfriamiento y la presencia de núcleos de cristal.

Los sistemas cristalizados tienden a perfeccionarse hacia la estructura termodinámicamente más estable a través de las transformaciones polimórficas. Esta transformación es de tipo monotrópica, ya que inicialmente se forma la estructura polimórfica menos estable (β') hasta alcanzar la mas estable (β) pasando a través del forma intermedia (β'') (Sato y Euno, 2001)

Los diferentes arreglos moleculares pueden ser observados a través del estudio con difracción de rayos X, mediante la cual se determinan los empaquetamientos de las cadenas de los ácidos grasos, que mide la distancia que existe entre las

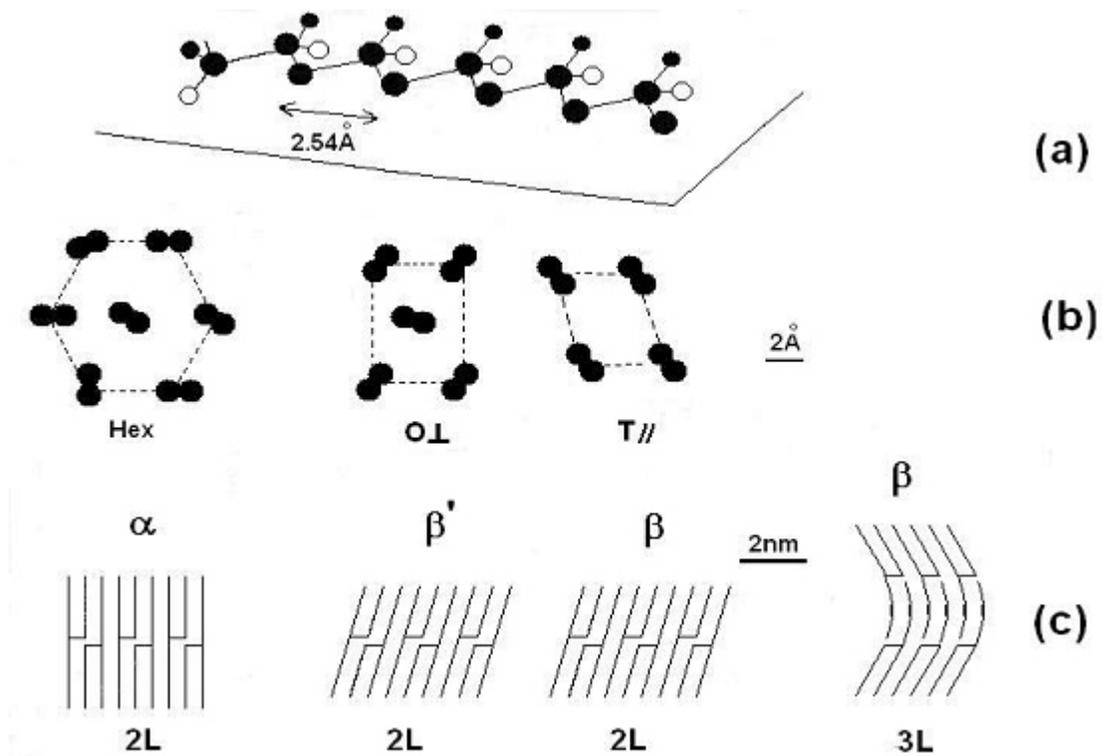


Figura 5. a) Distribución espacial de la cadena acilo en el empaquetamiento de los TAGs. b) Empaquetamiento de los ácidos grasos en las diferentes formas polimórficas (Hex = Hexagonal; O_⊥=Ortorrómbico; T//=Triclínico). c) Representación esquemática del empaquetamiento en capas de TAGs. (Tomada de Kalnin *et al.*, 2004)

especies moleculares, así como el empaquetamiento en capas de moléculas de TAGs. El empaquetamiento de los TAGs en forma de capas puede ser de doble o triple cadena. En el empaquetamiento de cadena doble los ácidos grasos de moléculas adyacentes se superponen y la longitud del empaquetamiento equivale a dos residuos de ácidos grasos (Smith, 2001; Kalnin *et al.*, 2004). Este tipo de empaquetamiento se presenta en TAGs trisaturados, de cadena larga y alto punto de fusión (Figura 5c). El empaquetamiento triple consiste en que las moléculas de TAGs se posicionan una encima de otra dando lugar a que la longitud del empaquetamiento sea igual a tres residuos de ácidos grasos. Este empaquetamiento se asocia a TAGs que tienen en su molécula al menos un ácido graso de cadena larga monoinsaturado o TAGs mixtos que contienen ácidos grasos de cadena corta y larga y que presentan un bajo punto de fusión (Figura 5c).

La forma de empaquetamiento de los cristales de TAGs se puede describir mediante el concepto de celda unitaria (Larson 1994). Para definir el concepto de celda unitaria hay que establecer que en el estado sólido las moléculas adquieren posiciones rígidas que forman un patrón tridimensional ordenado y repetido. Dicha estructura se denomina red espacial del cristal o lattice del cristal, en donde cada celda unitaria tiene una molécula en cada una de sus esquinas y representa la unidad más pequeña de construcción del cristal. La repetición de la celda unitaria en las dimensiones axiales a (ancho), b (altura) y c (profundidad), constituye la red espacial.

En la forma polimórfica β' , las cadenas son empaquetadas en un arreglo hexagonal con orientación aleatoria, tiene una baja densidad, bajo punto de fusión y los cristales son pequeños, finos y morfología amorfa (Figura 5b). Para la forma polimórfica β las cadenas se empaquetan en un arreglo ortorrómbico, dando la forma de una aguja larga y un patrón inexacto y presenta características medias de fusión y densidad del cristal en comparación con la forma β' . Finalmente en la forma polimórfica α , las cadenas toman un arreglo triclinico donde se presenta un cristal grande en forma de plato y proporciona una textura arenosa en una grasa

cristalizada y presenta una alta densidad del cristal al igual que un elevado punto de fusión (Smith, 2001; Kalnin *et al.*, 2004).

En general, el tamaño, forma y temperatura de cambio de fase de líquido a sólido de los cristales β' , hacen que impartan buena untabilidad y plasticidad a las margarinas y aderezos, ya que forman una red de cristales finos. Sin embargo, algunas grasas sufren transformaciones del estado polimórfico β' al β durante su almacenamiento lo cual es inducido por fluctuaciones en la temperatura, dando como resultado productos con consistencia dura y textura arenosa, ya que los cristales β son más grandes que los β' y tienen temperatura de fusión más elevada (deMan y deMan, 1995).

En grasas homogéneas que contienen TAGs similares estructuralmente las formas polimórficas inestables rápidamente se transforman en la forma β más estable. De forma contraria las grasas que contienen una gran diversidad de TAGs diferentes, no pueden empaquetarse tan estrechamente, impidiendo la transformación rápida hacia otras formas polimórficas más estables, permaneciendo indefinidamente en cristales pequeños y de baja temperatura de fusión (O'Brien, 1998).

2.2.3. Comportamiento de fase de sistemas binarios en TAGs.

Sistemas reales como los aceites y grasas naturales son sistemas multicomponentes que contienen diferentes clases de ácidos grasos que por ende dan origen a diferentes familias de TAGs (Takeuchi *et al.*, 2002). El comportamiento de fase de mezclas de TAGs junto con el polimorfismo, tamaño y morfología del cristal así como la formación de la red tridimensional de los cristales de los TAGs, son los principales factores que determinan las propiedades microscópicas de sistemas alimenticios cristalizados. Entre estas propiedades se encuentran la apariencia visual, textura y reología (Marangoni y Lencki, 1998). Adicionalmente a los factores mencionados, las propiedades macroscópicas de las grasas y los aceites se relacionan también al resultado de las interacciones moleculares entre los TAGs que conforman el sistema y que determinan, en gran medida, el superenfriamiento y al comportamiento de fase de los TAGs en el sistema.

Sin embargo, el estudio de sistemas multicomponentes es además complejo. El análisis de las propiedades fisicoquímicas generalmente debe de partir del estudio y conocimiento de las moléculas de TAGs individuales y posteriormente del estudio de mezclas más complejas de TAGs. Es por eso que recientemente se ha puesto un gran interés en el estudio de sistemas binarios de TAGs que puedan llevar a esclarecer y comprender más fácilmente el comportamiento de sistemas reales.

Existen diferentes tipos de comportamientos de fase. Los principales tipos son monotéctico, eutéctico y peritéctico (Humphrey y Narine, 2005).

a) Un sistema monotéctico es aquel en el cual los componentes tienen puntos de fusión, volúmenes moleculares y forma polimórfica similar. Un ejemplo de un sistema binario monotéctico es el formado por 1-palmitoil,2-oliol,3-estearoil-sn-glicerol (POS) y 1,3-estearoil, 2-oliol-sn-glicerol (SOS).

b) Un sistema eutéctico es el más común en sistemas binarios de TAGs y se caracteriza por que los componentes presentan diferencias en su volumen molecular y forma polimórfica pero no tienen una variación drástica en sus puntos de fusión. Ejemplo de este comportamiento es el sistema formado por tripalmitoil-sn-glicerol (PPP) y triestearoil-sn-glicerol (SSS)

c) Un sistema peritéctico es aquel en el cual al llegar al punto de fusión los componentes del sistema no se funden y se toma lugar otra estructura sólida de los componentes. Este tipo de comportamiento se presenta en sistemas binarios en donde al menos uno de los TAGs presenta dos ácidos grasos insaturados en su molécula.

Es importante conocer y establecer las propiedades físicas de las fases de mezclas binarias de TAGs, ya que su comportamiento está más relacionado con el comportamiento de sistemas multicomponentes (ej., grasas y aceites) durante el proceso de cristalización.

2.3. Cinética de cristalización.

2.3.1. Modelo de Avrami.

El modelo de Avrami (Avrami, 1940) representa la aproximación más general para cuantificar la cinética de transformación de fase isotérmica y describir el proceso de cristalización, tomando en consideración la etapa de nucleación y el mecanismos de crecimiento del cristal. Aunque originalmente este modelo fue desarrollado para describir la cinética de transiciones de fase líquido-sólido para cuerpos cristalinos perfectos tales como los metales y polímeros, se ha empleado para describir la cristalización de TAGs en sistemas simples y complejos (Dibildox-Alvarado y Toro-Vazquez, 1997; Herrera *et al.*, 1998; Metin y Hartel, 1998).

El modelo establece que en un sistema dado bajo condiciones isotérmicas a temperatura inferior a T_M° , el grado de cristalinidad o cristalización fraccional (F) está dado como una función del tiempo (t) mediante la ecuación [1]:

$$1-F = \exp(-zt^n) \quad [1]$$

donde n es el índice de reacción de la cristalización o exponente de Avrami y z es la constante de velocidad de cristalización que depende principalmente de la magnitud de n , la velocidad de nucleación y de la velocidad de crecimiento lineal de la esférula (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

De acuerdo con esta ecuación, el clásico comportamiento sigmoideal de Avrami a partir de una gráfica de F contra el tiempo de cristalización se observa también en la cristalización de TAGs en aceites vegetales. Este comportamiento de la cristalización consiste de un periodo de inducción para la cristalización, seguido por un incremento en el valor de F asociado a una aceleración en la velocidad de producción de volumen o masa de cristales, y finalmente, una etapa de cristalización metaestable en la que no hay variación de F (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

En el modelo de Avrami, F es una cristalinidad reducida ya que asocia la cristalinidad en instantánea con la cristalinidad total alcanzada bajo las condiciones

experimentales. F generalmente es calculada como $F=(X_t-X_0)/(X -X_0)$, donde X_0 es la concentración del sólido (TAGs en la fase sólida) en el tiempo cero, X_t es la concentración de sólidos en el tiempo t y X es la concentración máxima de sólido obtenida en el proceso de cristalización (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

En la cristalización de aceites vegetales F se ha determinado experimentalmente por calorimetría diferencial de barrido (DSC) calculando los valores a partir de la curva correspondiente a la exoterma de cristalización como $F= H_t/ H_{total}$, donde H_t es el área bajo la curva de la exoterma desde $t= i$ hasta $t=t$, y H_{total} es el área total bajo la curva (Toro-Vazquez *et al.*, 2000). También pueden obtenerse los valores de F en función del contenido de grasa sólida (SFC) determinado mediante resonancia magnética nuclear (RMN) como $F = SFC_t/SFC_{max}$, donde SFC_t es el contenido de grasa sólida a un tiempo determinado y SFC_{max} , es el contenido de grasa sólida total alcanzado por el proceso de cristalización (Wright *et al.*, 2000).

En base a la teoría en la que se fundamenta el modelo de Avrami, los parámetros de Avrami dan información de la naturaleza del proceso de cristalización (Marangoni, 2005). El valor de n es una constante relacionada con la dimensionalidad de la transformación ya que es una función del número de dimensiones en las que toma lugar el crecimiento, reflejando además los detalles del mecanismo de nucleación y crecimiento. En un proceso de cristalización homogénea, $n=4$ indica un mecanismo de crecimiento de cristal poliédrico (crecimiento tridimensional), un valor de $n=3$ un mecanismo de crecimiento de cristal en forma de plato (crecimiento bidimensional) y $n=2$ un crecimiento de cristal cilíndrico (crecimiento unidimensional). Aunque en términos estrictos el modelo de Avrami debe proporcionar valores enteros de n , usualmente se originan valores fraccionados incluso cuando se tiene un buen ajuste de los datos al modelo. Estas desviaciones de obtener valores fraccionarios para n , se han asociado al desarrollo simultáneo de dos o más tipos de cristales o cristales similares que provengan de diferentes tipos de núcleos (esporádicos o instantáneos) (Metin y Hartel, 1998; Toro-Vazquez *et al.*, 2001)

Respecto al valor de z , constante de velocidad de cristalización, depende de la magnitud de n y es función de la velocidad de nucleación y de la velocidad de crecimiento lineal del cristal de la esferulita así como también es influenciada por la temperatura de cristalización y obedece a una dependencia de la temperatura tipo Arrhenius. Esto se cumple siempre y cuando se den las condiciones asumidas por el modelo las cuales son (Toro-Vazquez *et al.*, 2001):

- Velocidad radial de crecimiento constante
- Densidad y forma de crecimiento del núcleo constantes
- No debe existir nucleación secundaria
- No debe de haber cambio de volumen durante la cristalización
- El crecimiento del cristal debe ser libre

Es importante indicar que el modelo de Avrami no provee información respecto al tamaño o estado polimórfico de los cristales.

Los valores de n y z también se pueden calcular empleando una regresión lineal de la ecuación de Avrami en su formato lineal (ecuación 2) empleando comúnmente valores de F entre 0.25 y 0.75 (Toro-Vazquez *et al.*, 2001).

$$\ln(-\ln(1-F)) = \ln(z) + n [\ln(t)] \quad [2]$$

En la cristalización de grasas y aceites se ha encontrado que las gráficas del modelo de Avrami en su formato lineal no presentan una sola pendiente asociada con el valor de n , sino que presentan dos regiones con pendientes diferentes, siendo generalmente mayor el valor de n para la primera región con respecto al de la segunda región (Toro-Vazquez *et al.*, 2001). En estudios realizados con mezclas de estearina de palma en aceite de ajonjolí se concluyó que la primera región de la gráfica de Avrami está principalmente asociada con el proceso de nucleación, mientras que la segunda región involucra el proceso de crecimiento de los cristales (Toro-Vazquez *et al.*, 2002b).

2.4. Mantequilla de cacao.

La mantequilla de cacao es un ingrediente importante en la elaboración del chocolate y productos de confitería, teniendo una influencia significativa sobre las propiedades organolépticas y físicas como la dureza, textura, punto de fusión, brillo color, olor y sabor (Smith, 2001). En la elaboración del chocolate la mantequilla de cacao generalmente actúa como una fase continua en la que se encuentran homogéneamente dispersos los ingredientes no grasos. La mantequilla de cacao está compuesta principalmente por TAGs y componentes minoritarios en los que se encuentran di- y mono-acilglicéridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos y otros lípidos complejos. En la mantequilla de cacao se observa que contiene cantidades casi iguales de ácidos grasos palmítico (P), esteárico (S) y oleico (O) (Cuadro 1). Las posiciones sn-1 y sn-3 generalmente son ocupadas por ácidos saturados como el palmítico y el esteárico, mientras que la posición sn-2 es ocupada por ácidos grasos insaturados principalmente ácido oleico.

El principal grupo de TAGs presentes en la mantequilla de cacao son del tipo Saturado-Oleico-Saturado. De acuerdo al estudio realizado por Shukla (1995) y van Malssen *et al.* (1996) este grupo de TAGs representa es 70-88% de los TAGs presentes. Los principales TAGs que constituyen este grupo son POP, SOS y POS. Otros dos grupos de TAGs se encuentran en la mantequilla de cacao en cantidades apreciables, estos grupos son los monosaturados dioleoilglicerol (Saturado-Oleico-Oleico) y el disaturado-2-linoleoil glicerol (Saturado-Linoleico-Saturado). Estos TAGs tienen menor punto de fusión que los Saturado-Oleico-Saturado y contribuyen a la fase líquida de la mantequilla de cacao (Smith, 2001).

La mantequilla de cacao exhibe diferentes formas polimórficas, para las que se han desarrollado diferentes nomenclaturas que se muestran en el Cuadro 2. Según el estudio realizado por Wille y Lutton (1966) existen seis tipos de polimorfos a los que designaron los números romanos de I al VI. Esta nomenclatura es común en la

Cuadro 1. Composición (%) de ácidos grasos y triacilglicéridos de mantequilla de cacao (Tomada de Smith, 2001).

Ácidos grasos	Shukla (1995)	van Malssen <i>et al.</i> (1996)	TAGs	Chaiseri y Dimick (1989)	van Malssen <i>et al.</i> (1996)
14:0 (M)	0.1	0.0 - 0.2	PLP	0.7 - 1.2	0.6 - 1.5
16:0 (P)	23.7 - 25.5	20.0 - 23.8	POO	0.9 - 4.3	2.7 - 8.1
16:1 (Po)	0.3	0.1 - 0.4	PLS	2.8 - 3.9	1.6 - 3.5
0.70833	0.2 - 0.3	0.0 - 0.4	POP	17.5 - 22.6	11.0 - 15.4
18:0 (S)	32.9 - 37.4	19.4 - 34.1	SOO	2.8 - 7.3	3.6 - 10.9
18:1 (O)	33.2 - 37.4	19.4 - 34.7	SLS	1.7 - 3.7	1.0 - 2.3
18:2 (L)	2.6 - 4.0	2.2 - 3.7	POS	35.8 - 41.4	29.9 - 37.8
18:3 (Ln)	0.2	0.1 - 0.3	SOS	22.8 - 31.1	20.2 - 27.4
20:0 (A)		0.8 - 1.1	SOA	0.4 - 0.8	1.1 - 1.9
			POA		0.9 - 1.3
			SOL		0.4 - 2.4
			Otros		5.4 - 8.1

M, Mirístico; P, Palmítico; Po, Palmitoleico; S, Esteárico; O, Oleico; L, Linoleico; Ln, Linolénico; A, Araquídico;.

Cuadro 2. Nomenclatura de las formas polimórficas de la manteca de cacao (Tomada de Smith, 2001)

Wille y Lutton (1996)	Larson (1966)	Hernqvist (1988)	van Malssen <i>et al.</i> (1999)	Davis y Dimick (1986)	Empaquetamiento de los TAGs
I	' ₂	Sub-			Doble
II					Doble
III	Mezcla	' ₂	'	' ₂	Doble
IV	' ₁	' ₁	'	' ₁	Doble
V			V		Triple
VI	2			2	Triple
	1			1	

industria chocolatera, mientras que en la elaboración de margarinas y grasas untadas se opta por utilizar la nomenclatura propuesta por Larson (1966) (Cuadro 2). Empleando la nomenclatura de Larson (1966) las formas β , β' y β'' no son de interés en la industria del chocolate por ser inestables y sufrir una rápida transformación a una forma polimórfica más estable. La forma β es el estado polimórfico apropiado en el chocolate pues imparte las características de brillo superficial, dureza, palatabilidad y fusión en el producto. Estas características se deben a la gran estabilidad y su temperatura de fusión por debajo de la temperatura de la boca. El desarrollo de la forma β' que es la más estable, ocasiona el deterioro del chocolate ya que este estado polimórfico produce una sensación cerosa en el paladar debido a su mayor temperatura de fusión.

2.5. Grasa butírica.

La grasa butírica es un producto natural que se obtiene de la leche. Es el resultado de remover el contenido de agua y otros constituyentes de la leche y es el principal constituyente de la mantequilla, tiene excelentes propiedades organolépticas, las cuales la hacen un ingrediente importante en la industria de la panificación y la confitería (van Aken *et al.*, 1999). La grasa butírica puede ser mezclada con otros aceites y grasas. Se emplea en mezclas con mantequilla de cacao pues sirve como agente de sabor y textura. Además ayuda a reducir costos al reemplazar una porción de la mantequilla de cacao, lo que la hace un ingrediente muy deseable en la elaboración del chocolate.

La grasa butírica al igual que el resto de las grasas naturales está constituida aproximadamente por 96-98% de TAGs y el resto son componentes minoritarios entre los que se encuentran mono- y di-acilgliceridos, ácidos grasos libres, fosfolípidos, esteroides y otros lípidos polares. La grasa butírica contiene más de 200 especies diferentes de TAGs conformados por ácidos grasos que van desde 2 hasta 24 átomos de carbono. Los principales ácidos grasos presentes en la grasa butírica y su composición se muestran en el Cuadro 3. La grasa butírica contiene altos

Cuadro 3. Composición (%) de ácidos grasos de la grasa butírica (Tomada de Hartel y Kaylegian, 2001).

Ácido graso	Composición
C4:0	3.3
C6:0	1.6
C8:0	1.3
C10:0	3
C12:0	3.1
C14:0	9.5
C16:0	26.3
C16:1	2.3
C18:0	14.6
C18:1	29.8
C18:2	2.4
C18:3	0.8

niveles de ácido palmítico y oleico, pero lo que la hace única es su contenido de ácidos grasos de cadena corta y muy particularmente la presencia de ácido butírico.

Los ácidos de cadena corta juegan un papel muy importante en el sabor y olor característico que tiene la grasa butírica, pero también impactan sobre la cristalización de la grasa ya que influyen en el arreglo de los TAGs en el lattice del cristal. La forma en la cual los TAGs interactúan está determinada no solo por el contenido de los ácidos grasos que conforman la molécula, sino también por la posición que ocupa en la molécula del glicerol. Debido a la complejidad de la composición de ácidos grasos de la grasa butírica es difícil el llevar a cabo un análisis de las posiciones de los ácidos grasos dentro de las moléculas de los TAGs. Sin embargo, Christie (1995) realizó un trabajo en el cual desglosó la probabilidad de encontrar un ácido graso determinado en un sitio específico dentro de la molécula del TAG (Cuadro 4). La distribución de los ácidos grasos en la molécula del glicerol no es aleatoria, sino que es una función de aspectos bioquímicos y fisiológicos del animal que produce la leche (Hartel y Kaylegian, 2001). Es de particular importancia observar que los ácidos de cadena corta ocupan de forma preferencial la posición sn-3, la posición sn-2 generalmente es ocupada por los ácidos mirístico y palmítico. Es claro que, a diferencia de la mantequilla de cacao, debido a la gran diversidad de familias de TAGs que constituyen la grasa no hay ningún TAG simple que domine la composición química de esta.

Por lo anterior y para poder simplificar el entendimiento del comportamiento de la grasa butírica esta es dividida en tres fracciones diferentes definidas en función de su intervalo de temperatura de fusión. Estas son: fracción de alto punto de fusión (HMF), fracción de punto de fusión intermedio (MMF) y fracción de bajo punto de fusión (LMF), las características de cada una de estas fracciones se muestran en el Cuadro 5 (Hartel y Kaylegian, 2001).

En experimentos realizados por ten Grotenhuis *et al.*, (1999) bajo condiciones isotérmicas de cristalización se encontró que los TAGs de la grasa butírica cristalizan en tres formas polimórficas diferentes que son β' , β y α' (Figura 6), de estos

Cuadro 4. Arreglo posicional de los ácidos grasos en la molécula del TAG (Tomada de Hartel y Kaylegian, 2001).

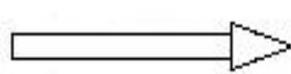
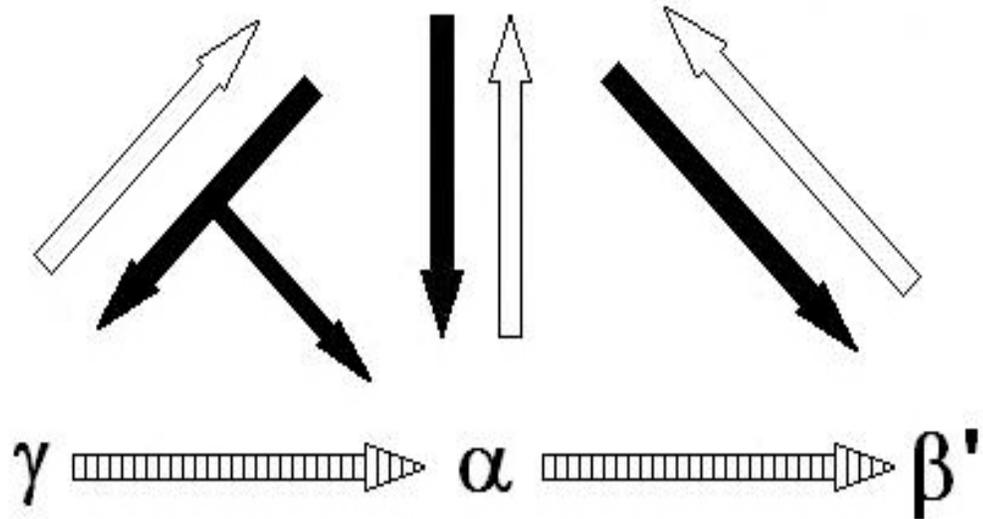
Acido graso	sn-1	sn-2	sn-3
C4:0	-	-	35.4
C6:0	-	0.9	12.9
C8:0	1.4	0.7	3.6
C10:0	1.9	3	6.2
C12:0	4.9	6.2	0.6
C14:0	9.7	17.5	6.4
C16:0	34	32.3	5.4
C18:0	10.3	9.5	1.2
C18:1	30	18.9	23.1
C18:2	1.7	3.5	2.3

Cuadro 5. Característica de las fracciones que constituyen la grasa butírica (Tomada de Timms, 1980).

Fracción	Composición	%	Punto de fusión (°C)
HMF	Acidos grasos saturados de cadena larga	5	>50
MMF	Dos ácidos grasos saturados de cadena larga y un ácido saturado de cadena corta o un ácido insaturado	25	35 - 40
LMF	Un ácido graso de cadena larga y dos ácidos de cadena corta o dos ácidos insaturados	70	<15

HMF = Fracción de alto punto de fusión; MMF = Fracción de punto de fusión intermedio; LMF = Fracción de bajo punto de fusión.

