

**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA DE
UNA MEZCLA DE ACEITES VEGETALES PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BASE
GRASA PARA MARGARINAS EN SIGRA S.A**

**LOREN SILENA OJEDA ROMERO
LINA DANIELA VALENCIA ÁVILA**

**Proyecto integral de grado para optar el título de
INGENIERO QUÍMICO**

Director

**Duvian Alberto Vera Romero
INGENIERO QUÍMICO**

Codirector

**Adriana María Mesa Gómez
INGENIERA QUÍMICA**

**FUNDACIÓN UNIVERSIDAD DE AMÉRICA
FACULTAD DE INGENIERÍAS
PROGRAMA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BOGOTÁ D.C.**

2022

NOTA DE ACEPTACIÓN

Ing. Duvian Alberto Vera Romero
Firma del director

Ing.
Firma Jurado

Ing.
Firma Jurado

Bogotá D.C, febrero de 2022.

DIRECTIVOS DE LA UNIVERSIDAD

Presidente de la Universidad y Rector del Claustro

Dr. MARIO POSADA GARCÍA-PEÑA

Consejero Institucional

Dr. LUIS JAIME POSADA GARCÍA-PEÑA

Vicerrectora Académica y de Investigaciones

Dra. ALEXANDRA MEJIA GUZMAN

Vicerrector Administrativo y Financiero

Dr. RICARDO ALFONSO PEÑARANDA CASTRO

Secretario General

Dr. JOSÉ LUIS MACÍAS RODRÍGUEZ

Decano de la Facultad de Ingenierías

Dra. ALEXANDRA MEJIA GUZMAN (E)

Director del Programa de Ingeniería Química

Ing. NUBIA LILIANA BECERRA OSPINA

Las directivas de la Universidad de América, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento. Estos corresponden únicamente a los autores.

AGRADACEMIENTOS

Agradecemos inicialmente a Dios, por llenarnos de vitalidad y sabiduría en todo este camino que nos dejó inmensas enseñanzas y aprendizajes, tanto en nuestras vidas académicas como personales. A C.I SIGRA S.A por abrirnos sus puertas para desarrollar este proyecto, en compañía de sus profesionales y trabajadores los cuales nos brindaron su total apoyo desde el primer momento.

A nuestro director e ingeniero Duvian Alberto Vera, quien nos dio la oportunidad de realizar este trabajo, por brindarnos su total confianza, tiempo, disposición y conocimiento en la ejecución del mismo.

A la ingeniera Lina María Muñoz, por ser un apoyo incondicional en la ideación, ejecución y finalización del proyecto, aportando con su intelecto y profesionalismo.

A la ingeniera Sandra Lucia Granados, quien con su gran sabiduría, nos brindó las herramientas y conocimientos necesarios para desarrollar correctamente la temática del estudio.

A la ingeniera Adriana María Mesa, por su disposición e interés en que todo se hiciera cada vez mejor, enseñándonos y aconsejándonos, durante todo este proceso.

Finalmente agradecemos a nuestras familias, quienes son nuestro soporte más grande, ya que son nuestro motivo de querer ser mejor cada día y a todas aquellas personas quienes se interesaron, nos acompañaron y apoyaron en nuestro proyecto de grado.

CONTENIDO

	pág.
INTRODUCCIÓN	15
OBJETIVOS	17
JUSTIFICACIÓN	18
1. GENERALIDADES	19
1.1 Proceso Productivo de SIGRA S.A	19
1.2 Misión	20
1.3 Certificaciones	20
1.4 Proceso De Refinación de Aceites Vegetales	20
1.4.1 <i>Proceso de Desgomado</i>	20
1.4.2 <i>Proceso de Blanqueado</i>	20
1.4.3 <i>Proceso de Desodorizado</i>	21
1.5 Métodos de Modificación de Aceites y Grasas	21
1.5.1 <i>Fraccionamiento</i>	21
1.5.2 <i>Hidrogenación</i>	22
1.6 Tipos de Aceites Vegetales	23
1.6.1 <i>Aceite de Palma</i>	23
1.6.2 <i>Estearina de Palma</i>	24
1.6.3 <i>Aceite de palmiste</i>	24
1.6.4 <i>Aceite de Soya</i>	25
1.6.5 <i>Aceite de Canola</i>	26
2. PROCESO DE INTERESTERIFICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ACEITES Y GRASAS PARA LA ELABORACIÓN DE MARGARINAS	27
2.1 Interesterificación	27
2.1.1 <i>Interesterificación Química</i>	30
2.1.2 <i>Interesterificación Enzimática</i>	32
2.2 Propiedades Físicoquímicas de las Mezclas Grasas	35
2.2.1 <i>Acidez</i>	35
2.2.2 <i>Contenido de grasa sólida (SFC)</i>	36
2.2.3 <i>Perfil de ácidos graso</i>	36
2.2.4 <i>Punto de fusión</i>	36