Líquido



Fusión



Cristalización



Transformación Polimórfica

Figura 6. Esquema de las transiciones polimórficas que se presentan en la grasa butírica (Tomada de ten Grotenhius *et al.*, 1999).

polimorfos es la menos estable y β' la mas estable. El polimorfo β que es la forma más estable y que se observa en muchos TAGs puros, en este estudio no se observó. Sin embargo Hartel y Kaylegian, 2001 reporta la presencia del polimorfo bajo ciertas condiciones asociado principalmente a la fracción de alto punto de fusión o en grasa butírica que ha sido almacenada por largo tiempo.

2.7. Formación de la red tridimensional de cristales de TAGS.

La formación de una red tridimensional se lleva a cabo en varios eventos. Primero se forman los núcleos de cristal de manera que los TAGs presentes en el sistema cristalizan a partir del fundido en un estado polimórfico en particular, posteriormente se agregan en microestructuras mayores mediante un proceso limitado de transferencia de calor y masa que continúa hasta que se forma una red tridimensional continua por medio de la colección de varias microestructuras (Figura 7) (Narine y Marangoni, 1999; Walstra *et al.*, 2001). Cada uno de estos pasos se dan de manera simultánea en el tiempo a diferente velocidad. En esta red tridimensional de sólidos existe atrapada una fase líquida la cual proporciona plasticidad y suavidad al sistema impactando en la funcionalidad del sistema cristalizado. Por tanto, resulta de gran importancia la cuantificación de la microestructura a fin de poder relacionarle con cambios funcionales que esta origina (Walstra *et al.*, 2001).

A nivel microestructural, la red de sólidos es un sólido amorfo, mientras que a nivel intramicroestructural es de naturaleza fractal, de modo que la formación de la red de cristales de TAGs es matemáticamente muy similar a una agregación coloidal. Las propiedades reológicas macroscópicas de la red están influenciadas por todos los niveles de estructura definidos durante la formación de la red, pero particularmente por el nivel microestructural (Narine y Marangoni, 1999).

2.7.1. Reología

La ciencia que estudia el flujo y la deformación de los materiales se conoce como reología (Steffe, 1992). En la naturaleza existen cuerpos sólidos ideales conocidos como sólidos Hookeanos, que se deforman elásticamente, es decir la energía

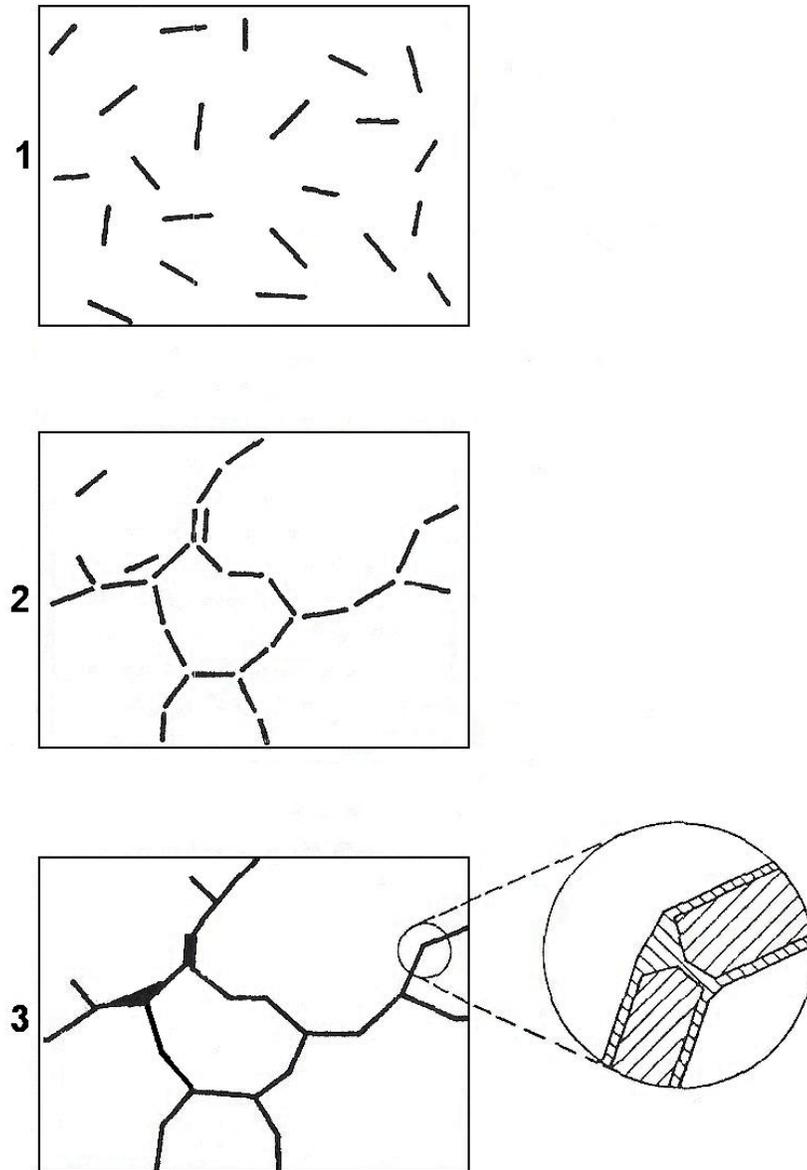


Figura 7. Etapas de la formación de la red tridimensional de los cristales de grasa (Tomada de Walstra *et al.*, 2001).

aplicada para deformarlos se recupera totalmente cuando se deja de aplicar el esfuerzo. Por otra parte se tienen los fluidos ideales o Newtonianos que se deforman irreversiblemente, es decir, que fluyen al aplicarles una fuerza y la energía requerida para la deformación se disipa en el fluido en forma de calor y no se recupera al retirar el esfuerzo. La mayoría de las sustancias que presentan partículas suspendidas, presentan un comportamiento reológico intermedio entre un líquido Newtoniano y un sólido Hookeano y se denominan materiales visco-elásticos (Schramm, 1994). Una grasa es un material plástico en el que los cristales de grasa forman una red tridimensional continua la cual imparte propiedades mecánicas al sistema y dentro de esa red se retiene a la fase líquida continua. Estos sistemas tienen propiedades de tipo sólido y líquido por lo que son sustancias visco-elásticas. Las grasas plásticas presentan una apariencia sólida que puede hacerse fluir o deformarse dependiendo de la magnitud de la fuerza aplicada (Walstra *et al.*, 2001).

El modelo del fluido viscoelástico, describe el comportamiento de una mezcla dinámicamente asimétrica, compuesta por componentes rápidos y lentos, que exhiben un comportamiento reológico complejo. Esta asimetría dinámica puede ser inducida tanto por grandes diferencias en el tamaño como por diferencias en la temperatura de transición entre los componentes de la mezcla. La asimetría dinámica inducida por grandes diferencias en el tamaño se presenta en los llamados "fluidos complejos" (tales como soluciones de polímeros, soluciones micelares, suspensiones coloidales, emulsiones y soluciones de proteínas), mientras que la asimetría dinámica inducida por diferencias en la temperatura de transición pueden presentarse en cualquier mezcla (Tanaka, 2000).

Narine y Marangoni (1999) destacan que las propiedades físicas y químicas de un sistema de TAGs cristalizado están ligadas a su microestructura, formada por una red de cristales que determina las propiedades macroscópicas de la grasa, particularmente, las propiedades reológicas. La dependencia de las propiedades viscoelásticas sobre la estructura de polímeros se ha señalado para el caso de materiales amorfos y cristalinos, pero no para los estados intermedios, o sea, durante la cristalización, en la que la estructura es compleja y hay un enlace bifásico

entre las fases cristalina y amorfa. En estas condiciones resulta de gran interés el tratar de correlacionar la estructura con las propiedades viscoelásticas, ya que la reología puede convertirse en una herramienta complementaria para el estudio de la cinética de cristalización.

Las propiedades mecánicas de la grasa, entre las que se encuentra la consistencia, dependen de la geometría de la red y de las fuerzas de interacción entre los cristales de la grasa (Herrera y Hartel, 2000). Para comprender el fenómeno físico involucrado y obtener la relación entre la morfología, fracción cristalizada, y propiedades viscoelásticas, se ha estudiado el comportamiento viscoelástico a deformaciones pequeñas relacionándolo con los datos calorimétricos y con la morfología. Es necesario que las deformaciones aplicadas sean pequeñas para evitar la deformación de la estructura y en la cinética de cristalización, por corte o cizalla (Marangoni y Rousseau, 1996).

Las mediciones con deformación pequeña se desarrollan generalmente utilizando reometría dinámica oscilatoria con esfuerzo controlado o con deformación controlada, obteniendo parámetros tales como módulo de pérdida (G'') o de almacenamiento (G'), con los cuales puede obtenerse información acerca de la estructura de la red de cristales de grasa (Marangoni y Rousseau, 1996). G' mide la respuesta elástica y G'' mide la disipación viscosa. En estas pruebas dinámicas, el material se somete a un movimiento que varía armónicamente con el tiempo, en el que se aplican deformaciones (o esfuerzos) "bajos" para no exceder el intervalo de viscoelasticidad lineal que imposibilite la recuperación completa. Deformaciones grandes, generalmente conducen a un rompimiento estructural irreversible de la red (Marangoni y Rousseau, 1998).

Siguiendo el proceso de cristalización mediante un análisis viscoelástico dinámico, se ha encontrado que la evolución del módulo de almacenamiento (G') no solamente permite evaluar la cinética de cristalización, sino que también permite determinar las características de nucleación y crecimiento (Boutahar *et al.*, 1998), de ahí que las mediciones reológicas durante la cristalización de los TAGs permitan diferenciar las

etapas de nucleación y crecimiento del cristal dentro de las mediciones del tiempo de inducción. Esta diferenciación no puede lograrse mediante calorimetría diferencial de barrido (Herrera y Hartel. 2000).

Desde una perspectiva de la ingeniería el punto de cedencia (σ_c) es otro parámetro extremadamente útil en la caracterización del comportamiento reológico de sólidos suaves tales como alimentos, hidrogeles, pinturas, etc. El punto de cedencia (σ_c) de un sólido plástico usualmente es definido como el punto en el cual, cuando el esfuerzo aplicado sobre el sólido se incrementa, el sólido deformado comienza a mostrar un comportamiento como líquido, es decir que el sólido comienza a fluir. El punto de cedencia (σ_c) es una propiedad importante en los sólidos plásticos, ya que está fuertemente correlacionada a la percepción sensorial de la dureza y la untabilidad, así como también a la estabilidad del material (Marangoni y Rogers, 2003).

3. OBJETIVOS.

3.1. Objetivo general.

Investigar las relaciones del contenido de grasa sólida (SFC) y de la microestructura de los cristales de TAGs con las propiedades reológicas de elasticidad (G') y punto de cedencia (σ^*) y con la capacidad de retención de aceite (OBC) en condiciones de equilibrio para cada uno de los sistemas a evaluar.

3.2. Objetivos específicos.

- Evaluar el mecanismo de crecimiento y la velocidad de cristalización de los cristales de TAGs mediante los parámetros de la ecuación de Avrami n y z .
- Determinar los valores de los parámetros reológicos (G' y σ^*) en condiciones de equilibrio para cada sistema a evaluar.
- Determinar el contenido de grasa sólida (SFC) para cada sistema y evaluar el efecto de las condiciones de cristalización.
- Establecer la relación entre SFC con los parámetros reológicos, G' y σ^* y con la OBC de los sistemas cristalizados.

4. MATERIALES Y MÉTODOS.

4.1. Materiales.

La mantequilla de cacao (MC) y la grasa butírica anhidra (GBA) utilizadas en esta investigación se obtuvieron de proveedores locales, Productos Pealpan S.A. de C.V. y EFE S.A. de C.V., respectivamente. El aceite de soya se adquirió de la compañía de jabón La Corona S.A. de C.V. (Estado de México, México) y el aceite de canola fue proporcionado por Effem México Inc. S. en N.C. de C. V. (El Marqués, Querétaro, México). Los estándares y reactivos utilizados para cromatografía de líquidos fueron de la compañía Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, E.U.A.) y Caledon Laboratories Ltd. (Georgetwon , Ontario, Canadá).

4.1.1 Preparación de las mezclas.

Cuatro barras de MC de 1 Kg cada una se fundieron a 80°C por 30 min con agitación constante. Manteniendo fundida la mantequilla de cacao se filtró empleando papel Whatman No. 5 utilizando vacío y se envasó en alícuotas de 250 mL en envases de vidrio bajo atmósfera inerte de nitrógeno, protegidos contra la luz a -20°C. La GBA (20 Kg) fue sometida a este mismo procedimiento y almacenada en alícuotas de 500 mL bajo las mismas condiciones que la MC. El aceite de soya y el aceite de canola se homogenizaron de forma independiente a temperatura ambiente y con agitación constante y se envasaron en alícuotas de 250 mL bajo atmósfera inerte de nitrógeno, protegidos de luz a 4°C.

Se prepararon mezclas en proporciones de 0 a 100% (% peso/volumen) de MC o GBA con cada uno de los aceites vegetales. Para la elaboración de las mezclas se utilizó una alícuota de MC o GBA previamente fundida a 80°C por 30 minutos; posteriormente en un matraz volumétrico de 100 mL se pesó la proporción correspondiente de MC o GBA y se aforó con aceite de canola o soya a 25°C. La mezcla se mantuvo a 80°C por 30 minutos adicionales empleando un vortex para homogeneizar perfectamente. La mezcla se almacenó en viales color ámbar bajo atmósfera de nitrógeno a 4°C.

4.2. Métodos.

4.2.1. Determinación del perfil de TAGs.

El perfil de TAG's de la MC, GBA, aceite de canola y aceite de soya se determinó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Waters 1525 (Waters Millipore Corporation, Milford, MA, E.U.A.) con bomba binaria y un detector de dispersión de luz modelo DDL31 (Eurosep Instruments; Cedex , Francia). Se emplearon dos columnas Nova-Pack C18 de 3.9 x 150 mm conectadas en serie a una pre-columna. Los solventes empleados fueron acetonitrilo y diclorometano grado HPLC, los cuales se filtraron previamente utilizando un sistema de vacío de membranas GH polypro de 47 mm de diámetro y 0.2 m de poro (Pall Corporation, Ann Arbor, Michigan, E.U.A.). Las muestras y los estándares para identificación de los TAG's se prepararon al 0.1% (p/v) en una mezcla de diclorometano:acetonitrilo (40/60) y se filtraron en un sistema de filtros acrodisc tipo GPH 13 mm x 0.2 m (Waters Millipore Co., Milford, MA, EUA). Las muestras y estándares preparados se almacenaron en viales ámbar antes de su análisis. La elusión se realizó de acuerdo al método propuesto por Reyes-Hernández (2003). La integración, identificación y cuantificación de los picos de elusión se realizaron con el software Breeze, v. 3.20 (Waters Millipore Co., Milford, MA, E.U.A.). La cuantificación de los picos de elusión se realizó en base al porcentaje de área total.

4.2.2. Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

4.2.2.1. Régimen dinámico.

El perfil de cristalización y fusión de los aceites de soya y canola, de la MC, la GBA y de sus respectivas mezclas en diferentes proporciones fueron determinadas en régimen dinámico (-50°C a 80°C) utilizando un calorímetro diferencial de barrido DSC-7 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, EUA) equipado con cámara seca y sistema de refrigeración con Nitrógeno líquido. La línea base de referencias se elaboró de -50° a 200°C con cápsulas de aluminio vacías y selladas empleando una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Para la calibración de la temperatura del equipo se

emplearon dos estándares, Indio y n-hexatriacontano con temperaturas de inicio de fusión de 156.6°C y 76.2°C, respectivamente. Una vez calibrada la temperatura del equipo se calibró para el calor involucrado en el cambio de fase (H) utilizando como referencia la entalpía de fusión (H) del estándar Indio (28.45 J/g). Se pesaron aproximadamente 12 mg de muestra en cápsulas de aluminio y se sellaron. Para compensar la diferencia en el calor específico entre la cápsula de referencia vacía y la de la muestra, se pesó aproximadamente el mismo peso de un material inerte (aluminio) en la cápsula de referencia. La muestra se colocó en el compartimento correspondiente en el DSC y se calentó hasta 80°C durante 20 minutos para eliminar cualquier tipo de estructura organizada de los TAG's adquirida durante su almacenamiento ("memoria térmica"). Posteriormente el sistema se enfrió hasta -50°C a una velocidad de 10°C/min y se mantuvo a esta temperatura por 1 minuto. Finalmente, el sistema se calentó a una velocidad de 5°C/min hasta alcanzar nuevamente la temperatura de 80°C.

Con el software del equipo (Pyris ^{MR}) se determinó, a partir de la exoterma de cristalización la temperatura de inicio de la cristalización (T_o) y de la endoterma de fusión el valor de la temperatura final de la fusión (T_f) (Figura 8). Estos valores se emplearon para evaluar el comportamiento de cristalización y fusión de las mezclas de MC y GBA en los aceites vegetales.

4.2.2.2. Régimen isotérmico.

Con base a los resultados obtenidos en 4.2.2.1. se establecieron las temperaturas de cristalización (T_{Cr}) para los estudios de calorimetría isotérmica de la mezcla de 30% de MC en los aceites vegetales y de 60% de GBA en los aceites vegetales.

Empleando el mismo procedimiento que para el estudio de DSC dinámico la muestra se mantuvo, inicialmente, a 80°C durante 20 minutos. Posteriormente el sistema se enfrió a una velocidad de 1°C/min hasta alcanzar la T_{Cr} correspondiente. La cristalización se determinó mediante la curva del calor en función del tiempo. El punto final del proceso de cristalización se estableció como el momento en el que

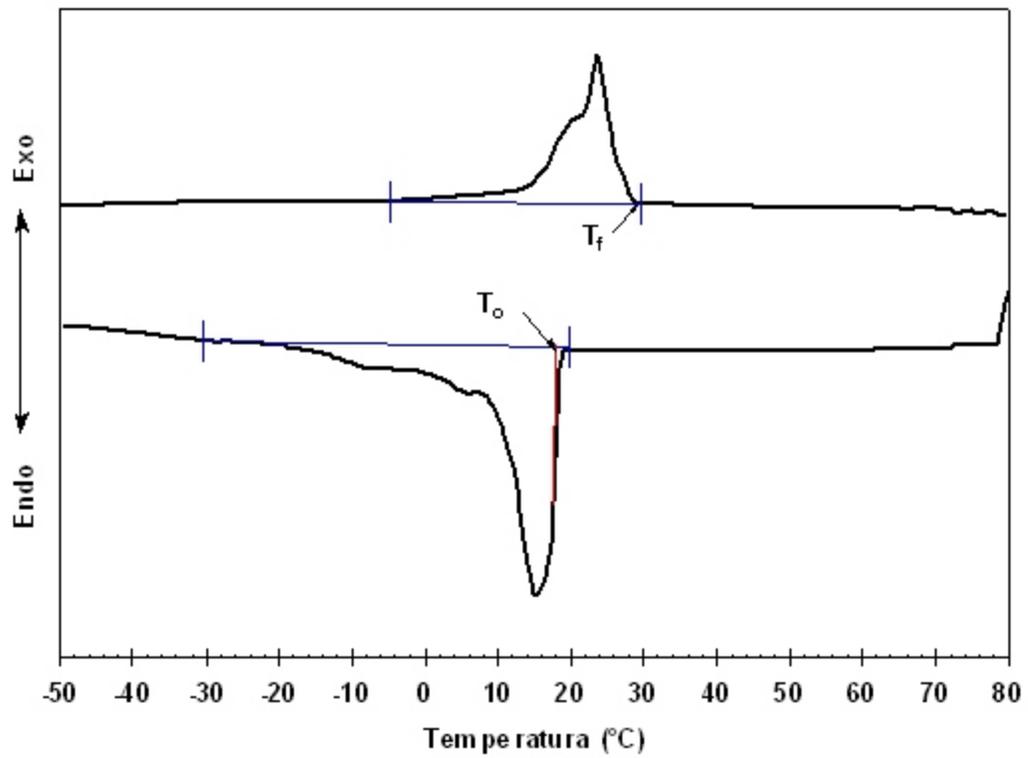


Figura 8. Determinación de la temperatura de inicio de cristalización (T_o) y la temperatura final de la fusión (T_f) en el análisis térmico dinámico por DSC.

el flujo del calor registrado alcanzó nuevamente la línea base (Figura 9A). A partir de ese momento el sistema se mantuvo a la T_{Cr} correspondiente por 30 minutos adicionales, para posteriormente fundir la muestra a una velocidad de calentamiento de $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Empleando el software del equipo se calculó de la exoterma de cristalización correspondiente a la entalpía de cristalización (H_{Cr}) mediante integración del área de la exoterma entre el tiempo de inicio de la cristalización (t_i) y el tiempo final de la cristalización (t_f) (Figura 9A). De la endoterma de fusión se calculó la entalpía de fusión (H_M) como el área bajo la endoterma entre la temperatura de inicio (T_i) de la fusión y la temperatura final (T_f). Igualmente, de la endoterma de fusión se calcularon la temperatura máxima de la endoterma (T_{max}) y la temperatura final de la fusión (T_f) (Figura 9B). El valor de la temperatura máxima de la endoterma se empleó para calcular la temperatura de fusión en el equilibrio (T_M°) usando la metodología descrita por Hoffman y Weeks (1962) como lo describió previamente Toro-Vazquez *et al.*, (2000).

4.2.3. Contenido de grasa sólida.

El contenido de grasa sólida se determinó con un espectrómetro de resonancia magnética nuclear (RMN) Minispec Bruker modelo mq20 (Bruker Analytik; Rheinstetten, Alemania). Previo a realizar las mediciones de las muestras el equipo se calibró con estándares certificados para asegurar que los valores obtenidos del contenido de grasa sólida fueran correctos. Para la calibración se utilizaron tres estándares de calibración 0%, 30.4% y 73.8% (Bruker Analytik; Rheinstetten, Alemania).

En este estudio las muestras se cristalizaron en un baño de temperatura controlada Brookfield TC-500. Una alícuota de muestra se fundió a 80°C durante 20 minutos y se transfirieron 4 mL de la muestra a un tubo de muestra del equipo (10 mm x 20 cm). El tubo se colocó en el baño de temperatura controlada manteniendolo por 10 minutos adicionales a 80°C . Posteriormente la muestra se enfrió hasta alcanzar la temperatura de cristalización isotérmica (T_{Cr}). La velocidad de enfriamiento promedio

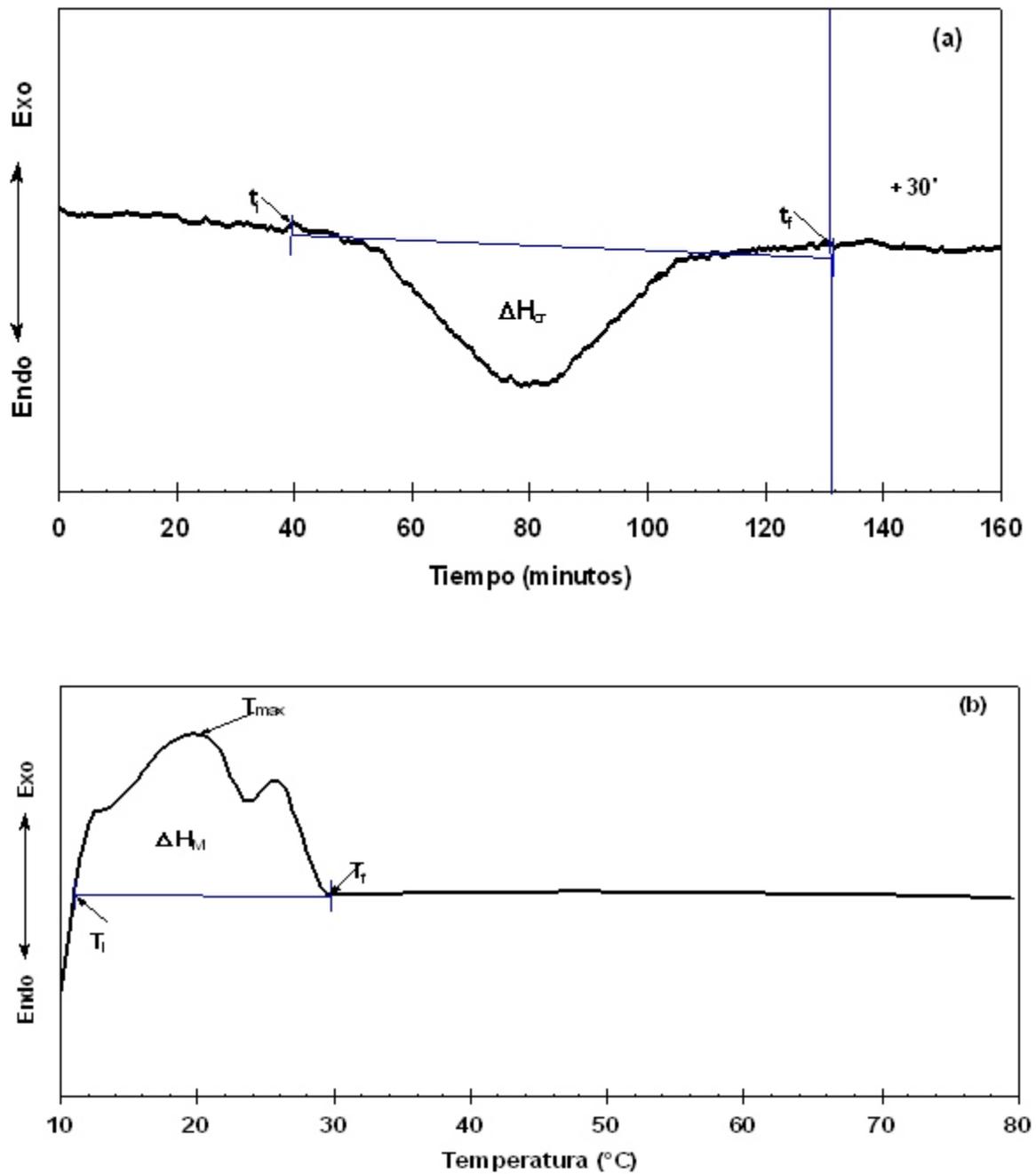


Figura 9. (a) Determinación de la entalpía de cristalización (H_{cr}) y (b) entalpía (H_M), temperatura máxima (T_m) y temperatura final (T_f) de fusión del análisis isotérmico por DSC.

del baño fue de 1°C/min aproximadamente. Una vez alcanzada la T_{cr} se inició la medición del contenido de grasa sólida en intervalos de 5 minutos hasta alcanzar una meseta en los valores del contenido de grasa sólida en función del tiempo (Figura 10). Se continuaron realizando mediciones por 30 minutos adicionales y el valor obtenido en este punto se consideró el valor de grasa sólida máximo o de equilibrio (SFC_{eq}). Esta determinación se realizó por duplicado.