2.3 Elaboración de Margarinas	37
3. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MEZCLA SEMISÓLIDA POR MEDIO DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA	38
3.1 Variables que influyen en la reacción de interesterificación enzimática	38
3.1.1. <i>Temperatura</i>	39
3.1.2. <i>Concentración de la enzima</i>	40
3.1.3. <i>Agitación</i>	42
3.1.4. <i>Tiempo</i>	43
4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MEZCLA BASE PARA LA ELABORACIÓN DE MARGARINAS POR MEDIO DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA	47
4.1 Funcionamiento De La Planta Piloto	49
4.2 Proceso De Interesterificación Enzimática En La Planta Piloto De SIGRA S.A	52
4.3 Recuperación De La Enzima Lipozyme IM TL.	54
4.4 Recuperación Del Solvente (Acetona)	54
4.5 Materias Primas	57
4.5.1 <i>Mezcla Grasa derivada del Aceite de Palma y Aceite de Palmiste</i>	57
4.5.2 <i>Enzima “Lipozyme TL IM”</i>	57
4.5.3 <i>Acetona</i>	58
4.6 Resultados del diseño de experimentos	58
4.6.1 <i>Experimento #1</i>	59
4.6.2 <i>Experimento #2</i>	60
4.6.3 <i>Experimento #3</i>	61
4.6.4 <i>Experimento #4</i>	63
4.6.5 <i>Experimento #5</i>	64
4.6.6 <i>Experimento #6</i>	65
4.6.7 <i>Experimento #7</i>	67
4.6.9 <i>Experimento #9</i>	69
4.7 Análisis De Varianza Del Diseño De Experimentos	71
4.8 Análisis De Resultados General De La Experimentación	75
4.8.1. <i>Réplica del mejor experimento</i>	76
5. DIAGNÓSTICO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA MEZCLA GRASA INTERESTERIFICADA Y SIN INTERESTERIFICAR	82

5.1. Ensayos De Laboratorio	82
5.1.1. <i>Perfil de grasa solida</i>	82
5.1.2 <i>Acidez</i>	84
5.1.3 <i>Punto de fusión</i>	85
5.1.4 <i>Perfil de ácidos grasos</i>	87
5.2 Resultados De Las Propiedades Fisicoquímicas De Las Materias Primas Y De La Mezcla Sin Interesterificar	89
5.2.1 <i>Aceite 1</i>	89
5.2.2 <i>Aceite 2</i>	90
5.2.3 <i>Mezcla Grasa De Aceite Vegetales</i>	91
5.2.4 <i>Mezcla Grasa Después Del Proceso De Interesterificación Enzimática</i>	95
5.3 Análisis De Resultados General De Las Propiedades Fisicoquímicas	102
6. EVALUACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCCIÓN DE LA MEZCLA DE ACEITES INTERESTERIFICADA ENZIMÁTICAMENTE	105
6.1 Costos De Materia Prima Para La Producción De Interesterificación Enzimática De La Mezcla Grasa A Escala Piloto	105
6.2 Costos Indirectos De Producción De La Mezcla Grasa Interesterificada Enzimáticamente A Escala Piloto	106
6.3 Costo Comercial De La Mezcla Grasa Por Ruta Enzimática Y Química.	109
6.4 Costos De Producción Del Proceso De Interesterificación Enzimática A Escala Industrial	110
6.5 Análisis De Resultados General de Costos	113
7. CONCLUSIONES	115
BIBLIOGRAFIA	116
GLOSARIO	121
ANEXOS	124