4.2.4. Parámetros de la cinética de cristalización.

La evaluación de los parámetros cinéticos de la cristalización isotérmica se realizó empleando el modelo de Avrami (Avrami, 1940) definido con la ecuación [1]:

$$1-F = \exp(-zt^n) \quad [1]$$

donde la fracción cristalizada F se calculó en función del tiempo de cristalización, t , como $F = SFC_t/SFC_{eq}$, donde SFC_t es el contenido de grasa sólida a un tiempo determinado y SFC_{eq} es el contenido de grasa sólida total alcanzado por el proceso de cristalización. Los parámetros de la ecuación de Avrami n y z fueron estimados mediante una estimación no lineal empleando el software Statistic versión 6.0 (StatSoft, Tulsa, OK, EUA). Los valores se obtuvieron realizando iteraciones hasta lograr un valor máximo de convergencia empleando el método numérico de Quasi-Newton.

4.2.5. Reología de los sistemas evaluados.

4.2.5.1. Determinación de la elasticidad (G') y el punto de cedencia (τ^*).

Los valores de G' y τ^* se determinaron en un espectrómetro mecánico dinámico modelo UDS 200 (Parr Physica; Stuttgart, Alemania) utilizando una geometría de platos paralelos (50 mm en diámetro y un "gap" de separación de 1 mm) equipado con un sistema Peltier localizado en la placa inferior de medición para el control de la temperatura. La mezcla fundida a 80°C se colocó en el plato inferior del equipo (40°C) evitando la formación de burbujas de aire. Posteriormente, el plato superior

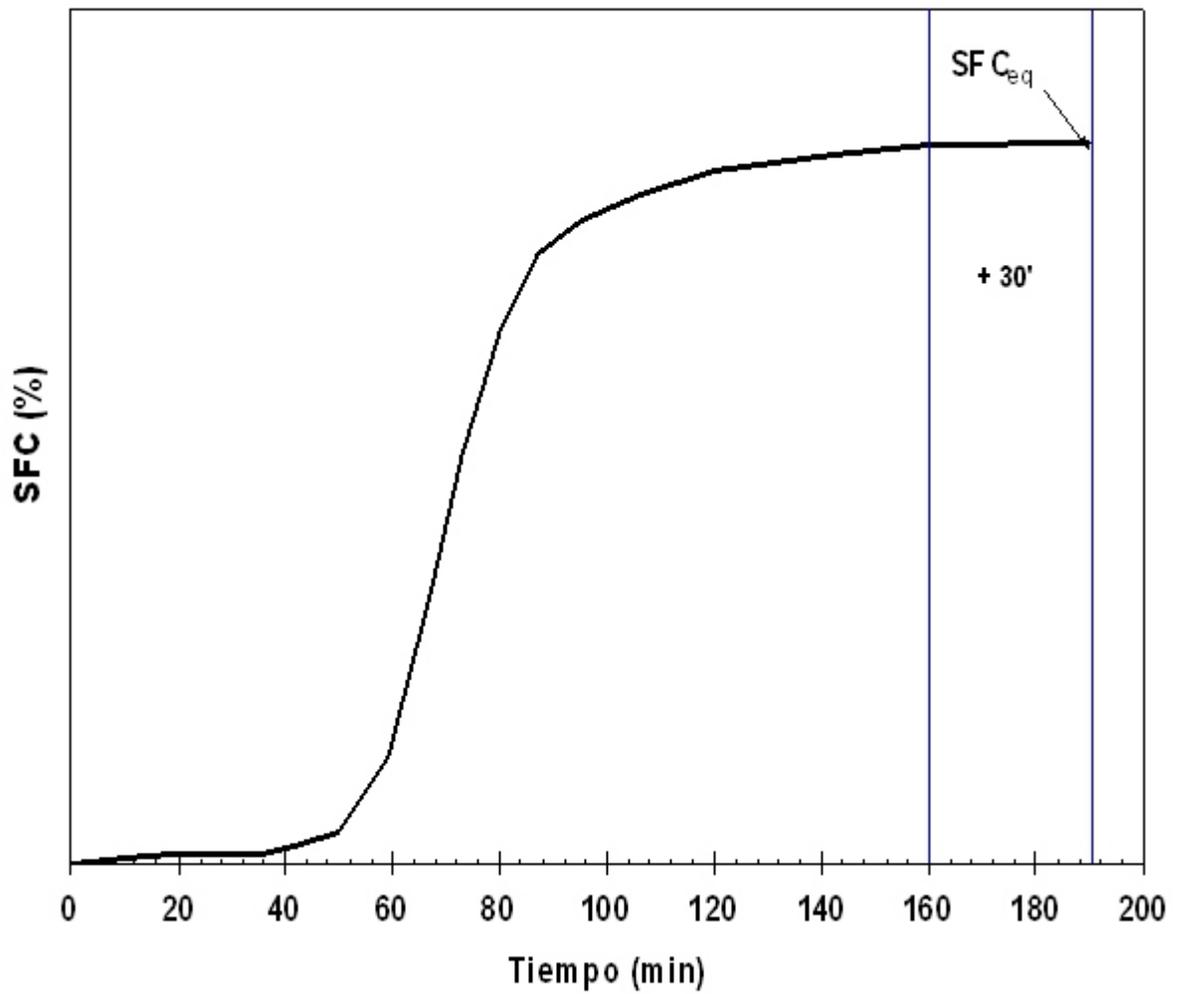


Figura 10. Curva típica del contenido de grasa sólida (%SFC) en función del tiempo de cristalización a temperatura constante.

se hizo descender mediante la aplicación del software hasta alcanzar la superficie de la muestra y mantener la separación programada entre los platos o gap de 1 mm. La muestra se calentó hasta 80°C y se mantuvo 20 minutos luego se enfrió a una velocidad de 1°C/min aplicando una deformación constante de 1 mrad hasta alcanzar la T_{Cr} . Ya que se alcanzó la T_{Cr} el sistema se mantuvo bajo condiciones estáticas hasta que cristalizó (el tiempo que se mantuvo la muestra a la T_{Cr} fue el mismo que se empleó para alcanzar el valor de SFC_{eq}). Una vez cristalizado el sistema se realizó un barrido de deformación (0.025%-5%). Se elaboraron las gráficas de logaritmo de G' y el esfuerzo cortante en función del logaritmo de la deformación (%) en la región viscoelástica lineal (RVL) para determinar el valor de la elasticidad en el equilibrio (G'_{eq}) y punto de cedencia (σ^*), respectivamente. Cada determinación se realizó por duplicado.

4.2.6. Microscopía de luz polarizada.

Se utilizó un microscopio de luz polarizada Olympus BX51 (Olympus Optical, Co., Ltd., Tokio, Japón) para evaluar la morfología de los cristales bajo condiciones isotérmicas de cristalización. El microscopio cuenta con un sistema de exposición de video análogo KP-D50 Color (Hitachi Digital, Tokio, Japón) con magnificación para el objetivo y el ocular de 10X. Para cristalizar las muestras se utilizó una platina Linkam TP94 con control de velocidad de calentamiento/enfriamiento (Linkam Scientific Instruments Ltd., Surrey, Inglaterra) conectada a una bomba de nitrógeno líquido LNP/2 (Linkam Scientific Instruments Ltd., Surrey, Inglaterra) provista de un tanque de 2 L de nitrógeno líquido sin presurizar, conectados a un sistema de calentamiento/enfriamiento Linkam LTS 350 (Linkam Scientific Instruments Ltd., Surrey, Inglaterra). El control de temperatura se realizó mediante el uso de una interfase RS232 que se programó a través del software Linksys32 versión 1.6.1 (Linkam Scientific Instruments Ltd., Surrey, Inglaterra).

Para tener un espesor de muestra uniforme a un portaobjetos 24 X 60 mm se le pegaron encima dos cubreobjetos de 24 X 24 mm dejando una distancia de 22 mm entre estos dos cubreobjetos. De esta forma se asegura que el espesor de la

película de la muestra sea de 0.16 mm. La muestra se fundió a 80°C se colocó en el portaobjetos y se cubrió con un cubreobjetos de 24 X 24 mm. El portaobjetos con la muestra se colocó en la platina y se cristalizó bajo las mismas condiciones utilizadas en la determinación del SFC_{eq} a las diferentes T_{Cr} empleadas para cada sistema evaluado. Con el sistema de video análogo se tomaron fotos del periodo de la cristalización isotérmica en intervalos de 300 s.

4.2.7. Capacidad de retención de aceite en el sistema cristalizado.

La capacidad de retención de aceite (OBC) se determinó a las diferentes T_{Cr} utilizadas para cada uno de los sistemas evaluados como una función del tiempo de cristalización, empleando la técnica descrita por Jahaniaval *et al.* (2002) con modificaciones menores. Así, se pesaron tubos Eppendorf de 1.5 mL y se añadieron 1.2 mL de muestra en cada tubo, se registró el peso total del tubo con la muestra y por diferencia con el peso del tubo se obtuvo el peso de la muestra (P_M). Los tubos con la muestra se colocaron en un baño de temperatura controlada Brookfield TC-500 y se cristalizaron bajo las mismas condiciones empleadas en la determinación del SFC_{eq} . Cuando el baño de temperatura controlada alcanzó la T_{Cr} correspondiente se tomaron dos tubos Eppendorf del baño y se centrifugaron por 15 minutos a 25,000 x g a la T_{Cr} correspondiente usando una centrífuga de temperatura controlada (Nacional Labnet Co., Woodbridge, NJ). El sobrenadante obtenido, considerado como el aceite libre del sistema (A_L), se separó manteniendo invertidos los tubos en un vaso de precipitado de 10 mL de peso conocido durante 5 minutos en una cámara de temperatura controlada a 10°C. Transcurrido el tiempo de drenado se obtuvo el peso total del matraz y el aceite drenado, y por diferencia con el peso del matraz solo se obtiene el peso del aceite libre (P_{AL}). Se calculó la OBC en base a la Ecuación [9] .

$$OBC = [(P_M - SFC_{eq}) - P_{AL}] / SFC_{eq} \quad [9]$$

donde SFC_{eq} es el peso de fase sólida presente en el sistema cristalizado previamente determinado por resonancia magnética nuclear utilizando un Minispec Bruker. El valor de OBC para cada una de las T_{Cr} de cada sistema se obtuvo a

intervalos de 15 minutos hasta completar el tiempo total de cristalización equivale al tiempo utilizado para obtener el valor de SFC_{eq} .

4.2.8. Análisis estadístico.

Se estableció un diseño factorial completamente al azar. Se evaluaron dos factores que fueron la temperatura de cristalización isotérmica (T_{cr}) con cuatro niveles y el solvente empleado (aceite vegetal) con dos niveles. Se realizó el análisis de varianza y contrastes múltiples utilizando el paquete estadístico STATISTICA v 6.0 (Statsoft, Tulsa, OK) para evaluar el efecto de los factores sobre los parámetros medidos (SFC_{eq} , n , z , G'_{eq} y \ast).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Composición química de la materia prima.

El perfil de TAGs determinados por cromatografía de líquidos de alta resolución para las materias primas utilizada en esta investigación se presentan en los Cuadros 6 y 7. En el Cuadro 6 únicamente se muestra la composición de TAGs para la GBA y el Cuadro 7 muestra el perfil de TAGs correspondiente a la MC y los aceites de canola y soya.

En el caso de la GBA determinar su composición de TAGs representó una tarea difícil, dada la diversidad de los ácidos grasos (los cuales varían en longitud de cadena y en grado de insaturación) que constituyen a los TAGs. Aunado a esto se encuentra la limitante de que en el mercado no existen muchos TAGs puros que puedan usarse como estándares para poder determinar la composición de TAGs en grasas tan complejas como la GBA. Sin embargo, investigadores como Ruiz-Salas *et al.* (1996) han realizado estudios enfocados a elucidar el mayor número posible de TAGs presentes en la GB de diferentes orígenes. Estos investigadores lograron identificar alrededor de 111 TAGs diferentes en GB de vaca. Determinar esta composición de TAGs les fue posible usando como estándares todos los TAGs puros disponibles en el mercado en combinación con un método de estimación basado en el cálculo del número de carbonos equivalentes. En el análisis de HPLC realizado en el presente estudio para la GBA, desafortunadamente únicamente se lograron identificar tres TAGs simples que fueron CaCaCa (Tricaprilina), LaLaLa (Trilaurina) y OOO (Trioleina) y un TAGs mixto que fue PLS (Palmítico-Linoleico-Esteárico). Estos cuatro TAGs identificados representan el 5.76% de la composición total de los TAGs de la GBA.

Del análisis de TAGs realizado a la MC (Cuadro 7) se pudo observar que principalmente se encuentra constituida por TAGs simétricos del tipo Saturado-Oleico-Saturado (POP, POS y SOS), los cuales representan el 87.84% de la composición total de TAGs. El tipo de TAGs di-insaturado asimétrico como POO (Palmitico-Oleico-Oleico) y SOO (Esteárico-Oleico-Oleico) representan únicamente el 4.1% de la composición total y los TAGs trisaturados solo el 0.81%. El perfil de TAGs obtenido para la MC empleada en este estudio no mostró diferencias significativas en comparación con lo reportado por Chaiser y Dimick (1989) y van Malssen *et al.* (1996)

Cuadro 6. Composición porcentual de triacilglicéridos (TAGs) de grasa butírica anhidra.

TAGs ^a	Grasa butírica anhidra ^b	TAGs ^a	Grasa butírica anhidra ^b
CaCaCa	0.35 ± 0.06	No identificado	1.09 ± 0.01
No identificado	0.47 ± 0.04	No identificado	2.06 ± 0.07
No identificado	0.63 ± 0.02	No identificado	2.59 ± 0.42
No identificado	2.72 ± 0.58	No identificado	0.23 ± 0.00
No identificado	2.31 ± 0.25	No identificado	2.17 ± 0.11
No identificado	1.87 ± 0.57	No identificado	2.42 ± 0.11
No identificado	5.77 ± 0.04	OOO	1.10 ± 0.10
LaLaLa	1.37 ± 0.86	PLS	2.94 ± 0.79
No identificado	6.53 ± 0.35	No identificado	3.39 ± 0.20
No identificado	3.96 ± 0.26	No identificado	3.70 ± 0.33
No identificado	11.94 ± 1.12	No identificado	5.75 ± 0.46
No identificado	13.75 ± 0.88	No identificado	0.05 ± 0.00
No identificado	3.52 ± 0.68	No identificado	2.27 ± 0.05
No identificado	4.57 ± 1.00	No identificado	0.67 ± 0.06
No identificado	3.68 ± 1.30	No identificado	2.66 ± 0.16
No identificado	0.80 ± 0.01	No identificado	1.48 ± 0.35
No identificado	0.88 ± 0.00	No identificado	0.31 ± 0.04

^a Ca, Cáprico; La, Láurico; P, Palmítico; S, Estéarico; O, Oleico; L, Linoleico.

^b % w/w, media y desviación estándar de 2 determinaciones independientes(n=2).

Cuadro 7. Composición porcentual de triacilglicéridos (TAGs) de mantequilla de cacao, aceite de canola y aceite de soya.

TAGs ^a	Mantequilla de Cacao ^b	Aceite de Canola ^b	Aceite de Soya ^b
LLnL	n.d. ^c	n.d. ^c	3.18 ± 0.17
LLL	n.d. ^c	0.78 ± 0.10	21.39 ± 0.45
LLnP	n.d. ^c	n.d.	1.16 ± 0.16
LLPo	n.d. ^c	4.48 ± 0.68	n.d.
LLO	n.d. ^c	7.35 ± 0.47	21.18 ± 0.87
LLnEo	n.d. ^c	8.90 ± 0.44	n.d. ^c
LLP	n.d. ^c	n.d.	14.49 ± 0.64
LOO	n.d. ^c	26.14 ± 0.01	9.88 ± 0.12
LLS	n.d. ^c	n.d. ^c	3.84 ± 0.23
PLO	0.16 ± 0.03	n.d. ^c	10.42 ± 0.03
POL	n.d. ^c	3.34 ± 0.12	n.d. ^c
PLP	0.55 ± 0.38	n.d.	1.70 ± 0.39
OOO	0.48 ± 0.59	39.41 ± 1.38	3.67 ± 0.03
SLO	0.26 ± 0.21	n.d.	2.93 ± 0.04
POO	1.86 ± 0.05	4.28 ± 0.18	2.72 ± 0.26
PLS	1.99 ± 0.02	n.d. ^c	1.36 ± 0.35
PPO	n.d. ^c	0.97 ± 0.20	n.d. ^c
POP	14.80 ± 0.04	n.d. ^c	0.39 ± 0.18
SOO	3.76 ± 0.31	1.86 ± 0.10	0.84 ± 0.43
SLS	1.20 ± 0.05	n.d. ^c	0.32 ± 0.19
POS	43.81 ± 0.64	n.d. ^c	0.50 ± 0.02
PPS	0.32 ± 0.04	n.d. ^c	n.d. ^c
SOS	29.33 ± 0.05	n.d. ^c	n.d. ^c
PSS	0.21 ± 0.08	n.d. ^c	n.d. ^c
SOA	1.00 ± 0.03	n.d. ^c	n.d. ^c
SSS	0.20 ± 0.02	n.d. ^c	n.d. ^c
No identificado	n.d. ^c	2.46 ± 0.60	n.d. ^c

^a P, Palmítico; Po, Palmitoleico; S, Esteárico; O, Oleico; L, Linoleico; Ln, Linolénico; A, Araquídico; Eo, Gadoleico.

^b % w/w, media y desviación estándar de 2 determinaciones independientes (n=2).

^c No detectado.

Chaiseri y Dimick (1989) reportaron diferencias entre las mantequillas de cacao de diferentes orígenes. En base a estas diferencias las mantequillas de cacao investigadas se clasificaron de acuerdo a su velocidad de nucleación en: nucleación rápida y nucleación lenta. De tal forma que la MC de nucleación lenta mostró concentraciones más altas de TAGs di-insaturados asimétricos. Mientras que la de nucleación rápida presentaron concentraciones más altas de TAGs simétricos (Chaiseri y Dimick, 1989). Tomando en consideración la clasificación establecida estos autores la MC usada en esta investigación fue clasificada como MC de nucleación rápida.

El tipo de TAGs encontrados en los aceites de canola y soya (Cuadro 7) fueron tri-insaturados los cuales representan el 87.07% y 59.3% respectivamente. Los principales TAGs del aceite de canola fueron OOO (Trioleina) , LnOO (Linolénico-Oleico-Oleico) y LnLEo (Linolénico-Linoleico-Gadoleico), mientras que para el aceite de soya fueron LnLnLn, LnLnO y LnOO. En base a estos resultados se observa que el aceite de canola presenta un alto contenido de TAGs que contienen ácido oleico, el cual es un ácido graso monoinsaturado. En cuanto al aceite de soya se observó que este presenta un alto contenido de TAGs que contienen ácido linoleico, el cual es un ácido graso poliinsaturado. Estos resultados muestran que la MC contiene predominantemente TAGs estructuralmente simétricos (SOS) y TAGs trisaturados; en contraste el aceite de canola mostró una composición de TAGs de alto nivel de mono-insaturación (OOO, LnOO) y el aceite de soya una composición de TAGs con ácidos grasos tri-insaturados (LnLnLn, LnLnO y LnOO). Lo anterior da por resultado el que, al encontrarse en mezcla, los TAGs de la MC sean estructuralmente segregados de la fase de TAGs insaturados, particularmente en mezclas de MC con aceite de soya.

Considerando que la longitud de cadena de los ácidos grasos que constituyen los TAGs de la GBA van de 2 hasta 24 carbonos y que a su vez pueden ser mono, di o poliinsaturados, pudiendo tener un gran número de combinaciones posibles dentro de las moléculas de los TAGs. Esto nos lleva a la posibilidad que, al igual que en la MC, los TAGs de la GBA sean estructuralmente segregados de fase líquida de los

TAGs de los aceites vegetales.

5.2. Propiedades de cambio de fase para las mezclas de mantequilla de cacao o grasa butírica anhidra en los aceites vegetales.

Las Figuras 11 y 12 muestran los termogramas de cristalización dinámica de las mezclas de GBA: Aceites vegetales y MC: Aceites vegetales a diferentes proporciones. Entre las mezclas de GBA: Aceite de canola y GBA: Aceite de soya visualmente no se apreció diferencia significativa en el comportamiento de los termogramas de cristalización (Figura 11). En el termograma de cristalización de la GBA pura se observó la presencia de dos exotermas de cristalización, la primera aproximadamente 18°C y se asoció a la cristalización de la fracción de los TAGs con una alta temperatura de fusión (HMF). La segunda exoterma, la mayor de las dos y observada a $\approx 12^\circ\text{C}$, se asoció a la cristalización de la fracción de TAGs con baja temperatura de fusión (LMF). Este comportamiento es congruente con los resultados obtenidos por ten Grontenhuis *et al.* (1999). Es evidente que estas dos exotermas de cristalización de la GBA se mantuvieron constantes prácticamente a todas las proporciones de mezclas evaluadas, únicamente disminuyendo su temperatura de cristalización y magnitud de la exoterma en función directa de la dilución de la GBA en el aceite vegetal. En la mezcla al 15% de GBA solamente se observó la mayor de las exotermas de cristalización (Figura 11).

Por otro lado y de manera similar al comportamiento de las mezclas de GBA en los aceites vegetales, las mezclas de MC: Aceite de canola y MC: Aceite de soya tampoco mostraron diferencias evidentes durante su cristalización dinámica (Figura 12). Del termograma de cristalización de la MC pura se pudo apreciar la presencia de una exoterma bien definida a una temperatura aproximada de 15°C, la cual, al igual que las exotermas observadas en las mezclas de GBA, disminuyó en magnitud y su temperatura de cristalización decreció en función directa de la dilución de la MC en el sistema. La presencia de una sola exoterma de cristalización para la MC pone de manifiesto su composición de TAGs más homogénea en comparación con la GBA.

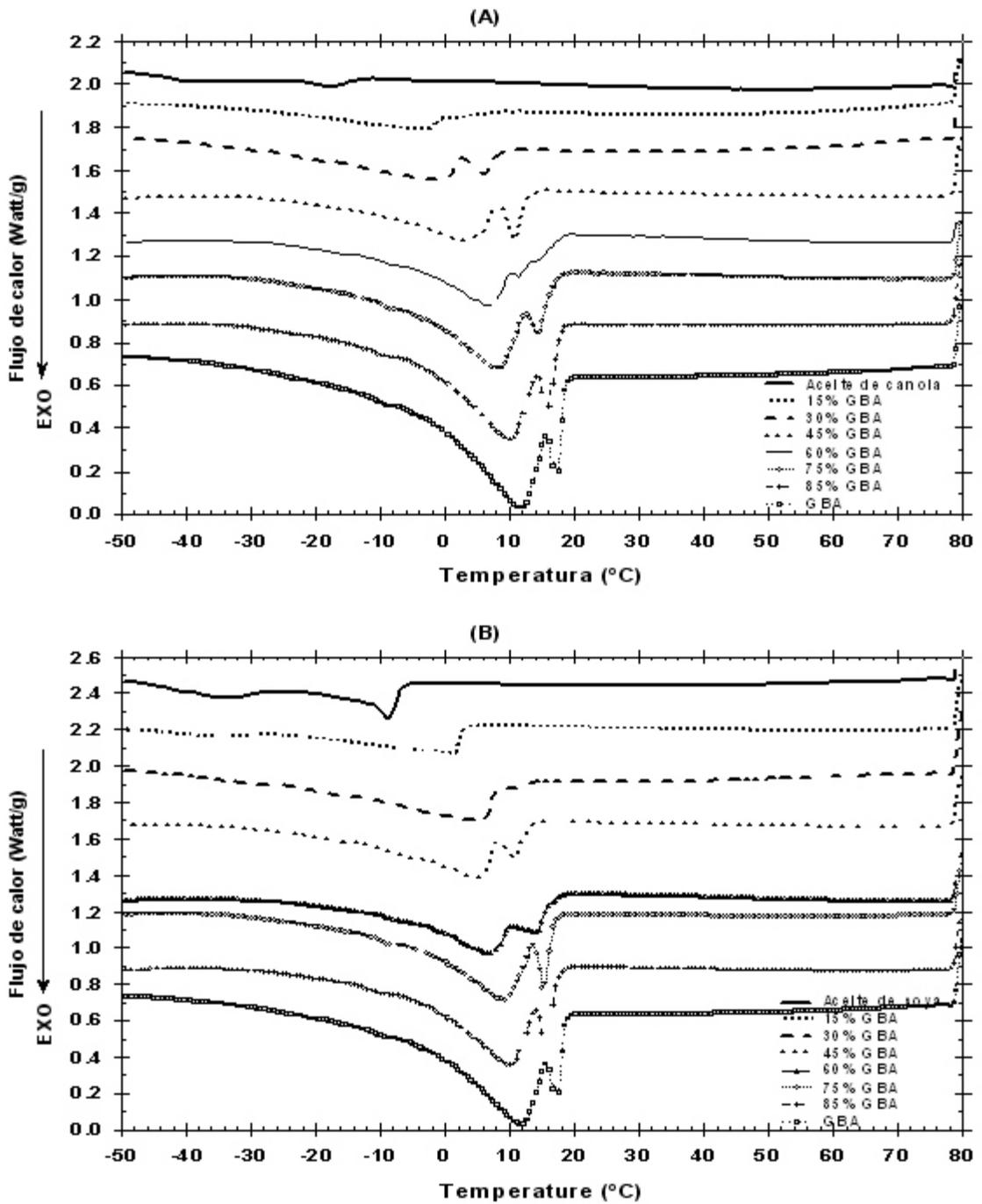


Figura 11. Termogramas de la cristalización dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.

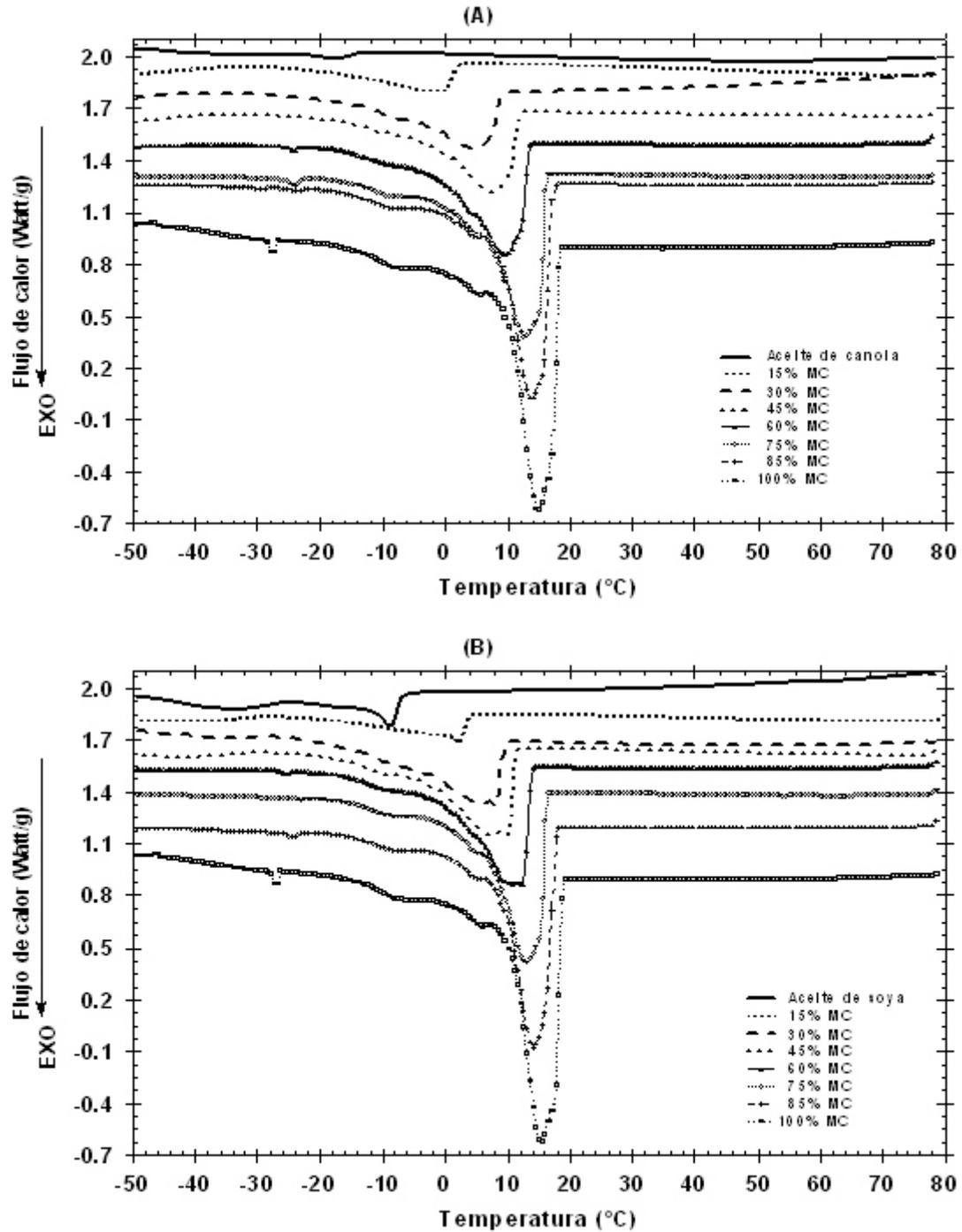


Figura 12. Termogramas de la cristalización dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.

Respecto al comportamiento térmico de fusión de una mezcla de TAGs es, en general, más complejo en comparación al observado en la cristalización. Esto debido a que el proceso de fusión es una combinación de las transiciones polimórficas y de fusión de los diferentes grupos de TAGs que constituyen al sistema. Así, de los termogramas de fusión para las mezclas de la MC (Figura 13) se observaron diferencias en el comportamiento de las mezclas de MC en función del aceite vegetal utilizado. La fusión para el aceite de canola puro (Figura 13A) inició a $\approx -36^{\circ}\text{C}$ y terminó a $\approx -7^{\circ}\text{C}$, este comportamiento se modificó en presencia de la MC. En contraste, el aceite de soya (Figura 13B) observó un inicio de la fusión a $\approx -50^{\circ}\text{C}$, terminando a $\approx 0^{\circ}\text{C}$; sin embargo, a diferencia del aceite de canola (Figura 13A), el perfil de fusión del aceite de soya se mantuvo en el intervalo del 30-100% independientemente de la proporción de MC en las mezclas.

El comportamiento de fusión de las mezclas de MC con los aceites vegetales indicó la existencia de un diferente grado de interacciones moleculares entre los principales TAGs presentes en la MC (del tipo Saturado-Insaturado-Saturado) y los principales TAGs de los aceites de canola y soya. Así, como se observó en el perfil de TAGs del aceite de soya este aceite contiene TAGs con un grado de insaturación más elevado en comparación con los TAGs presentes en el aceite de canola (Cuadro 7). Este hecho limitó las interacciones moleculares de los TAGs del aceite de soya con los principales TAGs de la MC, debido a que los principales TAGs del aceite de soya tuvieron una compatibilidad molecular muy limitada con los TAGs simétricos del tipo SUS y saturados presentes en la MC. Como resultado los TAGs del aceite de soya siguieron un patrón de cristalización y posteriormente de fusión independiente de los TAGs de la MC, esto a todas las proporciones evaluadas. En contraste, dada la composición de los TAGs del aceite de canola (Cuadro 7) estos presentaron un mayor grado de compatibilidad molecular con los principales TAGs de la MC, lo que dio lugar a que se modificara el perfil de fusión del aceite de canola y de la MC en las mezclas (Figura 13A). De forma particular en el perfil de fusión de la MC en las mezclas con el aceite de canola se observó la presencia de un endoterma que incrementó su magnitud en función del incremento de la concentración de MC en las

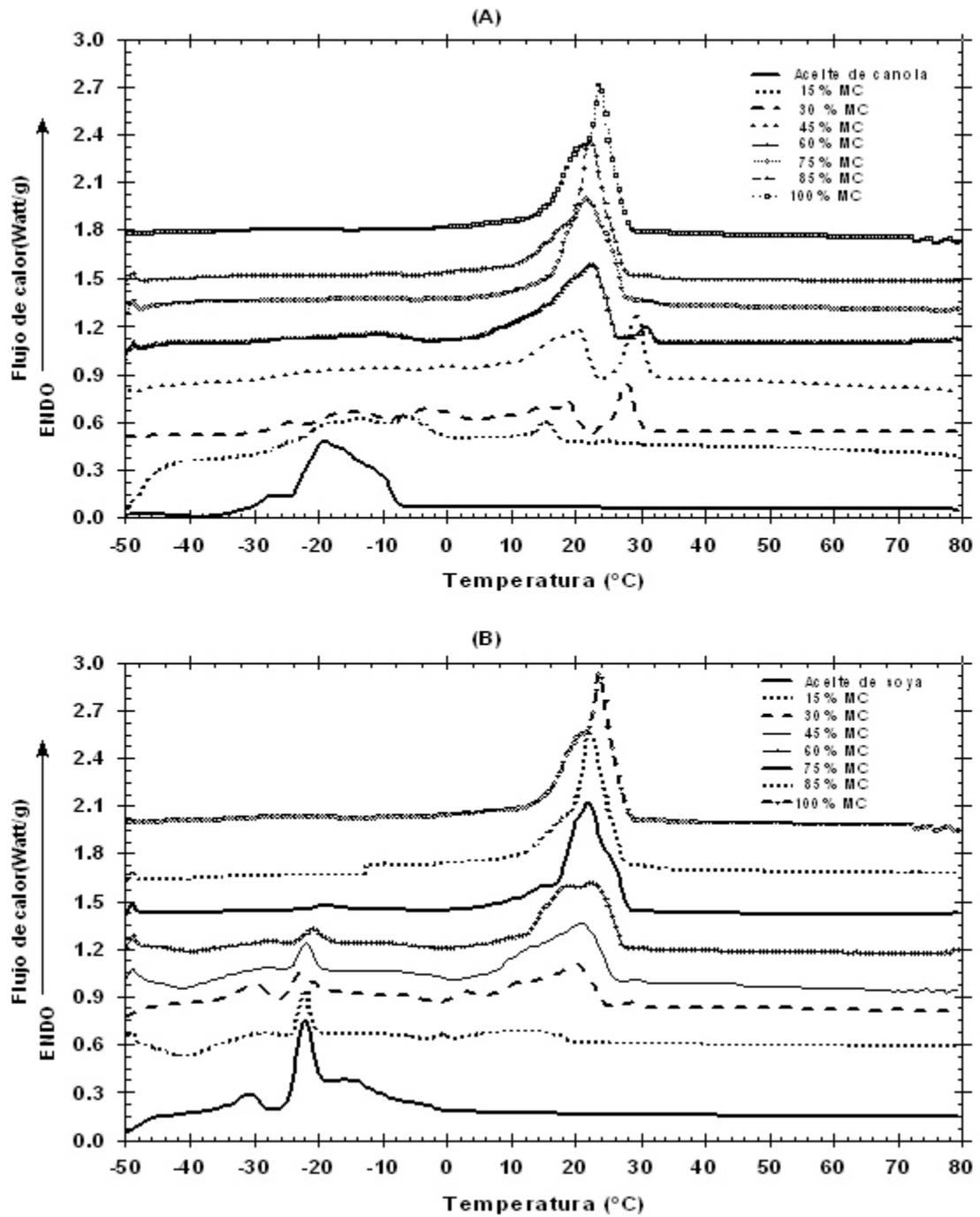


Figura 13. Termogramas de la fusión dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones de MC.

mezclas en el intervalo de 15%-45% y posteriormente esta endoterma decrece en magnitud con un incremento de la concentración de MC en el intervalo de 60%-100% (Figura 13A). En las proporciones de 30% y 45% de MC se aprecia como una exoterma precede a esta endoterma, lo que nos indica la presencia de una transformación polimórfica. Esta exoterma podría estar asociada con el desarrollo del polimorfo β' vía una transición polimórfica $\beta \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$, esto se asume debido a que los TAGs de la MC no cristalizan en la forma β directamente del fundido. Aunque no se descarta que el polimorfo β se haya desarrollado también vía una transición directa $\beta' \rightarrow \beta$, es sabido que la forma polimórfica β' de TAGs de forma simétrica como los que se encuentran presentes en la MC y que se originan directamente del fundido presentan una menor tendencia a una transición $\beta' \rightarrow \beta$, que aquellos formados vía $\beta \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$. Sin embargo no hay que perder de vista que se tiene un decremento en la viscosidad interfacial en la fase cristalizada en las mezclas de MC en comparación con la MC pura, lo que da como resultado un incremento de la movilidad molecular promoviendo de esta manera que la formación de la forma β se de tanto vía $\beta' \rightarrow \beta$ como $\beta \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$ a diferencia de como se da en la MC pura.

Con respecto a los termogramas de fusión de las mezclas de GBA con los aceites de canola y soya se observó un intervalo de fusión más amplio que el mostrado por las mezclas de MC; Aceites vegetales (Figura 14). Esto debido a la mayor heterogeneidad en la composición TAGs, ya que dentro de la moléculas de los TAGs se encuentran ácidos grasos que en función de su longitud de cadena oscilan entre C4 y C24, los cuales a su vez varían en el grado de insaturación. Esto originó el que la GBA presentara un comportamiento de fusión más complejo que el observado en la MC. De las curvas de la fusión para ambos tipos de mezcla de GBA, se observó que el perfil de fusión de los TAGs de los aceites de canola (Figura 14A) y de soya (Figura 14B) se mantuvo independiente de la fusión de los TAGs de la GBA. Comportamiento que se hace evidente al apreciar en los termogramas de fusión como las endotermas características de los aceites de canola (Figura 14A) y soya (Figura 14B) y las propias de la GBA aparecen de manera independiente a todas las proporciones las mezclas investigadas. En el caso de la GBA pura se observó la presencia de tres endotermas de fusión, la

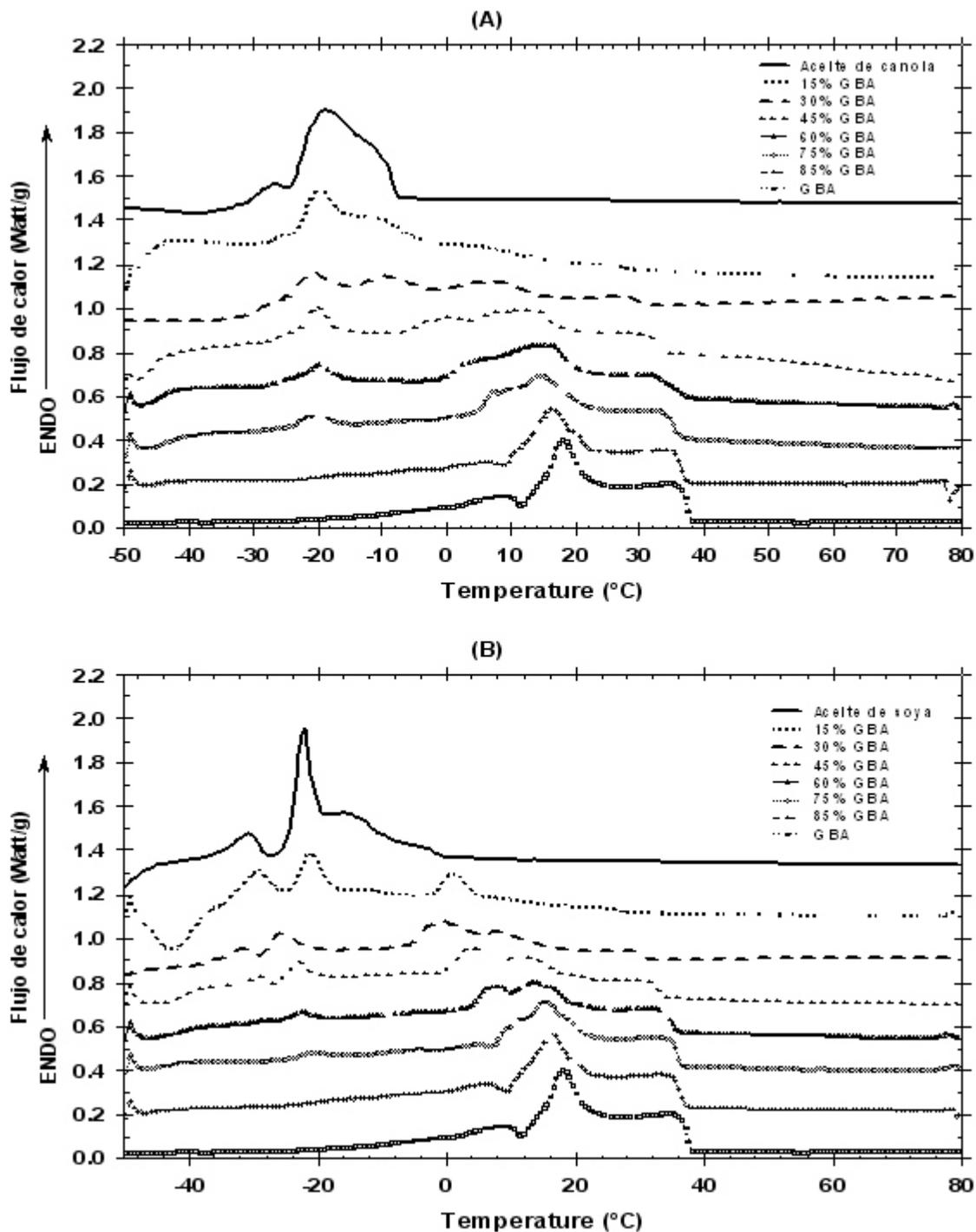


Figura 14. Termogramas de la fusión dinámica obtenidos por calorimetría diferencial de barrido de mezclas de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya a diferentes proporciones.

primera que inició a $\approx -10^{\circ}\text{C}$ y terminó $\approx 12^{\circ}\text{C}$ valor donde inició la segunda endoterma que finalizó a $\approx 24^{\circ}\text{C}$. La tercer endoterma inició a $\approx 24^{\circ}\text{C}$ para terminar a $\approx 37^{\circ}\text{C}$. Este perfil de fusión de la GBA se conservó en las mezclas con los aceites vegetales, independientemente de la proporción de la GBA en la mezcla (Figura 14). Es importante remarcar que la fusión representa una combinación de las transiciones polimórficas de los TAGs cristalizados así como la fusión de los diferentes TAGs que constituyen las 3 fracciones principales identificadas en la GBA, LMF, MMF y HMF. En base al estudio hecho por varios autores se demostró que la primer endoterma de fusión fue el resultado de la fusión de los cristales de TAGs de las fracciones de LMH y MMH cristalizadas en la forma β' , la segunda endoterma fue asignada a la fusión de los TAGs de la fracción HMF cristalizados en forma β y, finalmente, la tercer endoterma se asignó a la fusión de los cristales en forma β de los TAGs de la fracción de HMF (Timms, 1980; ten Grotenhuis *et al.*, 1999). El área tan amplia y la forma poco definida que presenta la última endoterma de fusión puede ser asociada a que la fracción HMF se encuentra en una forma polimórfica mas estable, lo que ocasiona el que se requiera una cantidad de calor mayor para fundir dichos cristales.

De los termogramas de cristalización dinámica y fusión correspondiente se calcularon la temperatura de inicio (onset) de cristalización dinámica (T_o) y la temperatura final de la fusión (T_f), respectivamente, para cada una de las mezclas de MC y GBA en los aceites vegetales. Estas temperaturas se graficaron en función de la proporción de MC o GBA. La Figura 15 muestra el gráfico resultante. Se observó como, independientemente del tipo de aceite en las mezclas, T_o y T_f disminuyeron de forma lineal conforme se disminuyó la concentración de MC o GBA en las mezclas. Este decrecimiento lineal se observó, para el caso de las mezclas con MC en el intervalo entre 100% de MC hasta 30% de MC, y para el caso de las mezclas con GBA en el intervalo entre 100% de GBA hasta 60% de GBA. Por abajo de estas concentraciones de MC y GBA el decrecimiento de T_o y T_f fue más acentuado, particularmente en el caso de las mezclas con MC (Figura 15). Este comportamiento se asoció a que, independientemente del tipo de aceite, para las mezclas entre 100% y 30% de MC y entre 100% y 60% de GBA no ocurrió

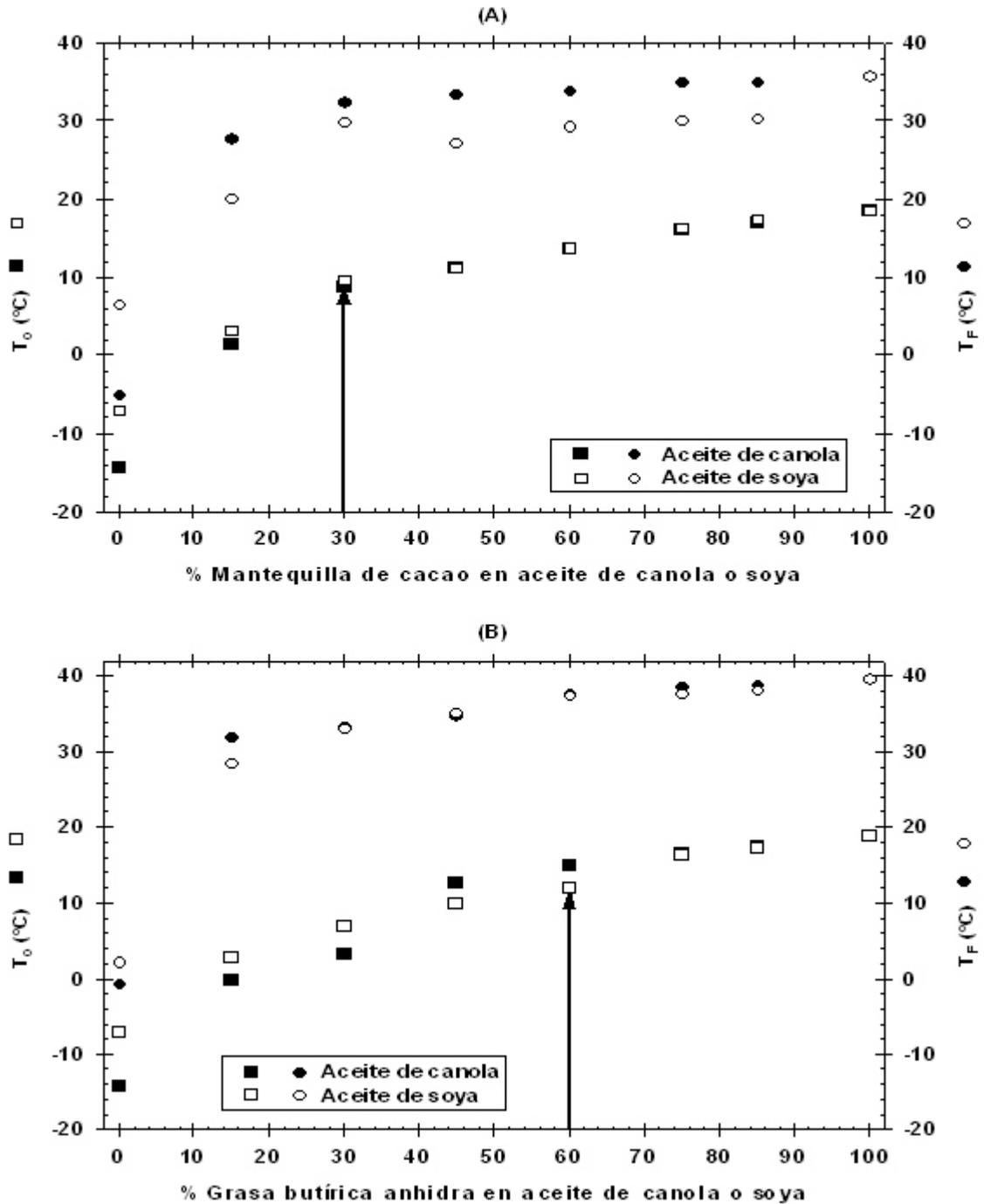


Figura 15. Comportamiento de la temperatura de inicio (onset) de cristalización dinámica (T_o) y la temperatura final de la fusión (T_F) en función de la proporción de mantequilla de cacao (A) y grasa butírica anhidra (B) en mezclas con aceite de canola o aceite de soya.

el desarrollo de cristales mixtos entre los TAGs de la MC o GBA con TAGs de los aceites vegetales. Esto es, los TAGs de la MC y de la GBA cristalizaron de manera independiente a los TAGs de los aceites vegetales. Sin embargo, por abajo del 30% de MC y del 60% en GBA en las mezclas el acentuamiento en el decrecimiento de los valores de T_o y T_F indicó que en estas condiciones los TAGs de la MC y de la GBA y algunos TAGs de los aceites vegetales desarrollaron cristales mixtos con valores de T_o y T_F menores a los observados por los cristales de MC y GBA. Autores como Toro-Vazquez y Gallegos-Infante (1996) han reportado comportamientos similares en diferentes sistemas de TAGs.

Sobre la base del comportamiento de T_o y T_F en las mezclas de MC y GBA (Figura 15) se estableció que la mezcla 30%MC:Aceite vegetal es la proporción mínima en la cual todavía se conservan las características de cambio de fase asociadas a los TAGs de la MC. De manera similar para las mezclas de GBA:Aceite vegetal la mezcla al 60% de GBA es el porcentaje mínimo en la mezcla en donde aún se mantienen las propiedades de cambio de fase asociadas a la GBA. Basados en estos resultados los estudios posteriores se realizaron, para el caso de la MC, con la mezcla de 30%MC:Aceite vegetal y para el caso de la GBA con la mezcla al 60% GBA:Aceite vegetal, independientemente del tipo de aceite vegetal.

5.3. Cinéticas de cristalización bajo condiciones isotérmicas.

La cinética de la cristalización isotérmica en función del tiempo de las mezclas de 30% de MC y de 60% de GBA en los aceites vegetales se prestan en las Figuras 16 y 17, respectivamente. En el caso de las mezclas al 30% de MC en los aceites vegetales (Figura 16) las mezclas mostraron un comportamiento muy semejante al observado en otros estudios para la MC pura (Toro-Vazquez *et al.*, 2004), con la diferencia de que en el presente estudio la cristalización de la MC en las mezclas ocurrieron a temperatura más baja que cuando la MC se encuentra en estado puro (18°C a 22°C) (Toro-Vazquez *et al.*, 2004). En los termogramas de las mezclas de MC (Figura 16) se observaron dos exotermas de cristalización. Como se describió previamente los TAGs de la MC fueron los únicos que cristalizaron en las mezclas, por lo que basados en los

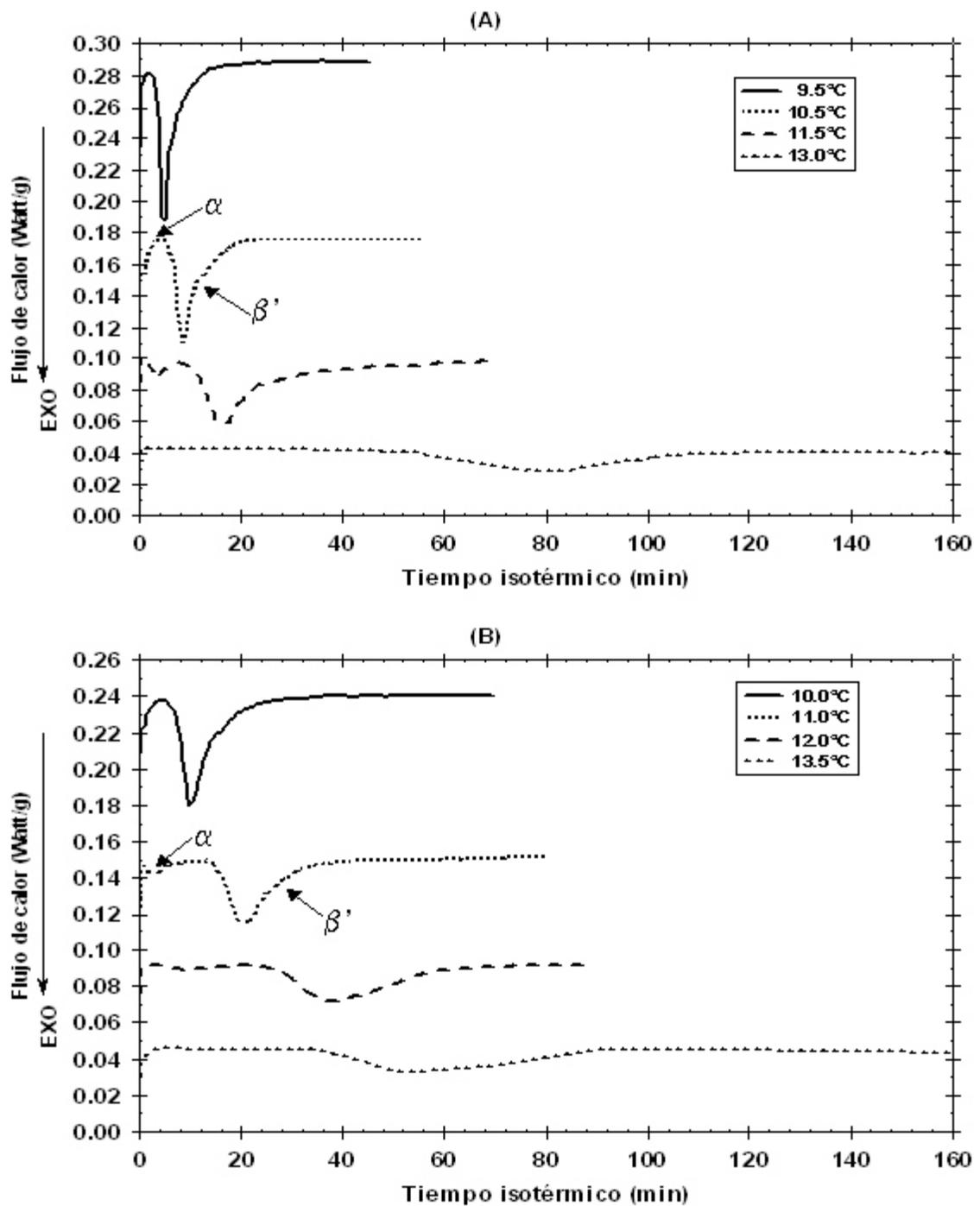


Figura 16. Termogramas de cristalización en función del tiempo a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica (T_{Cr}) para las mezcla de 30% de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya.