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Proceso de producción en SIGRA S.A	19
Figura 2. Hidrogenación de un ácido graso saturado.	22
Figura 3. Perfil de sólidos para la obtención de una mezcla grasa con sólidos intermedios.	28
Figura 4. Esquema general de la reacción de interesterificación	28
Figura 5. Reacciones que interfieren en el proceso de interesterificación.	29
Figura 6. Reacción tipo aleatoria formada a partir de la reacción de interesterificación química.	31
Figura 7. Etapas del proceso de interesterificación química	31
Figura 8. Ciclo de acción de los enzimas con la formación del complejo enzima sustrato y la liberación de los productos.	32
Figura 9. Reacción tipo selectiva formada a partir de la reacción de interesterificación enzimática	33
Figura 10. Etapas del proceso de interesterificación enzimática.	33
Figura 11. Clasificación de las enzimas inmovilizadas	34
Figura 12. Propiedades de las enzimas inmovilizadas para biocatálisis de Novozymes	35
Figura 13. Velocidad de la reacción en función de la temperatura	39
Figura 14. Velocidad de reacción enzimática contra la concentración de sustrato	41
Figura 15. Tipo de agitador del reactor de la planta piloto.	42
Figura 16. Resumen de las variables del proceso de interesterificación enzimática.	43
Figura 17. Diferencia de escalas para procesos de investigación en la industria.	49
Figura 18. Vista General de la Planta Piloto	50
Figura 19. Partes del panel de control de la planta piloto	50
Figura 20. Partes del reactor de la planta piloto	51
Figura 21. Válvulas de control de servicio de la planta piloto	52
Figura 22. Proceso de filtrado.	53
Figura 23. Montaje para la recuperación de acetona.	55
Figura 24. Proceso de interesterificación enzimática a escala piloto y procesos de recuperación	56
Figura 25. Esquema de los equipos y lazos de control del proceso de interesterificación enzimática	56

Figura 26. Muestra de Mezcla Grasa	57
Figura 27. Enzima Lipozyme TL IM	57
Figura 28. Acetona	58
Figura 29. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 1.	59
Figura 30. %SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 1	60
Figura 31. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 2.	61
Figura 32. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 2	61
Figura 33. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 3.	62
Figura 34. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 3	62
Figura 35. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 4	63
Figura 36. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 4	64
Figura 37. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 5	65
Figura 38. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 5	65
Figura 39. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 6	66
Figura 40. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 6	66
Figura 41. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 7	67
Figura 42. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 7	68
Figura 43. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 8	68
Figura 44. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 8	69
Figura 45. % SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 9	70
Figura 46. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 9	70
Figura 47. Grafica de contorno de la diferencia del contenido de grasa sólida Vs. %p/p Enzima/Sustrato y Temperatura (°C)	74
Figura 48. Grafica de superficie de variable de respuesta (Diferencial del contenido de grasa solida a 20°C de salida y entrada) Vs. %p/p Enzima/Sustrato y Temperatura (°C)	75
Figura 49. % SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada de la réplica.	77
Figura 50. Dependencias de la constante específica de velocidad con la temperatura	78
Figura 51. Sistema de agitación con flujo axial.	80
Figura 52. Interior del reactor de la planta piloto.	80
Figura 53. Equipo analizador MINISPEC	83
Figura 54. Determinación del perfil de sólidos con el equipo MINISPEC.	83
Figura 55. Determinación de la acidez de una muestra grasa	84
Figura 56. Titulador para la determinación de la acidez	85