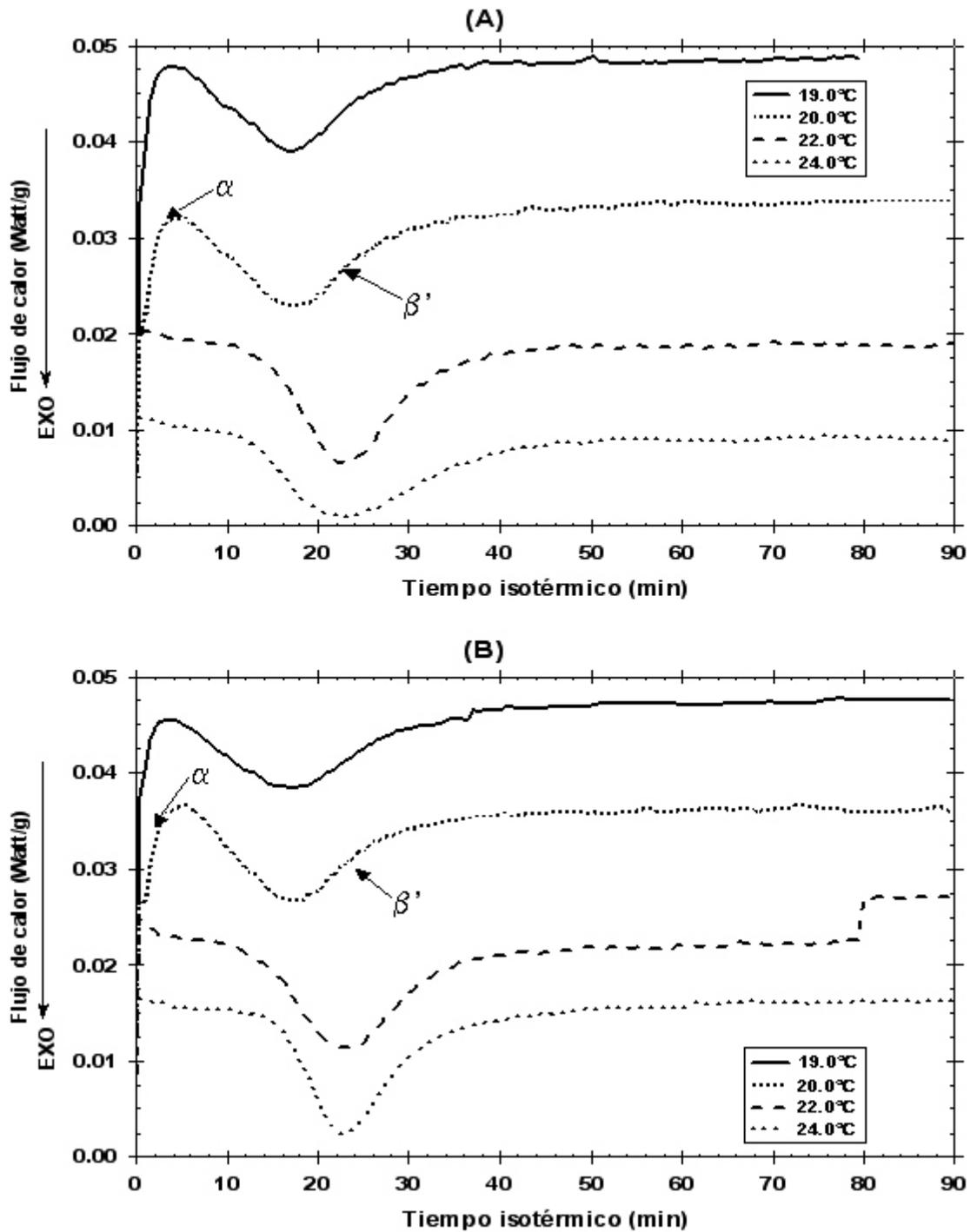


Figura 17. Termogramas de cristalización en función del tiempo a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica (T_{Cr}) para las mezclas de 60% de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya.

diagramas de fase de tiempo-temperatura obtenidos por difracción de rayos X por van Malssen *et al.* (1999) para MC pura, se hizo la asignación de la primera exoterma de cristalización al polimorfo β y la segunda exoterma al polimorfo β' . Para los dos tipos de mezclas de MC evaluadas se observó que la magnitud de la exoterma asociada al polimorfo β presentó una relación inversa con la temperatura de cristalización isotérmica (T_{Cr}), es decir que conforme se incrementó T_{Cr} la exoterma del polimorfo β disminuyó, hasta que llega a ser imperceptible a las T_{Cr} más elevadas (Figura 16). En lo que respecta a la exoterma correspondiente al polimorfo β' esta se desplazó hacia tiempos más elevados de cristalización en función del incremento en T_{Cr} (Figura 16). También se observó que en la mezcla de 30%MC:Aceite de canola exoterma de cristalización apareció a tiempos de inducción a la cristalización más cortos que los observados en la mezcla de MC:Aceite de soya. Estos resultados sugieren que la MC en la mezcla de 30%MC:Aceite de canola cristalizó más rápidamente que en la mezcla 30%MC:Aceite de soya.

De los termogramas de la cristalización isotérmica para las mezclas de GBA (Figura 17) se observó un comportamiento muy semejante al que presentó la GBA pura en el estudio realizado por ten Grotenhuis *et al.* (1999), utilizaron algunas temperaturas similares (10°C a 20°C) a las empleadas en el presente estudio (19°C a 24°C) y reportan la presencia de dos exotermas de cristalización para la GBA pura, las cuales en base a los estudios de difracción de rayos X que realizaron establecieron que la primera exoterma correspondió al polimorfo β y la segunda a la forma β' . En los termogramas correspondientes a la cristalización isotérmica de las mezclas de GBA (Figura 17) se observó también la presencia de dos exotermas de cristalización. Considerando que al igual que en las mezclas de la MC, los TAGs de la GBA son los únicos que están cristalizados en las mezclas de la GBA y en base a los resultados obtenidos por ten Grotenhuis *et al.* (1999), la primera exoterma fue asignada a la forma polimórfica β y la segunda exoterma a β' . En ambas mezclas de la GBA se pudo observar que la magnitud de la exoterma correspondiente al polimorfo β fue disminuyendo conforme se incrementó la T_{Cr} , hasta que a las temperaturas más elevadas desapareció (Figura 17). En cuanto a la exoterma del polimorfo β' , esta

desplazó hacia tiempos de inducción a la cristalización mayores en función directa del incremento en la T_{Cr} . Sin embargo, en comparación con las mezclas de MC, no se observó diferencia entre los tiempos de inducción a la cristalización de la mezcla de 60%GBA:aceite de canola y la mezcla 60%GBA:aceite de soya (Figura 17).

Los termogramas de la fusión correspondientes a los dos tipos de mezclas de MC cristalizada a diferentes T_{Cr} se muestran en la Figura 18. Todas las T_{Cr} en ambos tipos de mezclas de MC mostraron la presencia de dos endotermas de fusión. Para la fusión de la MC pura se ha observado la presencia de una sola endoterma de fusión correspondiente a la forma polimórfica β' (van Malssen *et al.*, 1999). En base a esto se asumió que la primer endoterma obtenida en la fusión de las mezclas de MC, correspondió a la fusión de los cristales β' y la segunda endoterma a la fusión de la forma polimórfica β . El polimorfo β , probablemente se desarrolló mediante una transición polimórfica $\beta \rightarrow \beta' \rightarrow \beta$, la cual se dio durante el tiempo que duró la cristalización isotérmica y el periodo de calentamiento para la fusión de las mezclas. Los TAGs de la MC no nuclean en la forma β directamente del fundido. Además como demostró Gibbon *et al.* (1986) los TAGs simétricos (como los que se encuentran presentes en la MC) que cristalizan directamente del fundido en la forma β' , son poco propensos a sufrir una transformación polimórfica vía $\beta' \rightarrow \beta$. Por lo tanto la presencia del polimorfo β fue necesaria para la formación de los cristales

De los termogramas de la fusión para las mezclas de la GBA (Figura 19) en ambos tipos de mezclas se observó la presencia de tres endotermas de fusión a las temperaturas de 19.0° y 20.0°C, mientras que a las temperaturas de 22.0° y 24.0°C el tercer pico desaparece. En un estudio realizado por Mazzanti *et al.*(2004) para GBA pura, observaron que a T_{Cr} menores de 20.0°C se tenía la presencia de tres formas polimórficas correspondientes a β , β' y β'' , mientras que para T_{Cr} mayores a 20.0°C únicamente observaron los polimorfos β y β' . Por lo que se asumió que las tres endotermas de fusión observadas a las temperatura de 19.0° y 20.0°C correspondieron, la primera al polimorfo β , la segunda a β' y la tercera a β'' . Para las temperaturas de 22.0° y 24.0°C la primer endoterma de fusión se asoció con el

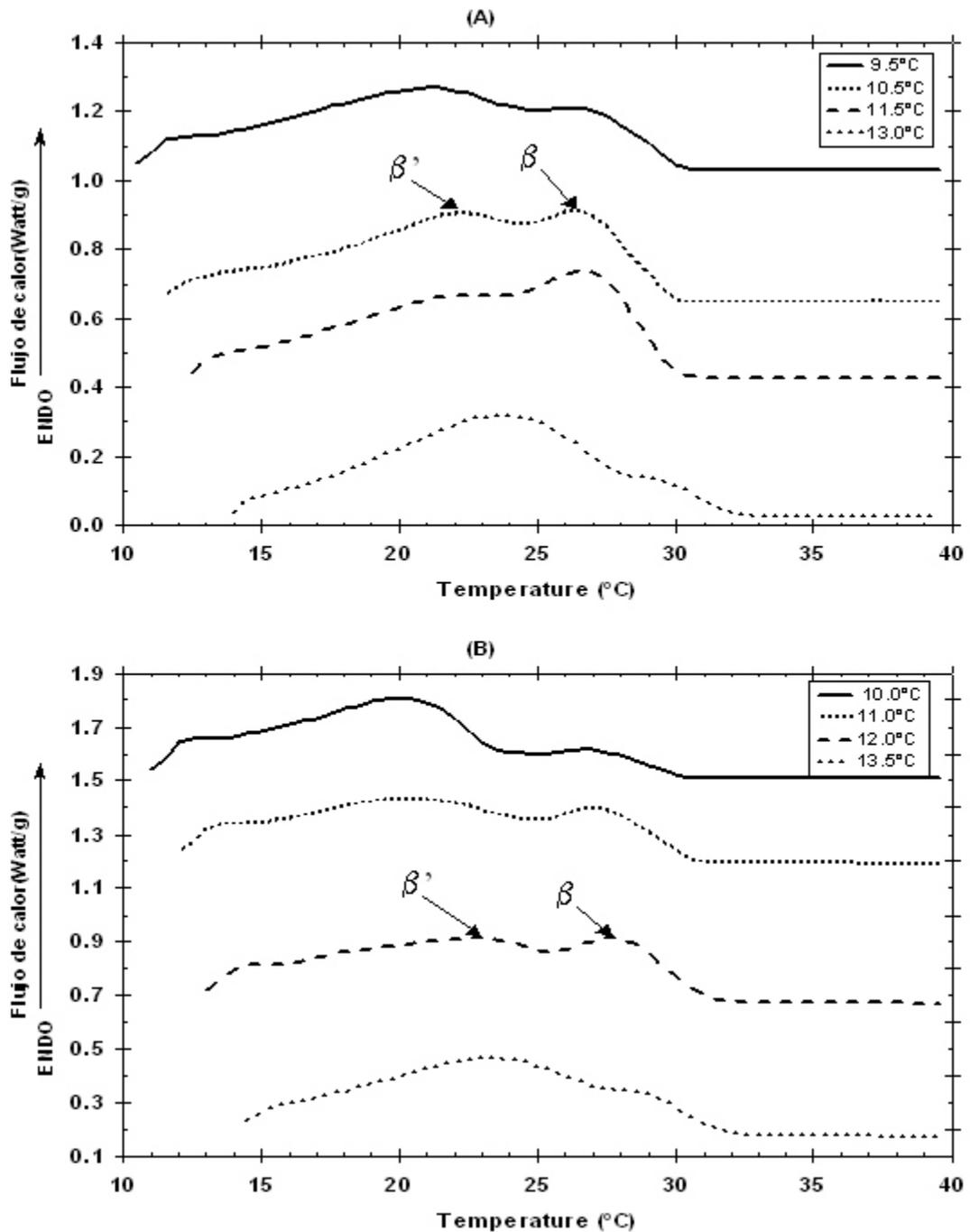


Figura 18. Termogramas de fusión obtenidos después de la cristalización isotérmica para las mezclas de 30% de mantequilla de cacao en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya cristalizadas a diferentes temperaturas de cristalización.

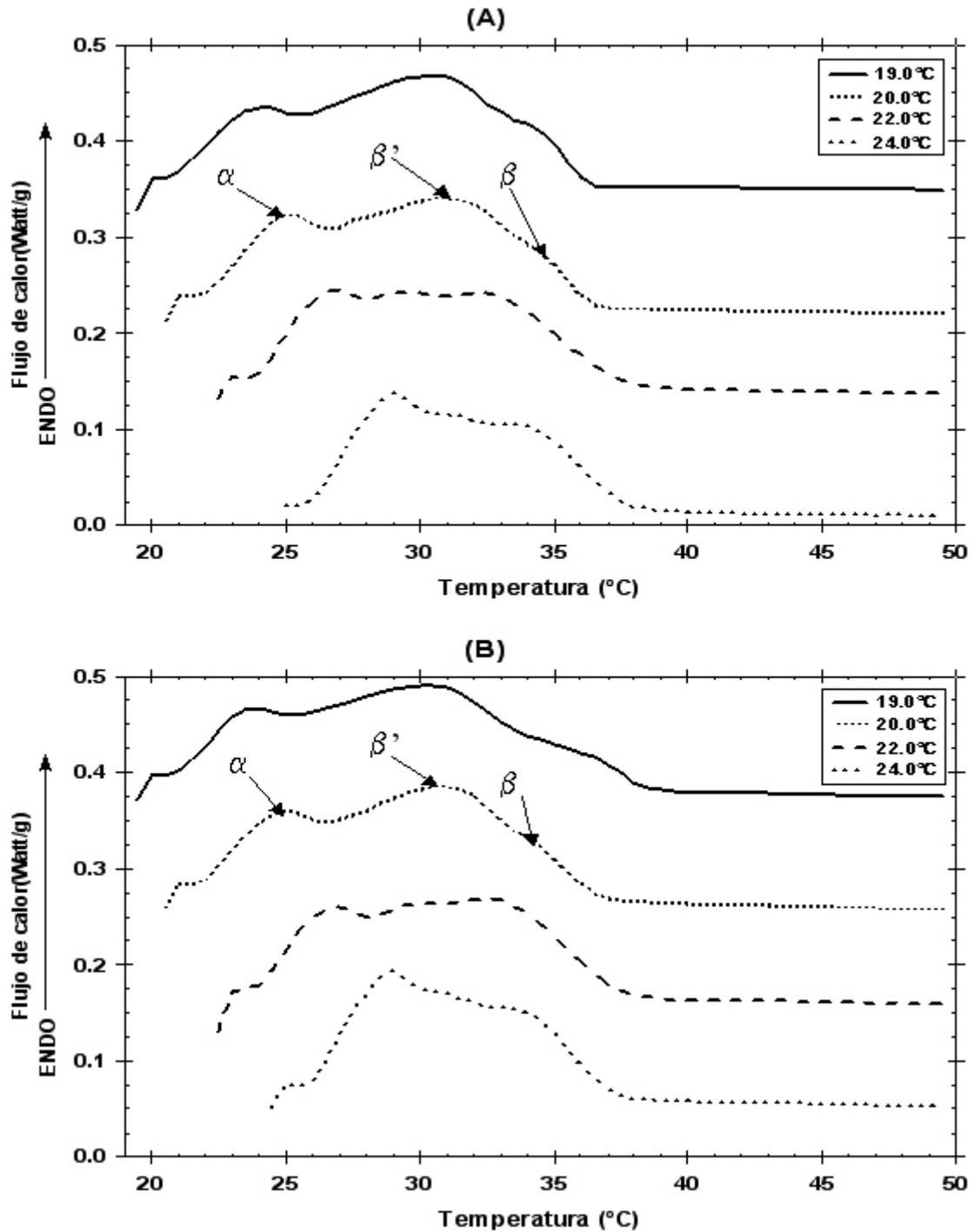


Figura 19. Termogramas de fusión obtenidos después de la cristalización isotérmica para las mezclas de grasa butírica anhidra en (A) aceite de canola y (B) aceite de soya cristalizadas a diferentes temperaturas de cristalización.

polimorfo β' y la segunda endoterma con la forma β' . Igual que en las mezclas de la MC, la presencia del polimorfo β' fue necesaria para que diera la formación del polimorfo β' vía una transición polimórfica $\beta \rightarrow \beta' \rightarrow \beta'$ que se dió durante el periodo de cristalización y posterior fusión del sistema. De acuerdo a van Aken *et al.*, (1999) para los TAGs asimétricos del tipo SSU o UUS, los cuales constituyen un gran porcentaje de la composición de la GBA, su forma polimórfica más estable es la forma β' . Por lo tanto es poco probable que la formación del polimorfo β' se origine mediante una transformación polimórfica vía $\beta \rightarrow \beta'$. A pesar que a las temperaturas de 22.0° y 24.0°C se observó la presencia de la forma β' , tal vez el tipo de TAGs cristalizados en esta forma polimórfica no fueron los apropiados para que se diera la transición polimórfica a la forma β' . Además a las temperaturas de 22.0° y 24.0 °C la fuerza impulsora para inducir la cristalización fue menor, lo que dio como resultado que la cristalización fuera mas lenta y el sistema tuvo mayor tiempo para poder cristalizar en una forma polimórfica mas estable que en este caso es la forma β' .

De los resultados obtenidos de la fusión de las mezclas de la MC y la GBA las temperaturas de las endotermas de fusión correspondiente al polimorfo β' fueron los valores de temperatura de fusión (T_M') para cada una de las T_{Cr} usadas en cada mezcla que se emplearon para calcular la temperatura de fusión en el equilibrio (T_M°) para cada una de las mezclas, usando la metodología descrita por Hoffman y Weeks (1962) como lo describió previamente Toro-Vazquez *et al.*(2000). T_M° es la temperatura a la cual el más pequeño agregado de moléculas (cristales inestables de TAGs) se encuentran en equilibrio con las molecula de la fase líquida. El valor de T_M° sirve para poder calcular el grado de superenfriamiento efectivo ($T_{Cr} - T_M^\circ$) que se aplicó a cada sistema en función de la T_{Cr} .

Para la mezcla de 30%MC:Aceite de canola el valor de T_M° fue de 33.13°C mientras que para 30%MC: Aceite de soya fue de 65.83.°C. El valor de T_M° de la mezcla 30%MC: Aceite de soya fue estadísticamente mayor que el valor obtenido para la mezcla 30%MC: Aceite de canola. Un mayor valor de T_M° para las mezclas de 30%MC: Aceite de soya es indicativo de una menor solubilidad de los TAGs de la

MC en los TAGs de la fase líquida del aceite de soya, esto como se explicó anteriormente puede atribuirse a la poca afinidad estructural entre los TAGs del MC y los TAGs del aceite de soya. En base a los valores de T_M° para las mezclas de la MC se encontró que la mezcla de 30%MC: Aceite de soya fue la que tuvo condiciones de superenfriamiento efectivo mayor en comparación a la mezcla de 30%MC: Aceite de soya canola.

En las mezclas de 60%GBA:Aceite de canola y 60%GBA:Aceite de soya los valores de T_M° fueron de 57.20° y 59.88°C respectivamente. Estos valores obtenidos de T_M° para ambas mezclas de la GBA fueron estadísticamente iguales ($p < 0.10$). Los valores tan altos de T_M° en ambas mezclas de la GBA ponen nuevamente de manifiesto la poca compatibilidad de los TAGs de la GBA con los TAGs de ambos aceites, debido a la heterogeneidad de la composición de TAGs de la GBA lo que da como resultado una baja solubilidad de los TAGs de la GBA con los TAGs de los aceites vegetales. Las condiciones del superenfriamiento efectivo obtenidas para cada una de las T_{Cr} en ambas mezclas de la GBA fueron estadísticamente iguales ($p < 0.10$).

5.4 . Contenido de grasa sólida (SFC) y cálculo de los parámetros de la ecuación de Avrami para las mezclas.

La cinética de la cristalización isotérmica también fue evaluada mediante la determinación del contenido de grasa sólida (SFC) en función del tiempo mediante resonancia magnética nuclear (RMN). Como ejemplo se muestran las curvas del SFC en función del tiempo para la mezcla de 30%MC: Aceite de canola (Figura 20A) y la mezcla de 60%GBA: Aceite de canola (Figura 20B). Se observa que las curvas del SFC para la mezcla de 30%MC: Aceite de canola y la mezcla de 60%GBA: Aceite de canola a todas las T_{Cr} evaluadas presentaron un comportamiento sigmoide. En una etapa inicial la formación de la fase sólida se dio muy lentamente, luego se dio de forma exponencial hasta alcanzar finalmente una meseta donde los valores de SFC fueron prácticamente constantes. El punto donde el valor de SFC se mantuvo constante, se denominó SFC en el equilibrio (SFC_{eq}). De las curvas de SFC (Figura 20)

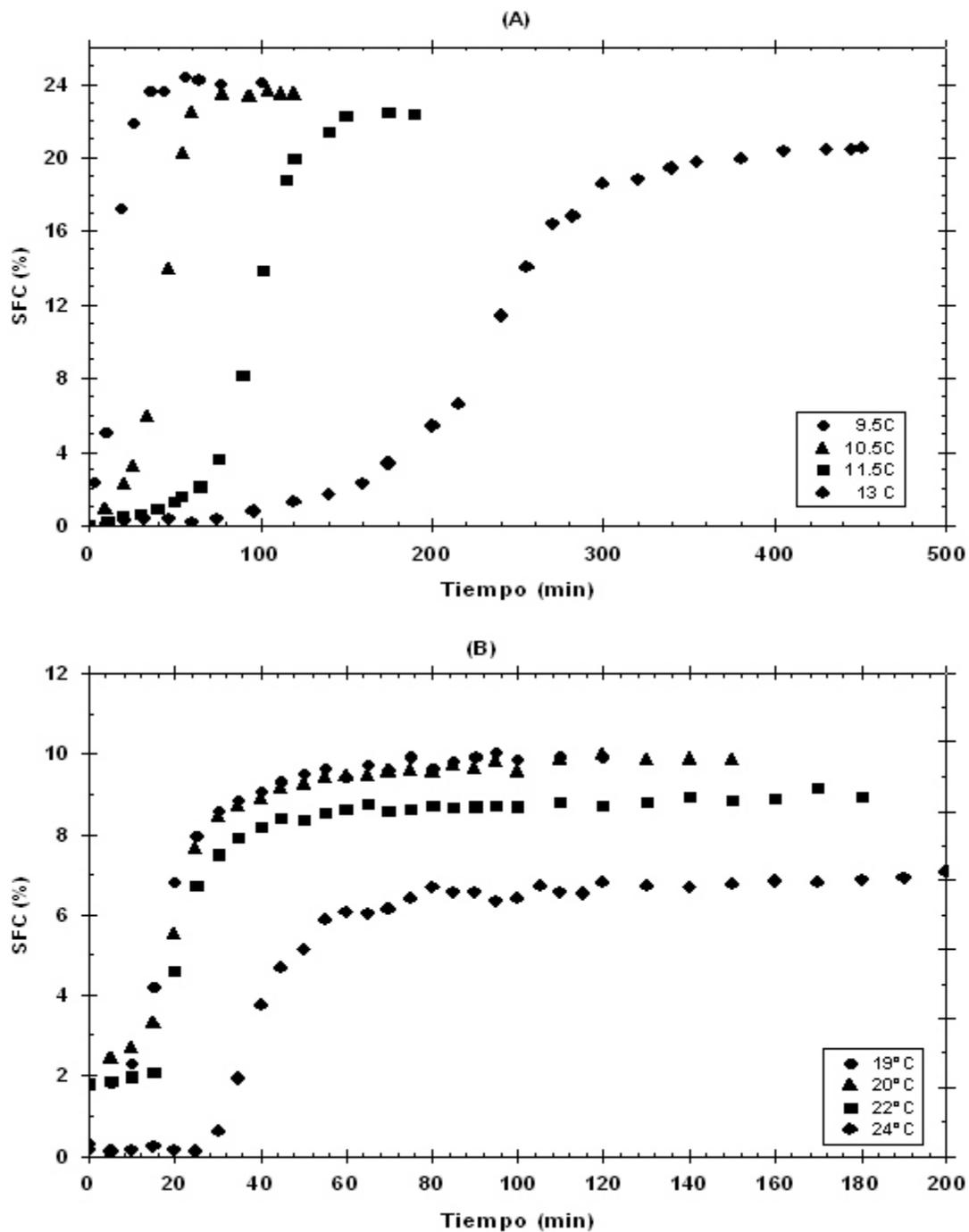


Figura 20. Curvas del contenido de grasa sólida (SFC) en % a diferentes temperaturas de cristalización isotérmica para la mezcla de (A) 30%MC: Aceite de canola y (B) 60%GBA: Aceite de canola en función del tiempo

se puede observar que los valores de SFC_{eq} se alcanzaron después de largos periodos de cristalización. Para las mezclas de 30%MC: Aceite de soya y 60%GBA: Aceite de soya se observó el mismo comportamiento.

La figura 21 muestra las gráficas del SFC_{eq} en función de la T_{Cr} para las mezclas de 30% MC y 60% GBA. De estas graficas se observa que independientemente de la mezcla evaluada existió un efecto de la T_{Cr} sobre la formación de la fase sólido, ya que conforme se incrementó la T_{Cr} se requirió de mayor tiempo para inducir la cristalización del sistema. Además la T_{Cr} también tuvo un efecto inverso sobre el porcentaje de fase sólida formada al final del periodo de la cristalización, así se aprecia que conforme la T_{Cr} incrementó el valor de SFC_{eq} disminuyó (Figura 21).