Figura 57. Montaje para determinar el punto de fusión	85
Figura 58. Determinación del punto de fusión de una muestra grasa.	86
Figura 59. Cromatógrafo de gases para determinar el perfil de ácidos grasos	87
Figura 60. Cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos grasos	88
Figura 61. Perfil del contenido de grasa sólida del aceite 1	89
Figura 62. Perfil del contenido de grasa sólida del aceite 2	90
Figura 63. Perfil del contenido de grasa sólida muestra grasa	92
Figura 64. Perfil de triglicéridos de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)	93
Figura 65. Perfil de ácidos grasos de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)	94
Figura 66. Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar).	94
Figura 67. Composición de las grasas trans presentes en la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)	95
Figura 68. Perfil de triglicéridos de la réplica de experimento 4.	96
Figura 69. Perfil de ácidos grasos de la réplica del experimento 4	96
Figura 70. Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, de la réplica del experimento 4.	97
Figura 71. Composición de las grasas trans presentes en la réplica del experimento 4.	97
Figura 72. Perfil de triglicéridos del experimento 7	98
Figura 73. Perfil de ácidos grasos del experimento 7	99
Figura 74. Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, del experimento 7.	99
Figura 75. Composición de las grasas trans presentes en el experimento 7	100
Figura 76. Muestras de mezclas interesterificadas por ruta química y enzimática	102
Figura 77. Costos de inversión	111
Figura 78. Estructura de un Triglicérido	121
Figura 79. Estructuras tridimensionales de los ácidos grasos	123

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Palma (<i>Elaeis guineensis</i>)	23
Tabla 2. Perfil de Ácidos Grasos de la Estearina de Palma	24
Tabla 3. Perfil de Ácidos Grasos de la Estearina de Palma	25
Tabla 4. Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Soya	26
Tabla 5. Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Canola	26
Tabla 6. Identificación de las variables del proceso de interesterificación enzimática encontradas en la revisión bibliográfica	44
Tabla 7. Distribución de los niveles de los factores del diseño de experimentos	47
Tabla 8. Distribución del diseño de experimentos factorial	48
Tabla 9. Tabla resumen del diseño de experimentos	71
Tabla 10. Análisis de varianza %SFC (20°C) Salida-%SFC (20°C) Entrada del diseño de experimentos.	73
Tabla 11. Masa de la muestra del aceite 1 y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.	90
Tabla 12. Masa de la muestra del aceite 2 y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.	91
Tabla 13. Masa de la muestra de la mezcla grasa y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.	92
Tabla 14. Resumen del valor de la acidez de cada uno de los experimentos realizados	100
Tabla 15. Tabla Resumen de los puntos de fusión de cada uno de los experimentos realizados Tabla Resumen de los puntos de fude cada uno d los experimentos realizado	101
Tabla 16. Costos de la materia prima usada en la producción de la mezcla grasa a escala piloto	105
Tabla 17. Costos de la mano de obra para producción de la mezcla grasa	106
Tabla 18. Costos de análisis de laboratorio para la caracterización de la mezcla grasa	106
Tabla 19. Costos de los servicios industriales a escala piloto	108
Tabla 20. Costos de los servicios de mantenimiento a escala piloto	108
Tabla 21. Costo total de producción de la mezcla grasa interesterificada enzimáticamente.	108

Tabla 22. Costo del kilo de la mezcla grasa obtenida por interesterificación enzimática a escala industrial	109
Tabla 23. Costo del kilo de la mezcla grasa obtenida por interesterificación química a escala industrial	109
Tabla 24. Precio del kilo de la mezcla grasa por ruta enzimática y química	110
Tabla 25. Proyección de los costos de inversión para el año 2021	111
Tabla 26. Resumen de ingresos, costos operacionales y ganancias	112
Tabla 27. Resumen de egresos anuales en la producción de interesterificación enzimática a escala industrial	112
Tabla 28. Indicadores de bondad del proyecto de interesterificación enzimática a escala industrial	112
Tabla 29. Tasa de interés de oportunidad y valor actual	113

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrolló un estudio experimental con el fin de evaluar el proceso de interesterificación enzimática de una mezcla de aceites vegetales para la obtención de una mezcla grasa apta para la elaboración de margarinas, tomando como base los parámetros fisicoquímicos establecidos por la compañía SIGRA S.A los cuales son curva de sólidos y punto de fusión.