En base a lo anterior para la MC independientemente del aceite utilizado el mayor valor para SFC_{eq} se esperaba a la menor T_{Cr} empleada la cual fue 9.5 °C para la mezcla de 30%MC: Aceite de canola (Cuadro 8), sin embargo el valor obtenido a 10.0° y 11.0 °C para la mezcla de 30%MC:Aceite soya fue estadísticamente mayor ($p < 0.05$). De igual manera el valor obtenido a 13.5°C para la mezcla de 30%MC:Aceite soya fue estadísticamente mayor que el valor para 13.0°C en la mezcla de 30%MC: Aceite de canola. Este comportamiento puede ser explicado empleando el término del superenfriamiento. El superenfriamiento presentó un efecto directo sobre el valor de SFC_{eq} , por lo que el valor de SFC_{eq} incrementó conforme el superenfriamiento incrementó también. Como se mencionó anteriormente el superenfriamiento fue mayor a las diferentes T_{Cr} de la mezcla de 30%MC:Aceite soya en comparación al obtenido para las T_{Cr} de la mezcla de 30%MC: Aceite de canola. Así las mayores condiciones de superenfriamiento se encontraron a las temperaturas de 10.0° y 11.0°C en la mezcla de 30%MC:Aceite soya por lo que el mayor valor de SFC_{eq} se obtuvo a estas temperaturas. Mientras el menor valor de SFC_{eq} se obtuvo a los 13.0°C en la mezcla de 30%MC: Aceite canola que fue la temperatura que presentó el menor superenfriamiento.

En el Cuadro 9 se muestran los valores correspondientes a SFC_{eq} a cada una de las T_{Cr} evaluadas para los dos tipos de mezclas de la GBA. Los valores de SFC en

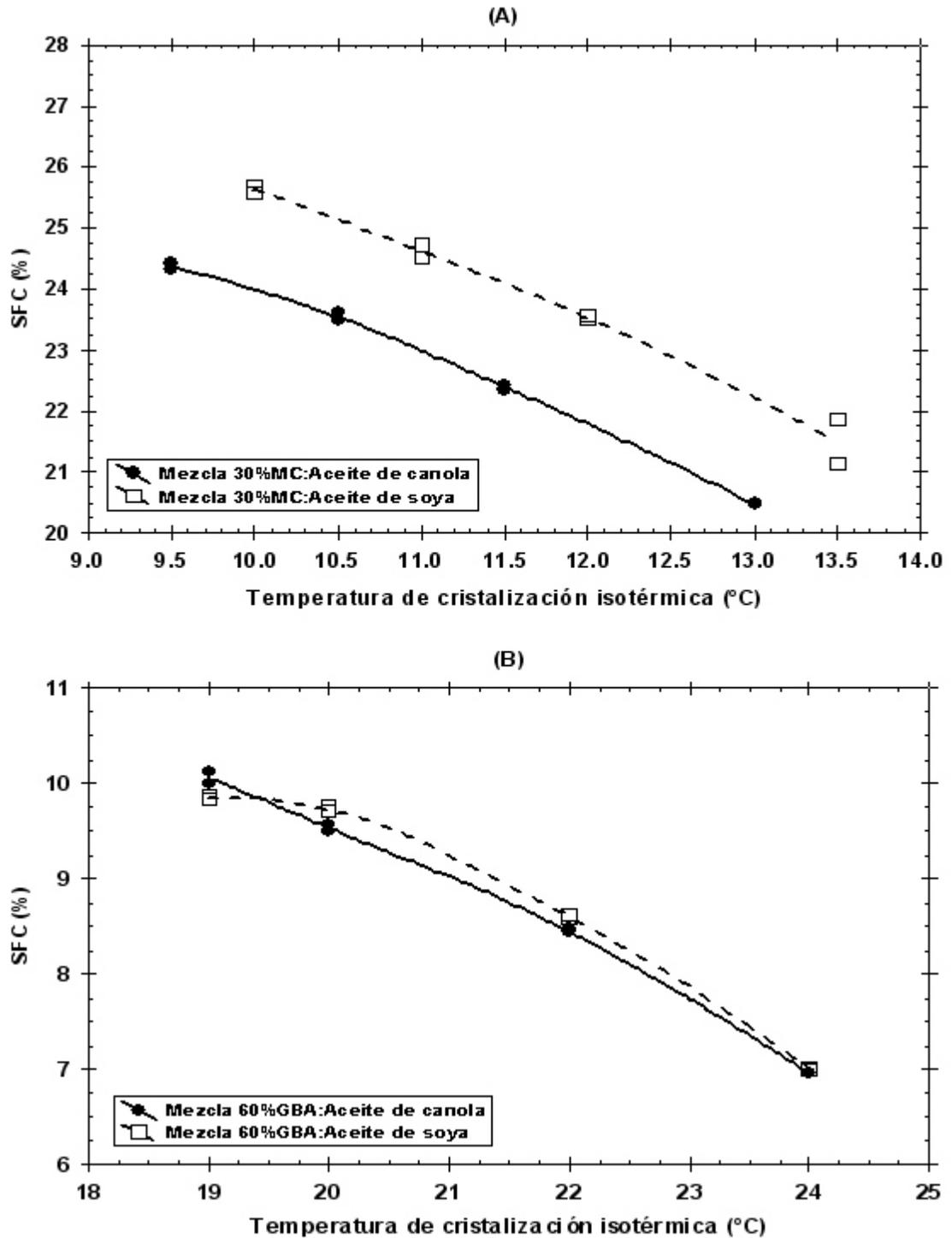


Figura 21. Valores del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) en % en función de la temperatura de cristalización isotérmica (T_{cr}) para las mezclas de (A) 30% de mantequilla de cacao y (B) 60% de grasa butírica anhidra.

Cuadro 8. Contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}), superenfriamiento efectivo, Índice de Avrami (n) y constante de velocidad de cristalización (z) para las mezclas de 30%MC: Aceite de canola y 30%MC: Aceite de soya en función de la temperatura de cristalización (T_{Cr}).

30%MC: Aceite de canola^a

T_{Cr} (°C)	SFC_{eq} (%)	$z \times 10^{-7}$ (min ⁻ⁿ)	n
9.5	24.4 (0.2)	352.7 (15.5)	2.82 (0.39)
10.5	23.6 (0.0)	4.76 (0.273)	3.44 (0.11)
11.5	22.5 (0.0)	1.42 (0.195)	3.59 (0.44)
13.0	20.7 (0.0)	0.030 (0.002)	3.60 (0.04)

30%MC: Aceite de soya^a

T_{Cr} (°C)	SFC_{eq} (%)	$z \times 10^{-7}$ (min ⁻ⁿ)	n
10.0	26.3 (1.0)	102.1 (12.4)	3.34 (0.26)
11.0	25.2 (0.9)	19.41 (1.07)	3.25 (0.20)
12.0	24.2 (0.9)	31.20 (4.39)	3.42 (0.81)
13.5	22.1 (0.4)	0.024 (0.001)	4.16 (0.25)

^a Para cada medición se muestra la media y la desviación estándar de al menos dos determinaciones independientes.

Cuadro 9. Contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}), superenfriamiento efectivo, Índice de Avrami (n) y constante de velocidad de cristalización (z) para las mezclas de GBA:Canola y GBA:Soya en función de la temperatura de cristalización (T_{cr}).

60%GBA:Aceite de canola^a

T_{Cr} (°C)	SFC_{eq} (%)	$z \times 10^{-4}$ (min ⁻ⁿ)	n
19.0	10.06 (0.2)	153.4(38.41)	1.39 (0.10)
20.0	9.53 (0.0)	19.40(5.62)	1.94 (0.09)
22.0	8.45 (0.0)	1.31(0.328)	2.73 (0.09)
24.0	6.95 (0.0)	0.21(0.001)	3.38 (0.02)

60%GBA:Aceite de soya^a

T_{Cr} (°C)	SFC_{eq} (%)	$z \times 10^{-4}$ (min ⁻ⁿ)	n
19.0	9.85 (1.0)	201.6(22.42)	0.66 (0.00)
20.0	9.73 (0.9)	19.76(5.33)	1.90 (0.09)
22.0	8.60 (0.9)	0.125(0.107)	2.74 (0.05)
24.0	7.00 (0.4)	0.014(0.004)	3.70 (0.08)

^a Para cada medición se muestra la media y la desviación estándar de al menos dos determinaciones independientes.

ambas mezclas a cada una de las T_{Cr} fueron estadísticamente iguales ($p < 0.10$). Como se estableció anteriormente, el superenfriamiento para cada una de las T_{Cr} evaluadas fueron estadísticamente iguales para ambas mezclas de la GBA. Se puede observar (Tabla 9) que la mayor condición de superenfriamiento de los dos tipos de mezclas de la GBA fue a los 19.0°C , temperatura a la cual se obtuvo el mayor valor de SFC_{eq} . Mientras que a 24.0°C fue donde se presentó el menor superenfriamiento y por lo tanto donde se obtuvo también el menor valor de SFC_{eq} .

Los valores de los parámetros de la ecuación de Avrami (n y z) que describen la cinética de cristalización isotérmica se determinaron mediante una estimación no lineal como se describió en la sección 4.2.4. En las Tablas 8 y 9 se muestran los valores obtenidos para los parámetros n y z de las mezclas de MC y GBA respectivamente a las diferentes T_{Cr} utilizadas.

Es importante recordar que el valor de n de la ecuación de Avrami es un parámetro sensible al mecanismo de nucleación y a la dimensionalidad del crecimiento del cristal, siempre y cuando el crecimiento del cristal se de en forma libre. Sin embargo el valor de n no proporciona información respecto al tamaño del cristal ni de su forma polimórfica. En la Figura 22 se presentan microfotografías obtenidas por microscopia de luz polarizada (MLP) para la mezcla de 30%MC:Aceite de canola a las temperaturas de 9.5° y 13.0°C (Figuras 22A y B) y para la mezcla de 30%MC:Aceite de soya a 10.0° y 13.5°C (Figuras 22C y D) a diferentes tiempos de cristalización, con la finalidad de mostrar que no existió ningún impedimento que limitara el crecimiento del cristal a los tiempos de cristalización en los cuales el exponente de Avrami n fue determinado.

Al realizar el análisis visual de los videos obtenidos por MLP para los dos tipos de mezclas de la MC se observó que independientemente del aceite vegetal empleado a las T_{Cr} más bajas (9.5° y 10.5°C para 30%MC: Aceite de canola; 10.0° y 11.0°C para 30%MC:Aceite de soya) la nucleación ocurrió instantáneamente. Mientras a las T_{Cr} más altas (11.5° y 13.0°C para 30%MC: Aceite de canola; 12.0° y 13.5°C para 30%MC:Aceite de soya) se observó que la nucleación se dió en forma esporádica.

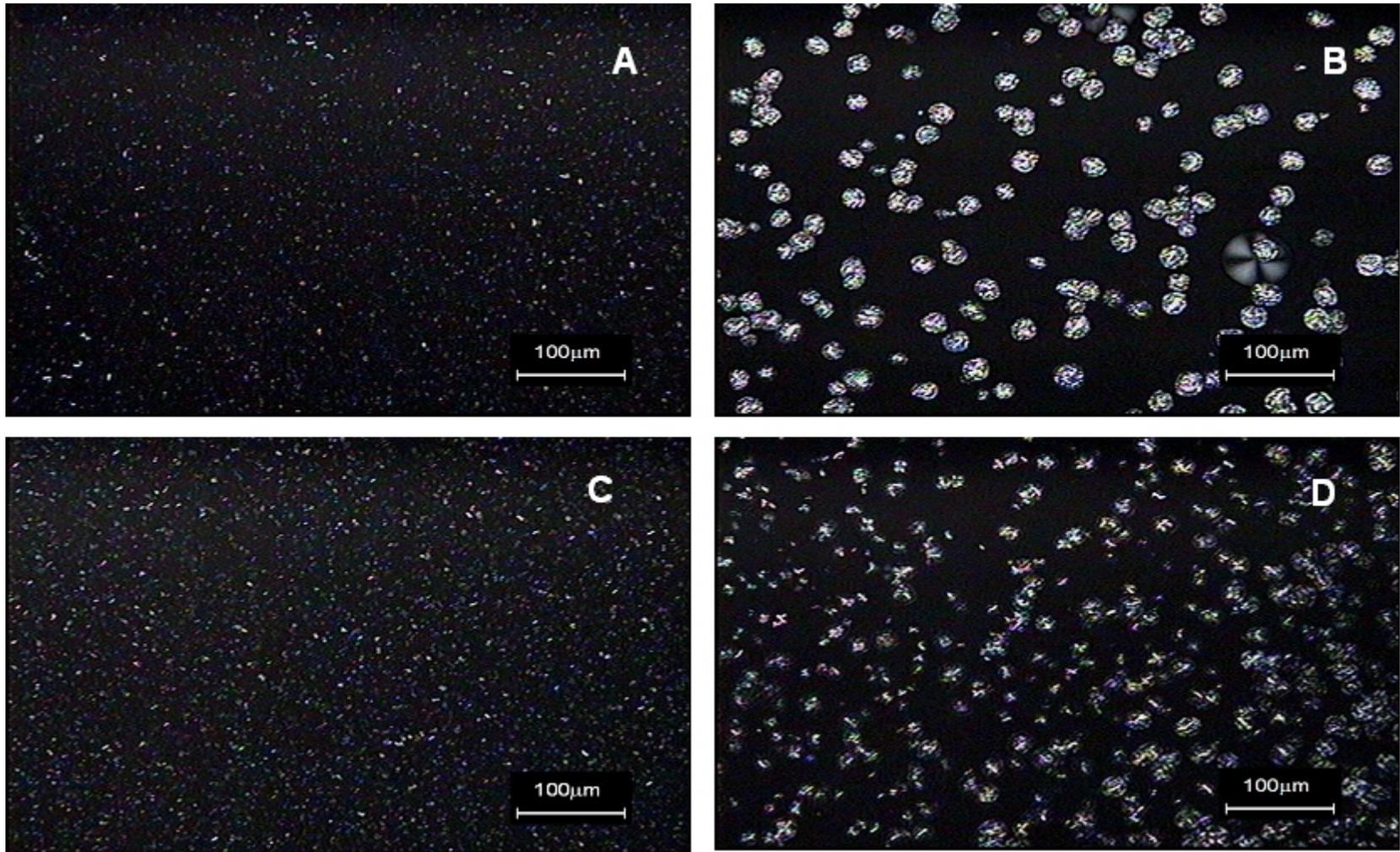


Figura 22. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada de la mezcla de 30%MC:Aceite de canola cristalizada a (A) 9.5°C por 10 min y (B) 13.0°C por 100 min; y de la mezcla de 30%MC:Aceite de soya cristalizada a (C) 10.0°C por 10 min y (D) 13.5°C por 100 min.

Estos resultados muestran que conforme el valor de n incrementó el evento de la nucleación tendió a ser más esporádico, esto comparado con valores de n menores en donde la nucleación se dió en forma instantánea. Tomando en cuenta esta información y considerando que n es una función del tipo de nucleación y la dimensionalidad del proceso de crecimiento del cristal, los valores obtenidos de n para los dos tipos de mezclas de la MC indicaron que a todas las T_{Cr} utilizadas, los TAGs de la MC siguieron un mecanismo de crecimiento de cristal esferulítico. Los valores fraccionados de n pueden ser el resultado de la formación de manera simultánea de dos tipos diferentes de cristales.

En las Figuras 23 y 24 se muestran las microfotografías para la mezclas de 30%MC: Aceite de canola y 30%MC:Aceite de soya respectivamente, correspondientes a los tiempos de cristalización a los que se alcanzaron los valores de SFC_{eq} . De manera evidente se puede observar que después de largos tiempos de cristalización existió la formación de dos tipos diferentes de cristales como indicaron los valores fraccionados de n . Este hecho se puede apreciar bajo ciertas condiciones de cristalización, como en el caso de 11.5° y 13.0°C para la mezcla de 30%MC: Aceite de canola (Figuras 23C y D) 12.0° y 13.5°C para la mezcla de 30%MC: Aceite de soya (Figura 24C y D). Tomando en cuenta los termogramas de la fusión de las mezclas de la MC (Figura 18) y el análisis visual de los videos de MLP, los cristales pequeños se asociaron con la forma polimórfica β' y los cristales de mayor dimensión con el polimorfo β . Particularmente a 13.0°C en la mezcla de 30%MC: Aceite de canola (Figura 23D) y a 13.5°C en la mezcla de 30%MC: Aceite de soya (Figura 24D) la dimensión de los cristales β fue mayor. El desarrollo de estos cristales en ambas mezclas se asoció con un incremento significativo en su temperatura de fusión. Es bien sabido que la MC cristalizada bajo diferentes temperaturas tiene la capacidad de desarrollar el mismo polimorfo con diferente forma y tamaño de cristal. Es importante indicar que la morfología del cristal mas común observada en la MC pura (Toro-Vazquez *et al.*, 2004) no se obtuvo en las mezclas evaluadas. Esto debido tal vez a una menor viscosidad presente en las mezclas en comparación con la viscosidad de la MC pura. La cristalización de las mezclas se dio bajo una menor

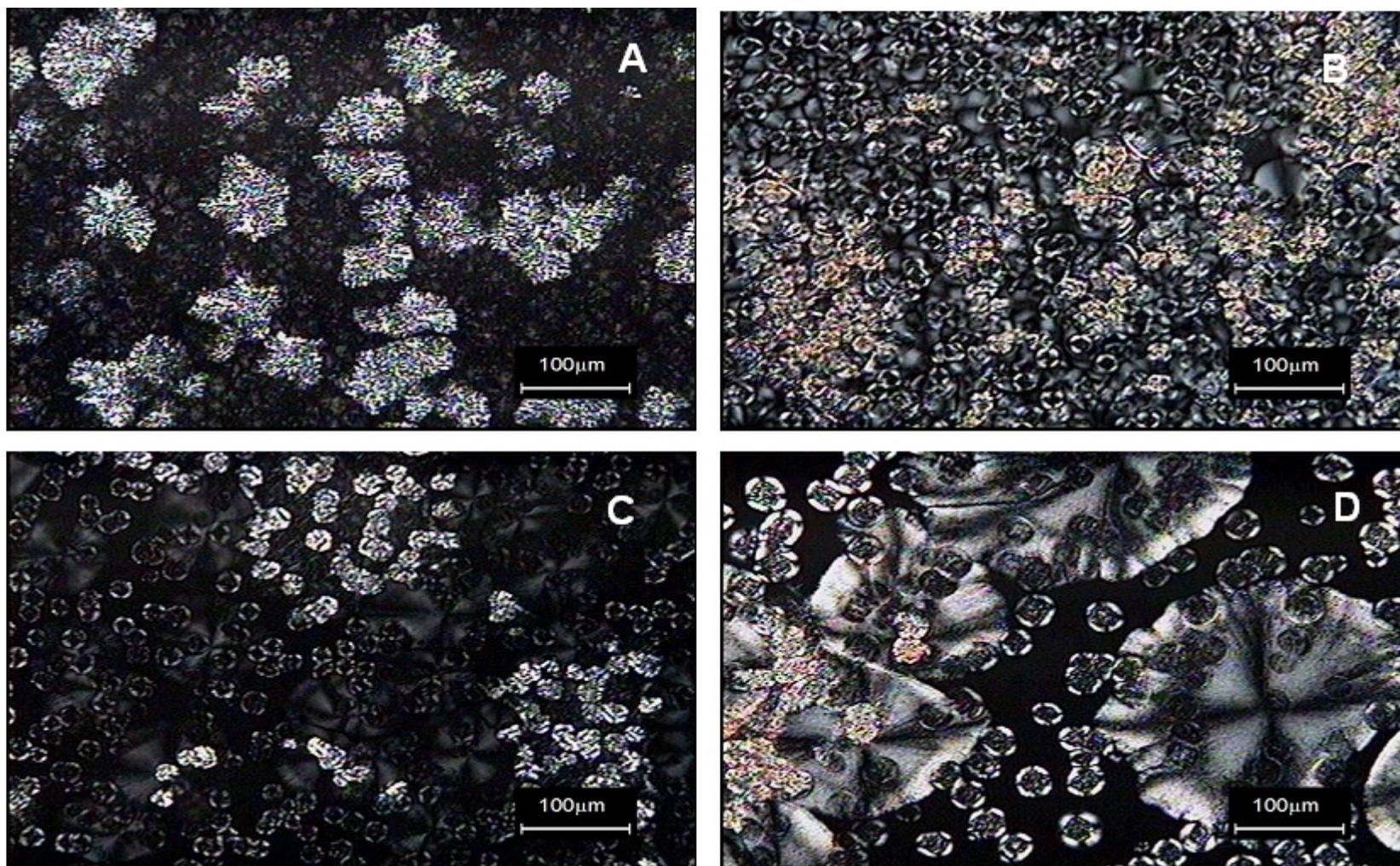


Figura 23. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada MLP para la mezclas de 30%MC: Aceite de canola cristalizada a (A) 9.5°C por 100 min (B) 10.5°C por 120 min, (C) 11.5°C por 190 min y (D) 13.0°C por 450 min.

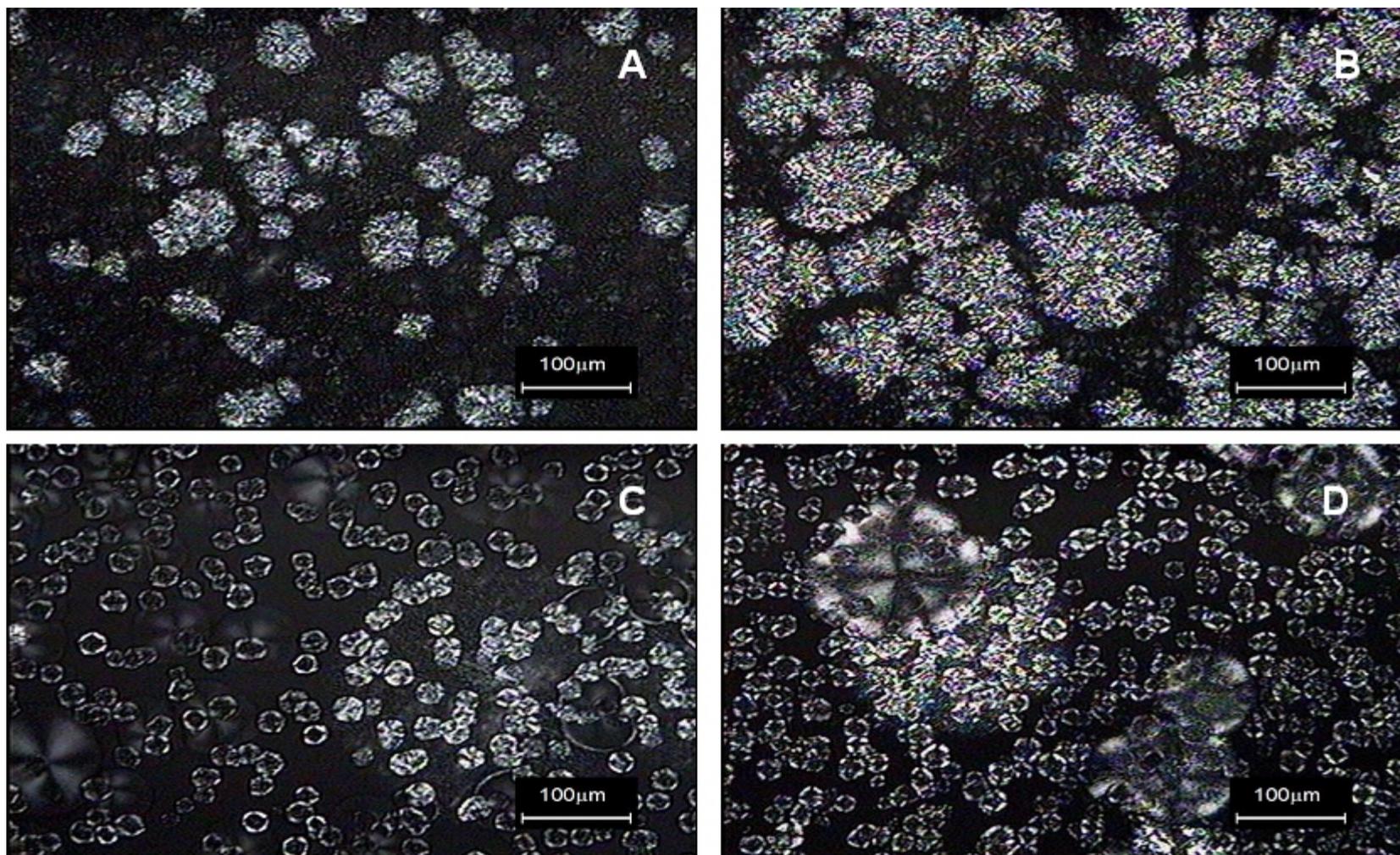


Figura 24. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezclas de 30%MC: Aceite de soya a (A) 10.0°C por 80 min (B) 11.0°C por 190 min, (C) 12.0°C por 220 min y (D) 13.5°C por 490 min.

limitación de transferencia de masa que en la MC pura dando como resultado diferencias en la morfología y el tamaño de los cristales.

La constante de velocidad de cristalización z es una constante de velocidad compleja que depende del valor de n (las unidades de z son min^{-n}). Sin embargo en las mezclas investigadas de la MC el valor de n varió en un intervalo relativamente pequeño por lo tanto limitó la dependencia de z al valor de n . El efecto de la T_{cr} sobre el valor de z fue evaluado empleando la ecuación de Arrhenius. El análisis estadístico se realizó mediante el procedimiento de un modelo lineal general disponible en STATISTICA. Los resultados obtenidos para las mezclas de la MC fueron descritos por una ecuación de Arrhenius independiente ($p < 0.10$). Conforme la T_{cr} aumentó el valor de z también incremento y los valores más altos para z se obtuvieron para la mezcla de 30%MC:Aceite de soya en comparación a los obtenidos para la mezcla de 30%MC:Aceite de canola. El proceso general de cristalización incluyendo la nucleación y el crecimiento del cristal ocurrió a mayor velocidad en los sistemas que tuvieron un superenfriamiento más elevado (mezcla de 30%MC:Aceite de soya) que en aquellos en donde el superenfriamiento fue menor (mezcla de 30%MC:Aceite de canola). El superenfriamiento no tuvo un efecto sobre el comportamiento del valor de n , pues como ya se mencionó los TAGs de la MC siguieron un mecanismo de crecimiento de cristal esferulítico independientemente de la mezcla y la T_{cr} utilizadas.

En el Cuadro 9 se observa que los valores de n a las diferentes T_{cr} , obtenidos para ambas mezclas de la GBA variaron en un intervalo mayor en comparación con los valores de n en las mezclas de la MC. Al realizar el análisis de los videos obtenidos por MLP de las mezclas de 60%GBA:Aceite de canola y 60%GBA:Aceite de soya se observó que independientemente de la T_{cr} usada, el tipo de nucleación que se presentó en ambas mezclas de la GBA fue instantánea. Considerando este hecho la variación de los valores de n a las diferentes T_{cr} fue asociada a diferencias en el mecanismo de crecimiento de los cristales. Independientemente de la mezcla de la GBA se observó que a la menor T_{cr} (19.0°C) los cristales siguieron un mecanismo de crecimiento en forma lineal (en una sola dimensión), mientras que para el caso de las T_{cr} intermedias (20.0° y 22.0°C) el mecanismo de crecimiento se dio en forma de

plato y finalmente a la mayor T_{cr} (24.0°C) los cristales crecieron en forma esferulítica. Estos resultados ponen de manifiesto que conforme la condición de superenfriamiento fue menor (mayor T_{cr}) implicó que se requiriera de mayor tiempo para que se iniciara la cristalización y el crecimiento del cristal tomó lugar en más dimensiones. El obtener valores fraccionados de n para ambas mezclas de la GBA, también pueden ser el resultado de la formación simultánea de dos tipos de cristales diferentes, como en el caso de los dos tipos de mezclas de la MC.