En primer lugar, para identificar las variables más importantes de la reacción de interesterificación enzimática, se realizó una investigación basada principalmente en artículos y tesis, obtenidos de bases de datos como Science Direct y Springer Link, los cuales debían estar encaminados hacia la interesterificación de aceites vegetales para su aplicación en la elaboración de margarinas y sobre el uso de la enzima Lipozyme TL IM, ya que este biocatalizador es una de las enzimas más importantes y reconocidas en la industria de aceites y grasas.

Una vez recopilada la información, se propuso un diseño de experimentos 3^2 con el fin de analizar el efecto de las variables (Porcentaje de enzima/sustrato y temperatura) sobre el perfil de sólidos de la mezcla grasa interesterificada, donde la agitación y tiempo de reacción se mantuvieron constantes. Para este diseño de experimentos se manejó un rango de porcentaje enzima/sustrato del 2,50-8,50% (+/- 0,05), y un rango de temperatura de 60,00-70,00°C (+/- 0,50), donde se obtuvo un total de 9 experimentos donde las mejores condiciones de reacción se encontraron en el rango de 5,00 %-8,50 % p/p de la enzima (+/- 0,05) y 60,00-65,00 °C (+/- 0,50).

Se caracterizó la mezcla sin interesterificar e interesterificada teniendo en cuenta las siguientes propiedades fisicoquímicas como acidez el cual mide el porcentaje de ácidos grasos libres, punto de fusión el cual hace referencia a la temperatura por la cual se funden todos los sólidos, curva de sólidos el cual hace referencia al comportamiento de la grasa a distintas temperaturas y la cromatografía de ácidos grasos el cual mide el porcentaje de los ácidos grasos de la muestra. En paralelo, se determinaron los costos del proceso de interesterificación enzimática con el fin de identificar su viabilidad en la industria.

PALABRAS CLAVE: Interesterificación, Lipozyme TL IM, Contenido de Grasa Sólida, Hidrolisis, Triglicéridos, Acidez, Punto de Fusión, Perfil de Ácidos Grasos,

INTRODUCCIÓN

SIGRA S.A. es una compañía colombiana dedicada a la producción y comercialización de aceites y grasas para la industria panificadora y pastelera. Dentro de sus operaciones se destaca la transformación de aceites vegetales crudos, los cuales se someten a un proceso de refinado para la obtención de aceites comestibles siendo estos productos intermedios para la elaboración de bienes de consumo básico principalmente margarinas industriales, grasas para panadería y aceites para freír.

Las bases para margarinas pueden ser producidas por diferentes métodos que permitan la modificación de aceites y grasas, dentro de los cuales se encuentra el fraccionamiento, la hidrogenación, la interesterificación o una combinación de estos [1], con el fin de obtener un producto con propiedades deseables como textura, consistencia, arenosidad y capacidad de esparcimiento.

La aplicación de estos métodos para la modificación de aceites para la producción de margarinas y grasas especiales, requiere de post-tratamientos los cuales generan mermas inherentes en el proceso. Una de las tecnologías tradicionales que se usa actualmente es la interesterificación química, que por la naturaleza del catalizador utilizado, genera jabones y color, por lo que se requiere un proceso con ácido cítrico para eliminar el contenido de jabones, ocasionando unas mermas de alrededor del 1,50-2,00% [2], además, debido al uso de catalizadores químicos, se genera color siendo necesario realizar un proceso extra de blanqueamiento, en donde se agrega tierra clarificante al aceite, para que este cumpla con los parámetros de calidad.

Teniendo en cuenta lo anterior, se planteó evaluar el proceso de interesterificación enzimática de una mezcla de aceites para la obtención de una base grasa para margarinas en SIGRA S.A, determinando las propiedades fisicoquímicas de la mezcla grasa y las condiciones de operación para el proceso, con el fin de implementar un método sostenible para la modificación de aceites que este no altere la calidad del producto final y a su vez permita reducir el porcentaje de mermas en el proceso debido a que no usa productos químicos, además evitando la formación de isómeros trans [3].

En el presente trabajo se encontrarán las generalidades y descripción del proceso de modificación de grasas en la empresa SIGRA S.A., la teoría relacionada con la materia prima, sus aplicaciones industriales y propiedades fisicoquímicas. Además, se presentan los resultados y diagnóstico de las propiedades fisicoquímicas de la mezcla grasa; los resultados del desarrollo experimental para establecer las mejores condiciones de operación y los costos de producción del proceso de interesterificación enzimática.

OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el proceso de interesterificación enzimática de una mezcla de aceites para la aplicación del producto obtenido en una base para margarinas.

Objetivos específicos

- 1.** Identificar las variables del proceso para la obtención de una mezcla semisólida por medio de interesterificación enzimática.
- 2.** Determinar las condiciones de operación para la obtención de una mezcla base para la elaboración de margarinas por medio de interesterificación enzimática.
- 3.** Caracterizar las propiedades fisicoquímicas de la mezcla de aceites, sin interesterificar e interesterificada.
- 4.** Evaluar los costos de producción de la mezcla de aceites interesterificada enzimáticamente.

JUSTIFICACIÓN

El negocio de margarinas en el país mueve al año \$250.000 millones, de los cuales 46,00% corresponde a margarinas esparcibles y el resto a duras o de cocina. SIGRA S.A factura 70 toneladas de margarina al mes, lo que implica que tiene el 4,00% del mercado [4]. Paralelamente, los aceites vegetales resultan ser la materia prima esencial para la elaboración de estos bienes de consumo usados en la industria panificadora y pastelera, no obstante, los aceites y grasas deben ser sometidos a procesos de modificación química como la interesterificación, la cual permite reordenar los ácidos grasos dentro de los triglicéridos (TG) de las formulaciones utilizando diversas materias primas y procedimientos que posibilitan la obtención de texturas y funcionalidades particulares [5].

La interesterificación química ha venido complementando el proceso de hidrogenación en estos últimos años, sin embargo, debido al uso de catalizadores químicos a elevadas temperaturas facilita la formación de jabones y de color, siendo necesario realizar operaciones de lavado con ácidos cítrico para la remoción de jabón y adición con tierra de blanqueo para la remoción del color, generando pérdidas de aceite inherentes al proceso.

Al evaluar el proceso de interesterificación enzimática, se reducirán los residuos en el proceso ya que al ser una tecnología limpia y sin químicos, no genera jabón y color [3]. Adicionalmente, el proceso no permite la formación de transisómeros (Grasas Trans) debido al empleo de lipasas las cuales realizan modificaciones selectivamente a temperaturas menores en comparación con la interesterificación química, obteniendo, así como producto final una mezcla grasa con propiedades deseables.

Los conocimientos integrales del Ingeniero Químico permiten desarrollar este proyecto, puesto que cuenta con habilidades para el diseño de procesos para la modificación fisicoquímica de los aceites para la obtención de productos con características específicas, inocuos y viables económicamente. A su vez, cuenta con destrezas y conocimientos en el sector de oleoquímica aplicada para determinar los parámetros adecuados para el procesamiento de aceites y grasas junto con habilidades para la medición de sus propiedades fisicoquímicas para analizar la calidad del producto final.

1. GENERALIDADES

Con el fin de dar un panorama y tener conocimiento de la empresa en la que se desarrollará el proyecto en cuestión, en este capítulo se presentan sus generalidades corporativas tales como misión y visión, el proceso de refinado de aceites incluyendo los principales aspectos como materia prima y procesos de modificación de aceites.

1.1 Proceso Productivo de SIGRA S.A

El proceso de producción que se lleva a cabo en SIGRA S.A para la elaboración de sus margarinas se ilustra en la figura 1, donde se observa que el proceso comienza con la recepción de la materia prima y respectivo almacenamiento, los diferentes aceites crudos se someten a un proceso de refinación y desodorizado para obtener aceites comestibles, a partir de esta etapa inicia la modificación de aceites para obtener grasas con propiedades deseables para la elaboración de margarina y finalmente su comercialización y distribución

Figura 1.

Proceso de producción en SIGRA S.A



Nota. En el presente diagrama se puede observar el proceso productivo para la elaboración de margarinas en SIGRA S.A.