Las microfotografías obtenidas por MLP a las diferentes T_{cr} para las mezclas de 60%GBA:Aceite de canola y 60%GBA:Aceite de soya se muestran en las Figuras 25 y 26. Al comparar las microfotografías de la mezcla de 60%GBA:Aceite de canola con las de la mezcla 60%GBA:Aceite de soya no se observaron diferencias en las redes de los cristales formados (microestructura) a cada una de las T_{cr} evaluadas. En otras palabras el tamaño, forma, densidad y distribución de los cristales que conformaron dicha red fue muy semejante. También se pudo observar que la red de cristales de las mezclas de GBA estuvieron conformadas por una gran masa de cristales de pequeña dimensión lo cual puede ser el resultado de la gran heterogeneidad en la composición de los TAGs de la GBA. Por lo tanto, de forma visual fue difícil poder establecer si existió la presencia de dos diferentes formas polimórficas en mezclas de la GBA a las diferentes T_{cr} empleadas como lo sugieren los valores fraccionados de n . Tomando en consideración los termogramas de la fusión de ambas mezclas de la GBA (Figura 19) y en base al estudio hecho por Manzanti *et al.* (2004) se asumió que a las temperaturas de 19.0° y 20.0°C (Figura 25A y B para la mezcla de 60%GBA:Aceite de canola y Figura 26A y B para la mezcla de 60%GBA:Aceite de soya) los sistemas estuvieron constituidos por dos tipos diferentes de cristales que fueron β' y β , los cuales al parecer no presentaron diferencias en el tamaño y la forma lo que evito que pudieran diferenciarse visualmente de las microfotografías. A las temperaturas de 22.0° y 24.0°C (Figura 25C y D para la mezcla de 60%GBA:Aceite de canola y Figura 26C y D para la mezcla de 60%GBA:Aceite de soya) únicamente se tuvo la presencia de cristales β' , esto debido a que a estas T_{cr} , el superenfriamiento fue menor que a 19.0° y 20.0°C,

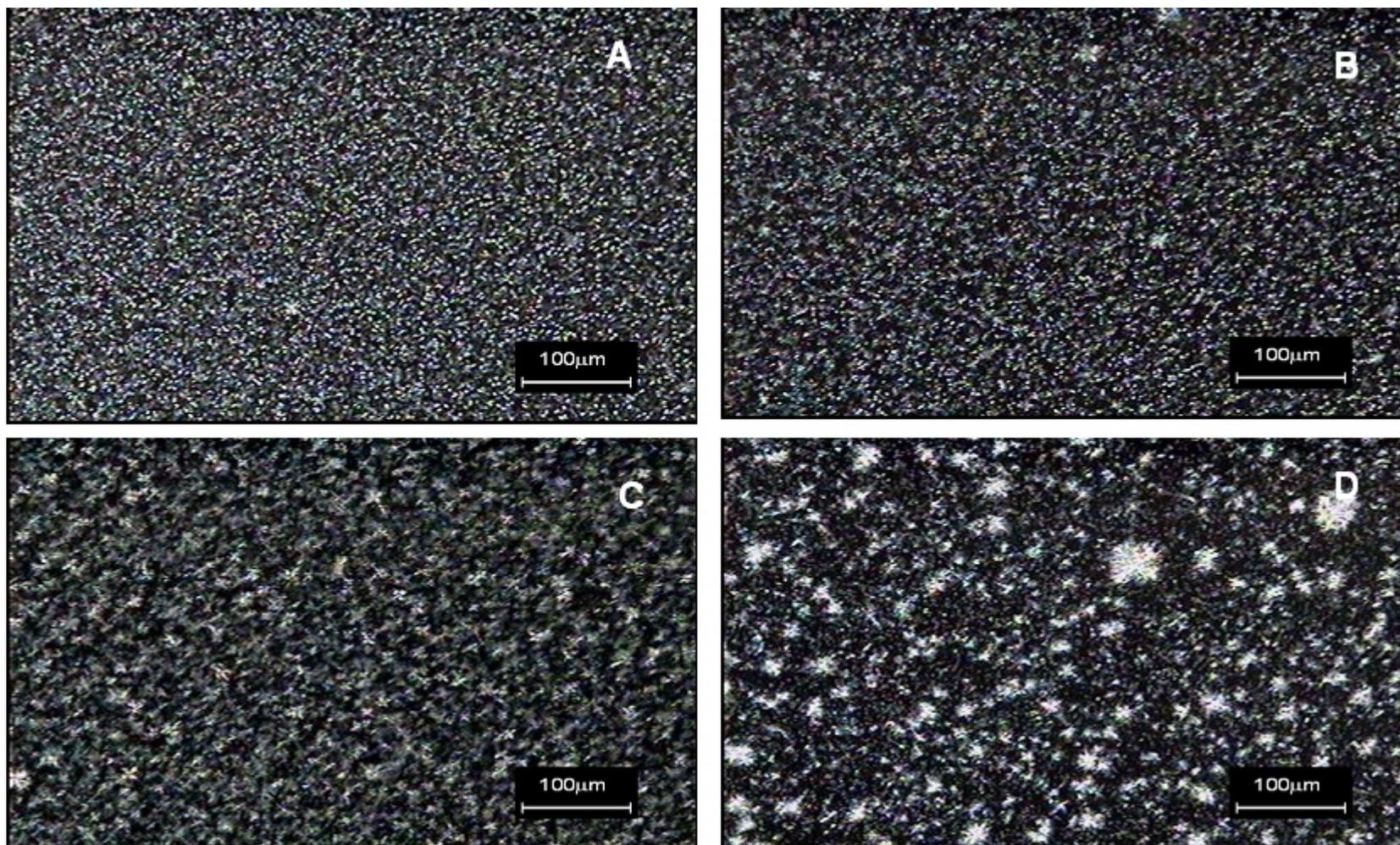


Figura 25. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezcla de 60%GBA: Aceite de canola cristalizada a (A) 19.0°C por 150 min (B) 20.0°C por 180 min, (C) 22.0°C por 200 min y (D) 24.0°C por 220 min.

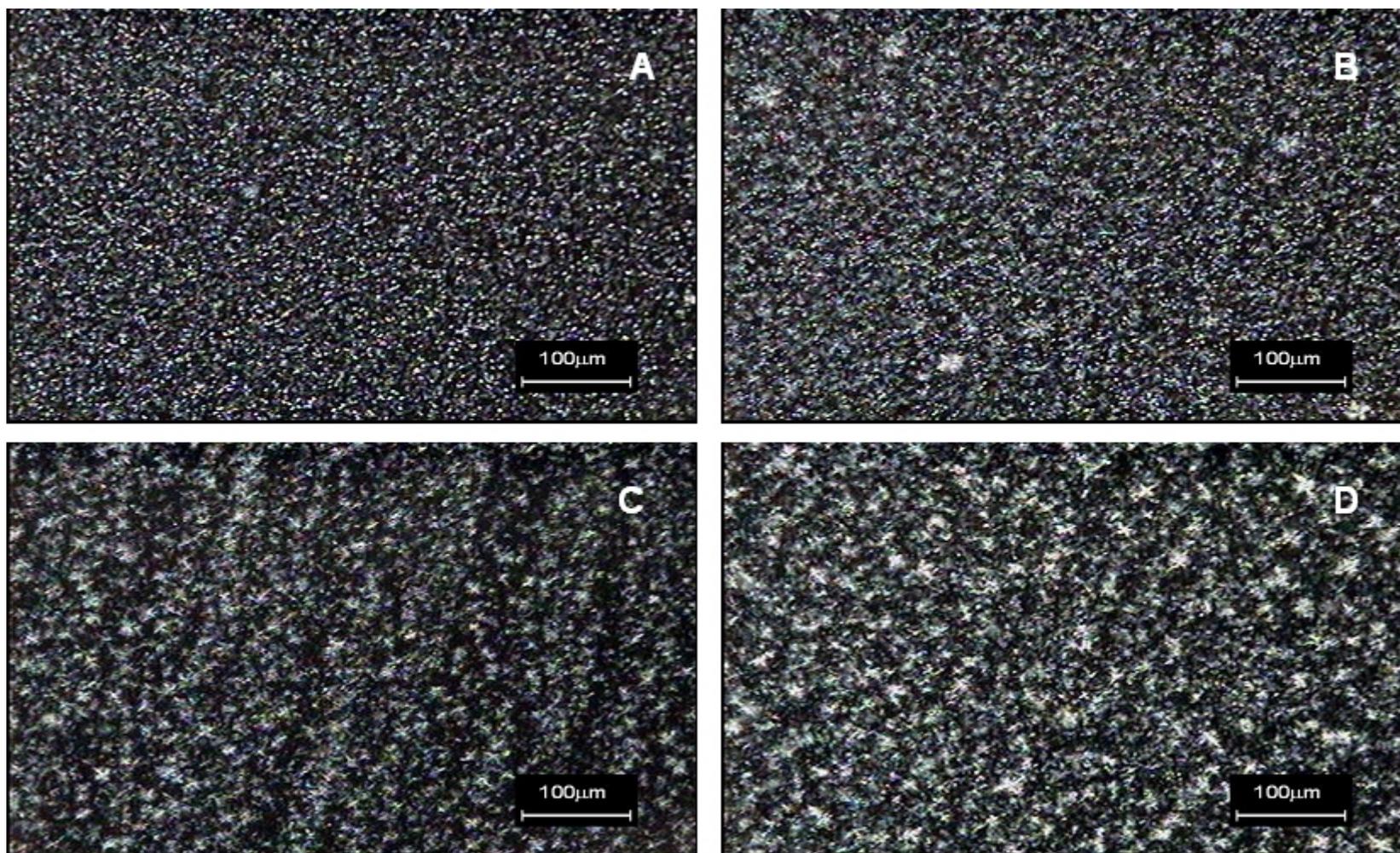


Figura 26. Microfotografías tomadas por microscopia de luz polarizada para la mezcla de 60%GBA:Aceite de soya cristalizada a (A) 19.0°C por 150 min (B) 20.0°C por 180 min, (C) 22.0°C por 200 min y (D) 24.0°C por 220min.

que provocó que el tiempo de inducción a la cristalización fuera mayor y permitió tener un mejor arreglo molecular de los TAGs de la GBA y así poder cristalizar en su forma más estable que fue la forma β' . A las temperaturas de 22.0° y 24.0°C (Figura 25C y D para la mezcla de 60%GBA:Aceite de canola y Figura 26C y D para la mezcla de 60%GBA:Aceite de soya) también se pudo observar la formación de pequeños agregados de cristales β' .

En cuanto a la constante z para las mezclas de GBA los valores obtenidos para cada una de las T_{Cr} en ambas mezclas fueron estadísticamente iguales ($p < 0.10$). A diferencia de las mezclas de MC aquí sí se pudo apreciar una dependencia del valor de z en función de n . Nuevamente el efecto de la T_{Cr} sobre el valor de z fue evaluada con la ecuación de Arrhenius. Usando el procedimiento de un modelo lineal general disponible en StATISTICS. Para ambas mezclas de GBA los resultados fueron descritos por una sola ecuación de Arrhenius. En función a la T_{Cr} se apreció que el valor de z incrementó conforme la T_{Cr} aumenta. Los valores más altos para z se obtuvieron a las temperaturas más bajas a las cuales se tuvieron las condiciones de mayor superenfriamiento. Este comportamiento de la constante z es debido a que cuando la fuerza impulsora necesaria para dar paso a la cristalización fue alta (un alto grado de superenfriamiento), la velocidad de cristalización incrementó ya que bajo esta condición la energía libre de nucleación a vencer fue muy baja, lo que dio lugar a que se requiriera de períodos de tiempos muy cortos para que se diera la nucleación. En contraste cuando la fuerza impulsora para inducir la cristalización fue muy baja (menor grado de superenfriamiento) fue necesario mayor tiempo para que la nucleación tomara lugar y la velocidad de cristalización disminuyó.

5.5. Comportamiento de G'_{eq} , ΔG^* y OBC_{eq} en función de SFC_{eq} en las mezclas.

Los valores de OBC_{eq} , G'_{eq} y ΔG^* en las mezclas cristalizadas se midieron cuando el valor de SFC_{eq} se alcanzó. Este punto representó el incremento en la masa de cristales (incremento en el SFC) que da como resultado la formación de una red tridimensional de cristales de grasa sólida la cual llega a ser basta pero a la vez no afecta la distribución tridimensional de la masa de cristales previamente formados. El

grupo de investigación dirigido por Marangoni (Marangoni, 2000; Marangoni y Rogers, 2003) ha demostrado que el comportamiento elástico (G') y el punto de cedencia (σ_c) de una red tridimensional de cristales de grasa están asociados con la proporción de la fracción sólida formada (SFC), la distribución y forma de los cristales que dan origen a la red tridimensional y las fuerzas interfaciales que se originan entre la fase sólida y la fase líquida a través de la red de los cristales.

El comportamiento de G'_{eq} y σ_c en función del SFC_{eq} para cada uno de los tipos de mezclas de la MC se muestran en la Figura 27. Las líneas de ajuste para estas gráficas muestran el comportamiento general de los valores de G'_{eq} y σ_c en función de SFC_{eq} independientemente de la mezcla evaluada. Considerando el valor del superenfriamiento de las mezclas de la MC los valores mas grandes para G'_{eq} y σ_c se observaron a las mayores y menores condiciones de superenfriamiento usadas (13.0°C en 30%MC:Aceite de canola y 10.0°C en 30% MC:Aceite de soya)(Figura 23D y 24A). Estos valores de G'_{eq} y σ_c correspondieron al mayor y el menor nivel de SFC_{eq} en ambas mezclas respectivamente. A valores intermedios de SFC_{eq} en las mezclas se observó un menor valor de G'_{eq} y σ_c .

El comportamiento general de G'_{eq} y σ_c para ambas mezclas se dividió en dos regiones. En la primera región G'_{eq} y σ_c decrecieron conforme SFC_{eq} incrementó en un intervalo de 20-23% (Figura 27). Independientemente de la mezcla evaluada esta región se asoció con estructuras de la red de cristales conformadas por mezclas de pequeños cristales σ_c y grandes cristales G' (Figuras 23C y D y Figura 24D) . Así en esta primera región se observó que conforme el valor SFC_{eq} incrementó entre 20-23% el tamaño de los cristales σ_c fue menor y la estructura de la red de cristales de grasa fue más densa y los valores de G'_{eq} y σ_c disminuyeron.

En la segunda región G'_{eq} y σ_c presentaron una relación directa con el SFC_{eq} independientemente de la mezcla evaluada (Figura 27). En esta segunda región la presencia de cristales σ_c solo se hizo evidente en la estructura de la red de cristales de grasa formada a 12.0°C en la mezcla de 30%MC:Aceite de soya. Se observó que las condiciones de mayor superenfriamiento para cada una de las mezclas

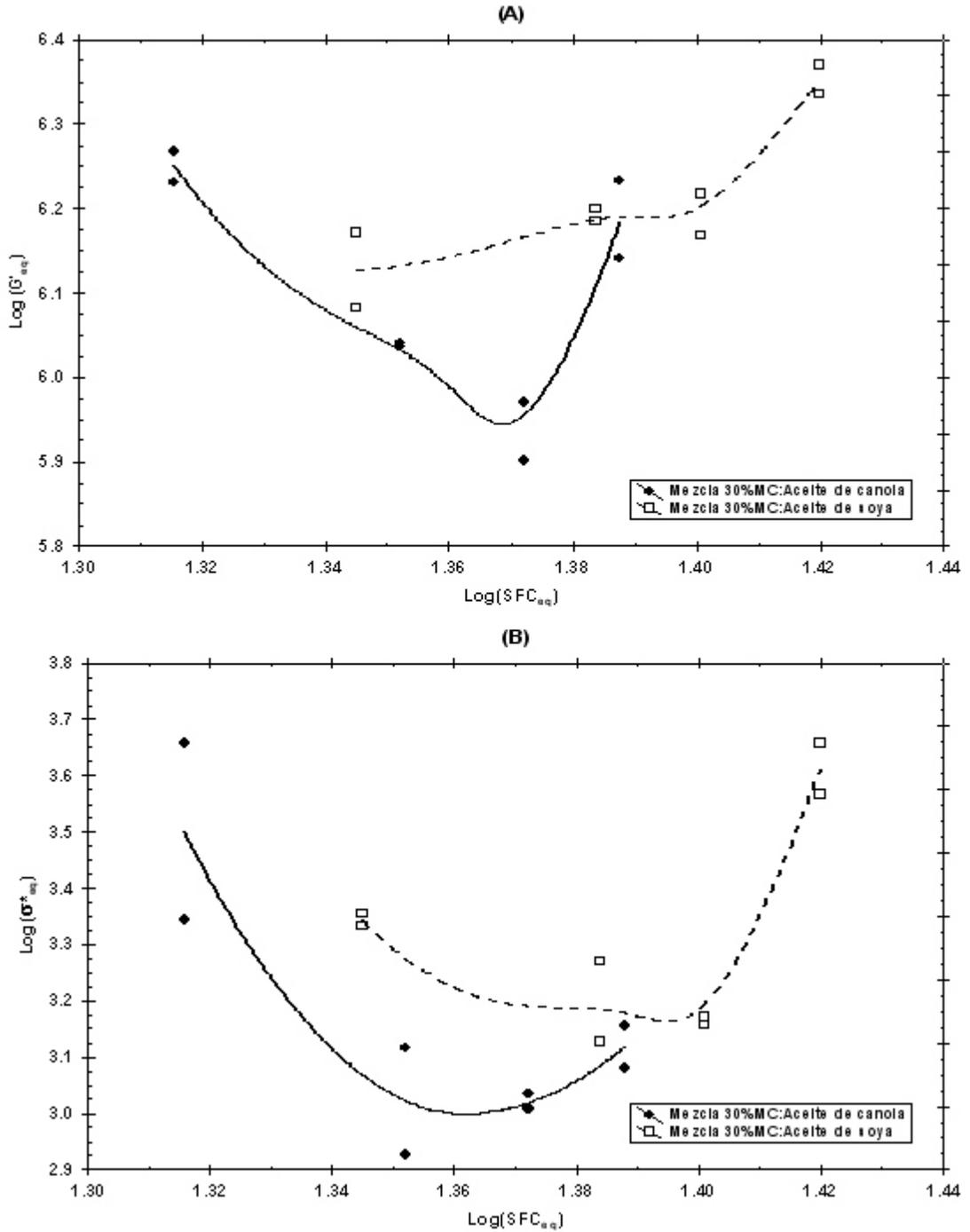


Figura 27. Comportamiento de G'_{eq} y σ^*_{eq} en función del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) para las mezclas al 30% de mantequilla de cacao en los aceites de canola y soya.

se encontraron en esta segunda región, en la cual se desarrolló una estructura de la red de cristales de grasa muy densa, constituida principalmente por agregados de pequeños cristales.

El menor valor de elasticidad (G'_{eq}) se encontró entre el límite de la primera y la segunda región (Figura 27A) y correspondió a la mezcla de 30%MC:Aceite de canola cristalizada a 10.5°C , la cual tuvo un valor de SFC_{eq} de 23.6%. De la gráfica correspondiente al comportamiento general de $\tan \delta$ (Figura 27B) se pudo observar también que el menor valor de $\tan \delta$ correspondió a las misma condición de cristalización.

Una transición polimórfica estuvo asociada con el cambio en el comportamiento de G'_{eq} y $\tan \delta$ entre la primera y la segunda región (Figura 27). Esta transición polimórfica se encuentra relacionada con la formación de grandes cristales a temperaturas superiores a 10.5°C (11.5° y 13.0° para la mezcla 30%MC:Aceite de canola y 13.5°C para 30%MC:Aceite de soya; Figura 23C y D y 24D respectivamente). Se pudo observar que para la mezcla de 30%MC:Aceite de canola los cristales fueron de mayor dimensión en comparación con los de la mezcla de 30%MC:Aceite de soya. Las transiciones polimórficas ocurridas en cada una de las mezclas de MC estuvieron asociadas con modificaciones en la distribución de red de cristales de grasa.

El comportamiento de la primera región resultó ser más difícil de explicar, puesto que conforme el valor de SFC_{eq} decreció, se observó la formación de una estructura de la red de cristales de grasa más libre además en esta región es donde se observaron los mayores valores para G'_{eq} y $\tan \delta$. Región en la que se encontraron las condiciones de superenfriamiento más bajas para cada una de las mezclas, lo que da origen a que los sistemas cristalizados formen una estructura de la red de cristales de grasa constituida por una mezcla de pequeños cristales y grandes cristales. Cuando los cristales llegaron a ser de gran dimensión y el valor de SFC_{eq} decreció, los espacios existentes entre los cristales fueron ocupados por pequeños cristales. Los pequeños cristales podrían estar actuando como partículas de enlace incrementando el área superficial mediante fuerzas de van der

Waals entre los cristales, dando origen a una estructura característica a la red de cristales de grasa con valores bajos de SFC_{eq} pero la mayores valores para G'_{eq} y η^* . Sin embargo hay que poner de manifiesto que valores altos para G'_{eq} y η^* no siempre fueron alcanzados por los sistemas cristalizados en los cuales se observó la presencia de mezclas de cristales β' y β (10.5° y 11.5°C para la mezcla de 30%MC:Aceite de canola). Esto nos hace pensar que existe un efecto estructural cooperativo en donde se requiere una proporción adecuada entre los cristales β' y β así como de un tamaño correcto de cada uno de los cristales.

El comportamiento de G'_{eq} y η^* en función de SFC_{eq} para las mezclas de 60%GBA:Aceite de canola y 60%GBA:Aceite de soya se en la Figura 28. De estas gráficas se pudo observar que independientemente de la mezcla evaluada el comportamiento G'_{eq} y η^* fue muy similar.

De acuerdo al estudio realizado por Campos *et al.*, (2002) con GB pura, encontraron que las propiedades mecánicas de la red tridimensional formada por los cristales de TAGs estuvieron en función del número de interacciones partícula-partícula que se presentaron en el sistema. El número de posibles interacciones entre las partículas es proporcional al número y tamaño de los cristales que conformaron la red tridimensional. No hay que olvidar que la cristalización de grasas es un proceso muy complejo afectado por las condiciones de procesamiento, las cuales influyen en la transferencia de masa y calor, así como en la formación de la red tridimensional de cristales de TAGs.

Independientemente de la mezcla de GBA evaluada se observó (Figura 28) que G'_{eq} y η^* presentaron una relación directa en función de SFC_{eq} . Por lo que conforme el valor de SFC_{eq} incrementó G'_{eq} y η^* también incrementaron. En ambas mezclas de la GBA el mayor valor de SFC_{eq} se observó a la menor T_{Cr} (19.0°C), la cual representó la mayor condición de superenfriamiento y fue a esta T_{Cr} donde se obtuvieron los mayores valores para G'_{eq} y η^* . Bajo una condición elevada de superenfriamiento como es el caso de la T_{Cr} a 19.0°C , la cinética de cristalización se dió de forma muy rápida, produciendo un alto valor de SFC_{eq} . Además la red

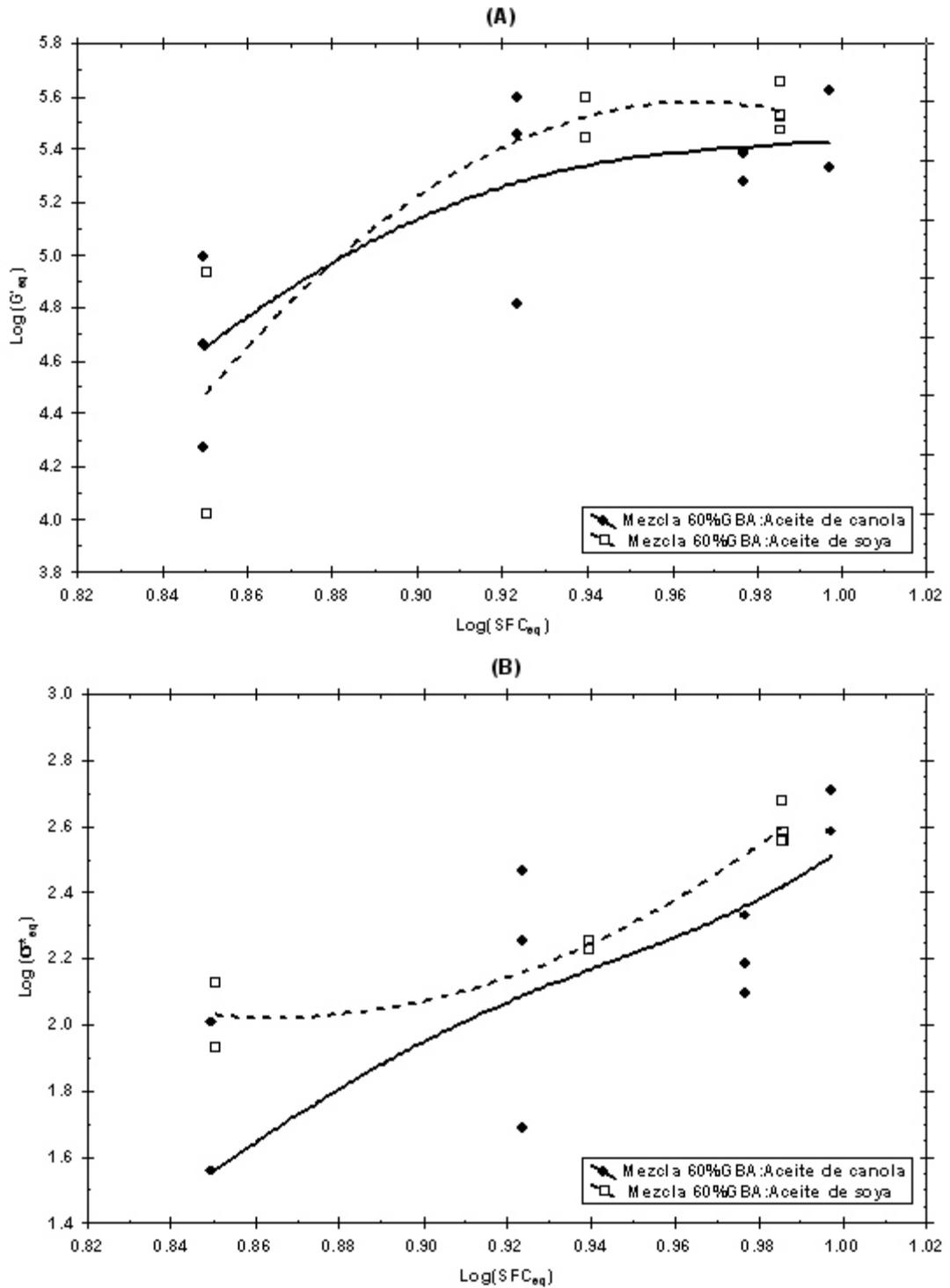


Figura 28. Comportamiento de G'_{eq} y G''_{eq} en función del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) para las mezclas al 60% de grasa butírica anhidra en los aceites de canola y soya.

tridimensional de cristales de TAGs estuvo constituida de un gran número de pequeñas partículas de cristales (Figuras 25A y 26A), que nuclearon en su forma polimórfica menos estable que la forma β' , resultando en una distribución espacial de la masa de cristales más homogénea. Además por el gran número de cristales que conforman la estructura (Figuras 25A y 26A) el número de interacciones partícula-partícula fue elevado, esto llevó a la formación de una red de cristales de TAGs más firme, lo cual se refleja a través de los valores de G'_{eq} y τ^* obtenidos a esta condición de cristalización.

Conforme se incrementó la T_{cr} el valor el SFC_{eq} disminuyó al igual que los valores de G'_{eq} y τ^* . Al llegar a la menor condición de superenfriamiento, dada por la mayor T_{cr} (24.0°C) se observó que la cinética de cristalización se dio de forma más lenta. Esto resultó en una red de cristales de TAGs formada en un periodo de tiempo mas largo, con un valor de SFC_{eq} menor y en donde se logró observar cristales de mayor dimensión (Figuras 25D y 26D), que nuclearon en su forma polimórfica más estable (forma β') y una distribución espacial de la masa de cristales un poco menos homogénea, originando una red de cristales de TAGs menos firme, por lo tanto los valores de G'_{eq} y τ^* fueron menores.

Jahaniaval *et al.* (2001) han establecido que en la cristalización de TAGs, los cristales formados dan origen a un agregado tridimensional que forma una matriz sólida en líquido. En este sistema la parte líquida que se encuentra ocluida en la fase sólida, actúa como una fase continua y junto con la fracción sólida son responsables del comportamiento viscoelástico del sistema, esta propiedad fisicoquímica es conocida como la capacidad de retención de aceite (OBC). La OBC de un sistema cristalizado es asociada principalmente con las propiedades de humectación de los cristales dentro de la fase líquida así como de la compatibilidad estructural entre los TAGs de la superficie del cristal y los TAGs de la fase sólida.

El comportamiento de OBC_{eq} en función del SFC_{eq} para las mezclas de la MC y de la GBA se presentan en la Figura 29. En la Figura 29A se observó que a la temperatura de 13.0° de la mezcla de 30%MC:Aceite de canola donde la red de cristales está

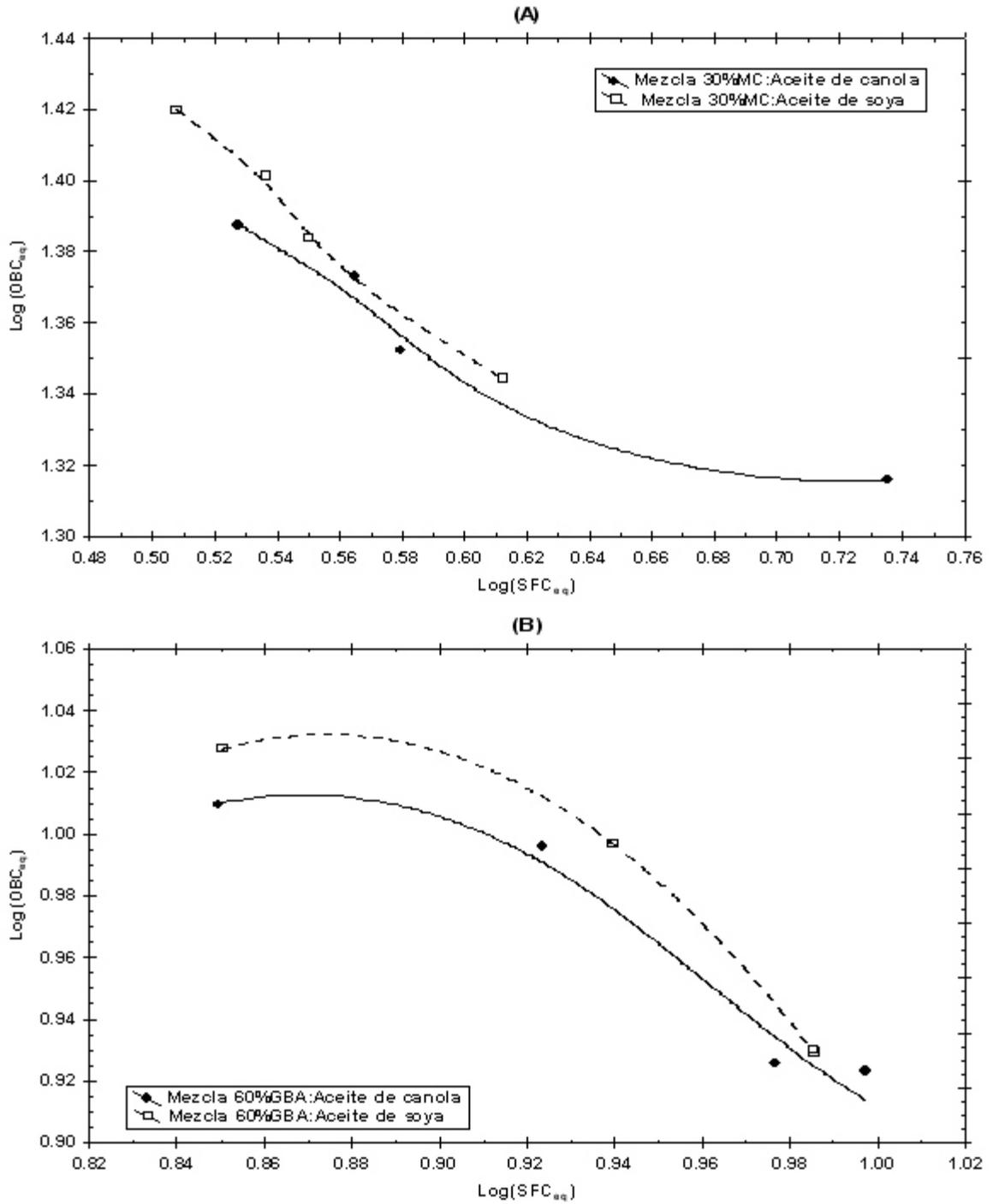


Figura 29. Comportamiento de la capacidad de retención de aceite en el equilibrio (OBC_{eq}) en función del contenido de grasa sólida en el equilibrio (SFC_{eq}) de las mezclas de (A) 30% de mantequilla de cacao y (B) 60% de grasa butírica anhidra en los aceites de canola y soya.

constituida por una mezcla de pequeños cristales β' y grandes cristales β (Figura 23D) fue la condición donde se obtuvo el mayor valor de OBC_{eq} . En contraste para la temperatura de 10.0°C de la mezcla de 30%MC:Aceite de soya, la red de cristales estuvo conformada por un gran número de pequeños cristales β' (Figura 24A) además de ser la T_{cr} correspondiente al mayor valor de superenfriamiento fue la que presentó el menor valor de OBC_{eq} .

Para las mezclas de la GBA (Figura 29B) se obtuvo que la diferencia obtenida en los valores de OBC_{eq} a cada una de las T_{cr} utilizadas no resultó ser estadísticamente significativa ($p < 0.10$). Igual que las mezclas de la MC el mayor valor de OBC_{eq} se observó a la T_{cr} de 24.0°C, la cual representó la condición de superenfriamiento menor en estas mezclas. A esta temperatura fue a la que se obtuvo el menor valor de SFC_{eq} y como se pudo observar de las microfotografías (Figuras 25D y 26D) el sistema desarrolló una red conformada por cristales en la forma β' los cuales formaron pequeños aglomerados. En contraparte a la T_{cr} de 19.0° donde se presentó el mayor valor SFC_{eq} y la red se conformó de una mezcla de gran número de pequeñísimos cristales β y β' , fue donde se obtuvo el menor valor de OBC_{eq} .

En las grasas plásticas normalmente se esperaría que el OBC incrementara conforme la cantidad total de cristales que constituyen la red tridimensional también incrementara. Sin embargo se pudo observar (Figura 29) que tanto para las mezclas de la MC como para las de la GBA este comportamiento no se cumplió, ya que el OBC_{eq} tuvo una relación inversa con el SFC_{eq} . Por lo que conforme se incrementó el valor de SFC_{eq} el OBC_{eq} disminuyó. Estos resultados indicaron que la capacidad de la red tridimensional de los cristales TAGs para mantener ocluida la fase líquida dentro de la sólida, no depende únicamente del SFC, sino también del tamaño y distribución de los cristales dentro del sistema cristalizado.

6. CONCLUSIONES.

Los resultados obtenidos a través de esta investigación mostraron la importancia de considerar las interacciones moleculares entre los TAGs de diferente composición y conformación (TAGs de la MC o GBA con TAGs de aceite de canola o soya), así como su efecto en el proceso de cristalización. Esto permite elegir la grasa y/o aceite apropiados de acuerdo a la aplicación y las propiedades funcionales que se deseen obtener. La GBA es una grasa constituida por una mezcla compleja de TAGs mayoritariamente del tipo SSU SUU, conformados por ácidos grasos de longitud de cadena corta y media. Respecto a la MC esta compuesta principalmente por TAGs simétricos.

Las mezclas evaluadas en ese trabajo fueron 30%MC:Aceite vegetal y 60%GBA:Aceite vegetal y sus diferencias en la composición de los TAGs se vieron reflejadas en el comportamiento de las propiedades de cambio de fase y el SFC_{eq} . En las mezclas de 60%GBA:Aceite vegetal presentaron un comportamiento en la cristalización y la fusión (en régimen dinámico de DSC) más complejo debido a la presencia de un mayor número de familias de TAGs que en las mezclas de 30%MC:Aceite vegetal. Para las mezclas de 60%GBA:Aceite vegetal los valores de SFC_{eq} fueron menores (7.0 - 10.0%) en comparación con los obtenidos para las mezclas de 30%MC:Aceite vegetal (20.0 y 27.0%), a pesar que en las mezclas de la GBA el porcentaje de grasa fue mayor.

Del análisis isotérmico de DSC y en base a los estudios de difracción de rayos x se observó que en las 60%GBA:Aceite vegetal a T_{Cr} menores de 20.0°C los TAGs cristalizaron como una mezcla de pequeños cristales β' y β , mientras que a T_{Cr} mayores a 20.0°C únicamente se observó la presencia de cristales β' . En contraste, en las mezclas de 30%MC:Aceite vegetal a temperaturas menores de 11.0°C se observó que los TAGs de la MC cristalizaron en la forma β' y a temperaturas mayores de 11.0°C se obtuvo una mezcla de pequeños cristales β' y grandes cristales β .

Evaluando la cinética de cristalización mediante el modelo de Avrami y el análisis visual de los videos obtenidos por MLP se determinó que en las mezclas de

30%MC:Aceite vegetal a temperaturas menores de 11.0°C la nucleación fue instantánea y a T_{Cr} mayores a 11.0°C la nucleación se dió en forma esporádica. Sin embargo independientemente de la T_{Cr} las mezclas de 30%MC:Aceite vegetal siguieron un mecanismo de crecimiento esferulítico. En el caso de las mezclas de 60%GBA:Aceite vegetal independientemente de la T_{Cr} la nucleación se dió instantáneamente, pero el mecanismo de crecimiento del cristal fue diferente a cada T_{Cr} .

Las propiedades reológicas evaluadas mediante G'_{eq} y G''_{eq} y el OBC_{eq} se evaluaron en función del SFC_{eq} . En las mezclas de 60%GBA:Aceite vegetal un incremento de SFC_{eq} estuvo asociado con incremento en G'_{eq} y G''_{eq} y un decremento de OBC_{eq} . En las mezclas de 30%MC:Aceite vegetal el incremento de SFC_{eq} también correspondió a un decremento en OBC_{eq} , sin embargo en el caso de G'_{eq} y G''_{eq} estos presentaron un comportamiento más complejo en función de SFC_{eq} debido a la presencia de una transición pólímica.

Las condiciones de cristalización tuvieron un efecto importante en el tamaño, número y distribución de los cristales, en el polimorfismo, así como en la capacidad de mantener ocluida la fase líquida en la fase sólida en los sistemas evaluados.

7. BIBLIOGRAFÍA.

Atkins, A. G. 1986. Physical Chemistry. 3ed., Oxford University Press., Walton Street, Oxford, UK, pp. 166-167.

Avrami, M. 1940. Kinetics of Phase Change. II. Transformation-Time Relations for Random Distribution of Nuclei. Journal of Chemistry Physics Vol. 8, pp. 212-224.

Awad, T.S., Rogers, M. A. And Marangoni, A.G. 2004. Scaling Behavior of the Elastic Modulus in Colloidal Networks of Fat Crystal. Journal of Physics Chemistry. B Vol. 108, pp. 171-179.

BeMiller, J.N. 1991. Lipids. En " Encyclopedia of food science and technology", Hui, Y.H., ed., Wiley-Interscience Pub., USA, Vol. 2, pp. 873-878.

Blaurock, A. E. 1999. Fundamental Understanding of the Crystallization of Oils and Fats. En " Physical Properties of Fats, Oils and Emulsifiers" Widlak, N., ed., AOCS Press, Champaign, Illinois, USA, pp. 1-32.

Boistelle, R. 1988. Fundamentals of Nucleation and Crystal Growth. En "Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids", N. Garti, y K. Sato, eds., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 189-226.

Boutahar, K., Carrot, C. and Guillet, J. 1998. Crystallization of Polyolefins from Rheological Measurements -Relation between the Transformed Fraction and the Dynamic Moduli. Macromolecules Vol. 31, pp. 1921-1929.

Campos, R., Narine, S.S. and Marangoni, A.G. 2002. Effect of Cooling Rate on the Structure and Mechanical Properties of Milk Fat and Lard. Food Research International Vol. 1 pp. 45-56

Chaiseri, S. and Dimick, P.S. 1989. Lipid and Hardness Characteristics of Cocoa Butters from Different geographic Regions. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 66, pp. 1771-1776.

Christie, W. W. 1995. Gas Chromatography and Lipids-A Practical Guide. Lipid Technology Vol. 1, pp. 50-55.

Davis, T.R. and Dimick, P.S. 1986. Solidification of Cocoa Butter. Proceedings of the Pennsylvania Manufacturing Confectioners' Association (PMCA) Production Conference, Center Valley, PA, pp. 104-108.

deMan, J.M. and deMan, L. 1995. Palm Oil as a Component for High Quality Margarine and Shortening Formulations. Malaysian Oil Science and Technology Vol. 4, pp. 56-60.

Dibildox-Alvarado, E. and Toro-Vazquez, J.F. 1997. Isothermal Crystallization of Tripalmitin in Sesame Oil. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 74, no. 2, pp. 69-76.

Eller, F.J., List, G.R., Teel, J.A., Steidley, K.R. and Adlof, R.O. 2005. Preparation of Spread Oils Meeting U.S. Food and Drug Administration Labeling Requirements for Trans Fatty Acids via Pressure-Controlled Hydrogenation. Journal of Agricultural and Food Chemistry Vol. 53, pp. 5982-5984.

Ehrenfest, P. 1933. Procces Academic Science., Amsterdam Vol. 36, pp. 153-155

German, J.B. and Simoneau, C. 1998. Phase Transition of Edible Fats and Triglycerides: Theory and Applications. En "Phase/State Transitions in Foods, Chemical, Structural and Rheological Changes" Rao, M.A. y Hartel, R.W. eds., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 187-211.

Grandgirard, A., Sebedio, J.L. and Fleury, J. 1984. Geometrical Isomerisation of Linolenic Acid During Heat Treatment of Vegetable Oils. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 61, pp. 1563-1568.

Henrqvist, L. 1988. Chocolate Temper. En "Industrial Chocolate Manufacture and Use" St. Beckett, Ed., Glasgow, Blackie and Son pp. 159-171.

Hartel, R. W. 1998. Phase Transitions in Chocolate and Coatings. En " Phase/State Transitions in Foods. Chemical, Structural and Rheological Changes" Rao, M.A. y Hartel, R.W. eds. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 341-365

Hartel, R. W. 2001. En "Crystallization in Foods". Aspen Publishers, Inc. USA, pp. 34-232.

Hartel, R. W. y Kaylegian, K.E. 2001. Advances in Milk Fat Fractionation. En "Crystallization Processes in Fats and Lipids Systems" Garti, N. Y Sato K. Eds. Marcel Dekker, New York, USA, pp.381-427

Herrera, M. L., Falabella, C., Melgarejo, M. and Añón, M. C., 1998. Isothermal Crystallization of Hydrogenated Sunflower Oil: I-Nucleation. Journal of American Oil

Chemists' Society Vol. 75, pp. 1273-1280.

Herrera, M. L. and Hartel, R. W. 2000. Effect of Processing Conditions on Physical Properties of a Milk Fat Model System: Rheology. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 77, pp. 1189-1195.

Hoffman, J.D. and Weeks, J.J. 1962. Melting Process and the Equilibrium Melting Temperature of Polychlorotrifluoroethylene. Journal of Research of the National Bureau Standards Vol. 66, pp. 13-28.

Humphrey, K.L. and Narine, S.S. 2005. Lipids Phase Behavior. En "Fat Crystal Networks" Marangoni, A.G. ed., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 83-114.

Hunter, J.E. 2005. Dietary Levels of Trans Fatty Acids: Basis for Health Concerns and Industry Efforts to Limit Use. Nutrition Research Vol. 25, pp. 499-513.

Jahaniaval, F., Kakuda, Y. and Abraham, V. 2002 . Oil Binding Capacity of Plastic Fat: Effects of Intermediate Melting Point Triglycerides . Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 79, pp. 389-394.

Kalokawska, A. and Sikorski, Z.E. 2003. The Role of Lipids in Food Quality. En " Chemical and Functional Properties of Food Lipids" Kalokawska, A. and Sikorski, Z.E., eds., CRC Press., New York, USA, pp. 1-7.

Kalnin, D., Schafer, O., Amenitsch, H. and Ollivon, M. 2004. Fat Crystallization in Emulsion: Influence of Emulsifier Concentration on Triacylglycerol Crystal Growth and Polymorphism. Crystal Growth and Design Vol. 4, pp. 1283-1293.

Katan, M.B., Zock, P.L. and Mensink, R.P. 1995. Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. Annual Review Nutrition Vol.15, pp. 473-493.

Larson, K. 1966. Classification of Glyceride Crystal Form. Acta Chemistry Scand. Vol. 20, pp. 2255-2260.

Larson, K. 1994. Lipids-Molecular Organization, Physical Functions and Technical Applications. The Oily Press, West Ferry, Dundee, Scotland, pp. 1-41.

Leon-Camacho, M. 2003. Contenido de Acidos Grasos trans en Alimentos, Niveles de Ingesta e Influencia Sobre la Salud. Vox Pediátrica Vol. 11 pp. 43-45

Marangoni, A. G. 2000. Elasticity of High-Volume-Fraction Fractal Aggregate

Networks: Thermodynamic Approach. *Physic Review B* Vol. 62, pp. 13951-13955.

Marangoni, A. G. and Lencki, R. W. 1998. Ternary Pahse Behavior of Milk Fat Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol. 46, pp. 3879-3884.

Marangoni, A. G. and Rogers, M. A. 2003. Structural Basis for the Yield Stress in Plastic Disperse Systems. *Applied Physics Letters* Vol. 82, pp. 3239-3241.

Marangoni, A. G. and Rousseau, D. 1996. Is Plastic Fat Rheology Governed by the Fractal Nature of the Fat Crystal Network?. *Journal of American Oil Chemists' Society* Vol. 73, pp. 991-994.

Marangoni, A. G. and Rousseau, D. 1998. The Influence of Chemical Interesterification on the Physicochemical Properties of Complex Fat Systems. 3. Rheology and Fractality. *Journal of American Oil Chemists' Society* Vol. 75, pp. 1633-1636.

Metin, S. and Hartel, R. H. 1998. Thermal Analysis of Isothermal Crystallization Kinetics in Blends of Cocoa Butter with Milk Fat Fractions. *Journal of American Oil Chemists' Society* Vol. 75, pp. 1617-1624.

Moore, C. 2003. Trans Fatty Acids: Better Decisions or Information Overload? *FDA Consumer* pp. 40-41-

Narine, S. S. and Marangoni, A. G. 1999. Fractal Nature of Fat Crystal Networks. *Physical Review E* Vol. 59, pp. 1907-1920.

Nawar, W. W. 1996. Lipids. En "Food Chemistry", Fennema, O.R. ed. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 146-150.

O'Brien, R.D. 1998. Fats and Oils. Formulating and Processing for Applications, Technomic Publishing, Lancaster, Pensylvania, USA.

Parcerisa, J., Codony, R., Boatella, J. and Rafecas, M. 1999. Fatty Acids Including *trans* Content of Commercial Bakery Products Manufactured in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol. 47, pp. 2040-2043.

Roos, Y.H. 1995a. Phase transition in food. Academic Press, New York, USA, pp. 1-108.

- Roos, Y.H. 1995b.** Water activity and glass transition temperature; How do they complement and how do they differ?. En "Food preservation by moisture control fundamentals an applications", Barbosa-Cánovas, G.V., y Welti-Chane, J., eds., Technomic Publishing, Lancaster, Pensylvania, USA, pp. 133-154.
- Ruíz-Salas, P., Hierro, M.T.G., Martínez-Castro, I. And Santa Maria, G. 1996.** Triglyceride Composition of Ewe, Cow and Goat Milk Fat. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 73, pp. 283-293.
- Sato, K. And Garti, N. 1998.** Crystallization and Polymorphic Transition: An Introduction. En "Crystallization and Polymorphism of Fats and Fatty Acids" Sato, K. and Garti, N. eds., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 3-7.
- Sato, K. and Ueno, S. 2001.** Molecular Interactions and Phase Behavior of Polymorphic Fats. En "Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems", Garti, N. y Sato, K. eds., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 177-209.
- Schramm, G. 1994.** A Practical Approach to Rheology and Rheometry. Gebrueder HAAKE GmbH, pp. 3-10, 111-125.
- Shukla, V.S. K. 1995.** Cocoa Butter Propierties and Quality. Lipid Technology pp. 54-57.
- Smith, K.W. 2001.** Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalentents. En "Structured and Modified Lipids" Gunstone, F.D., ed., Marcel Dekker, New York, USA, pp. 401-413.
- Steffe, J.F. 2000.** Rheological Methods in Food. Process Engineering, Freeman Press, USA, pp. 294-349.
- Stender, S. and Dyerberg, J. 2004.** Influence of Trans Fatty Acids on Health. Annals of Nutrition and Metabolism Vol. 48, pp. 61-66.
- Takeuchi, M., Ueno, S., Flöter, E. and Sato, K. 2002.** Binary Phase Behavior of 1,3,-distearoyl - sn- 2 oleoyl - sn - glycerol (SOS) and 1,3,-distearoyl - sn- 2 - linoleoyl - sn - glycerol (SLS). Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 79, pp. 627-632.
- Tanaka, H. 2000.** Viscoelastic Phase Separation. Journal of Physic Condens Matter Vol. 12, pp. R207-R264.
- ten Grotenhius, E., van Aken, G.A., van Malssen, K. F. and Schenk, H. 1999.** Polymorphism of Milk Fat Studied by Differential Scanning Calorimetry and Real-Time

X-Ray Powder Diffraction. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 76, pp. 1031-1039.

Timms, R.E. 1980. The Phase Behavior and Polymorphism of Milk Fat and Milk Fat Fractions and Fully Hardened Milk Fat. Aust. Journal of Dairy Technology Vol. 35, pp. 47-52.

Toro-Vazquez. J. F., Briceño-Montelongo, M., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. and Reyes-Hernández J. 2000. Crystallization Kinetics of Palm Stearin in Blends with Sesame Seed Oil. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 77, pp. 297- 310.

Toro-Vazquez. J. F. Dibildox-Alvarado, E., Herrera-Coronado, V. and Charó-Alonso, M. A. 2001. Triacylglyceride Crystallization in Vegetable Oils: Application of Models, Measurements, and Limitations. En "Crystallization and Solidification Properties of Lipids", Widlak, N., Hartel, R. and Narine, S., eds. AOCS PRESS, Illinois, USA, pp. 53-78.

Toro-Vazquez, J. F., Herrera-Coronado V., Dibildox-Alvarado E., Charó-Alonso, M. and Gómez-Aldapa, C. 2002a. Induction Time of Crystallization in Vegetable Oils, Comparative Measurements by Differential Scanning Calorimetry and Diffusive Light Scattering. Journal of Food Science Vol. 67, pp. 1057- 1065.

Toro-Vazquez, J. F., Dibildox-Alvarado E., Charó-Alonso, M., Herrera-Coronado V. and Gómez-Aldapa, C. 2002b. The Avrami Index and the Fractal Dimension Vegetable Oils Crystallization. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 79, pp. 855- 866.

Toro-Vazquez, J. F. And Gallegos-Infante, A. 1996. Viscosity and Its Relationship to Crystallization in a Binary System of Saturated Triacylglycerides and sesame seed oil. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 73, pp.1237-1246.

Toro-Vazquez. J. F., Pérez-Martínez, D., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M. and Reyes-Hernández J. 2004. Rheometry and Polymorphism of Cocoa Butter During Crystallization Under Static and Stirring Conditions. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 81, pp. 195-202.

- van Aken, A.G., ten Grotenhuis, E., van Langevelde, A.J. and Schenk H. 1999.** Composition and Crystallization of Milk Fat Fractions. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 76, pp. 1323-1331.
- van Malssen, K., Peschar, R. and Schenk, H. 1996.** Real-Time X-ray Powder Diffraction Investigation in Cocoa Butter II. The Relationship Between Melting Behavior and Composition of Cocoa Butter. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 73, pp. 1217-1223.
- van Malssen, K., van Langevelde, A, Peschar, R. and Schenk, H. 1999.** Phase Behavior and Extended Phase Scheme of Static Cocoa Butter Investigated with Real-Time X-ray Powder Diffraction Investigation. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 76, pp. 669-676.
- Walstra, P., Kloek, W. and van Vliet T. 2001.** Fat Crystal Networks. En "Crystallization Processes in Fats and Lipid Systems", Garti, N. y Sato, K. eds. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 289-328.
- Weiss, T.J. 1983.** Commercial Oil Sources. En "Food Oils and Their Uses" Weiss, T.J., ed., AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, USA, pp.1-4
- Wille, R.L. and Lutton, E.S. 1966.** Polymorphism of Cocoa Butter. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 43, pp. 491-496.
- Wright, A. J., Hartel, R. W., Narine, S. S. and Marangoni, A. G. 2000.** The Effect of Minor Components on Milk Fat Crystallization. Journal of American Oil Chemists' Society Vol. 77, pp. 463- 475.