1.2 Misión

El propósito de la compañía SIGRA S.A es inspirar a las personas para que sobresalgan en lo que hacen, innovando constantemente, desde un rico alimento, un próspero negocio, hasta una idea que proteja y transforme al mundo [6]

1.3 Certificaciones

SIGRA S.A, cuenta con las siguientes certificaciones como el Reconocimiento PREAD Categoría ELITE, Certificación ISO 9001:2015, Certificación KOSHER y Buenas prácticas de innovación [6].

1.4 Proceso De Refinación de Aceites Vegetales

El proceso de refinación engloba una serie de etapas necesarias que permiten la eliminación de fosfolípidos, ácidos grasos libres, pigmentos, sabores, olores e impurezas en el aceite de uso alimentario, a continuación, se describe cada una de las etapas presentes en el proceso para el caso del aceite de palma:

1.4.1 Proceso de Desgomado

Es la primera etapa del proceso de refinación, permite la eliminación de gomas o fosfolípidos, lo cual es esencial debido a que aumenta la inestabilidad del producto y puede aportar turbidez debido a la formación de precipitados, además que la presencia de estas sustancias en procesos posteriores como el desodorizado puede otorgar un color oscuro indeseado, en esta etapa por lo general se realiza adición de ácido cítrico en donde este entra en contacto con el aceite a ciertas condiciones de temperatura y agitación [7].

1.4.2 Proceso de Blanqueado

La etapa de blanqueo es la encargada de reducir las sustancias que provocan coloración en el aceite como los carotenos, clorofilas, sales metálicas, peróxidos, ácidos grasos libres, aldehídos, cetonas, entre otros; esto por medio del uso de arcillas minerales denominadas como tierras de blanqueo. Las tierras de blanqueo por lo general están constituidas por montmorillonita, atapulgita y cuarzo, en el caso del blanqueo de aceite de palma la dosificación es de 0,8-1 kg de tierra de blanqueo por 100 kg de aceite crudo [8].

1.4.3 Proceso de Desodorizado

Es la última etapa de la refinación, consiste en un proceso de destilado para la eliminación de ácidos grasos libres y compuestos volátiles para obtener un aceite inodoro. Para este proceso se necesita de un sistema de destilación al vacío al que se le alimenta una corriente de vapor a alta temperatura que logre arrastrar los compuestos indeseados y posteriormente pasar a una fase de enfriamiento para conservar las propiedades naturales del aceite [9] .

1.5 Métodos de Modificación de Aceites y Grasas

La modificación de las grasas es una de las áreas más importantes en la oleoquímica aplicada puesto que los aceites vegetales en su forma original poseen aplicaciones limitadas. La distribución de los triglicéridos y la composición en ácidos grasos, otorgan características específicas y definen las propiedades fisicoquímicas de una mezcla grasa, estas características pueden ser modificadas mediante diferentes procesos como la hidrogenación, la interesterificación y el fraccionamiento de los aceites. Así mismo estos procesos permiten aprovechar las diferentes mezclas de grasas brindándoles un valor agregado para ser utilizadas en la industria en diferentes aplicaciones alimenticias, como margarinas, grasas para confitería, grasas para helado, grasa para hojaldres, entre otros.

1.5.1 Fraccionamiento

Antes de describir el proceso de fraccionamiento, en este caso de aceite de palma, es de suma importancia describir la composición que tiene este tipo de aceite y porque es ideal en este proceso. A temperatura ambiente el aceite de palma es una grasa semisólida, que consiste de una mezcla de triglicéridos saturados e insaturados cuya proporción depende del origen y tipo de aceite, todos estos triglicéridos poseen diferentes puntos de fusión y formas de cristalización.

El fraccionamiento, es un proceso de modificación donde los triglicéridos del aceite son separados como una mezcla de cristalización parcial en una fase líquida (Oleína) y en una fase sólida (Estearina). El fraccionamiento en seco está compuesto por dos operaciones fundamentales, el enfriamiento y la separación de las fracciones. El aceite se somete a sucesivas etapas de enfriamiento, hasta alcanzar la temperatura óptima para que los cristales formados crezcan y sean fáciles de separar de la fase que permanece líquida. La separación de la oleína y de la estearina se hace por lo general mediante filtros prensa de placas o filtros de membrana [10]. El rendimiento del proceso depende de la correcta separación de las dos fracciones, ya

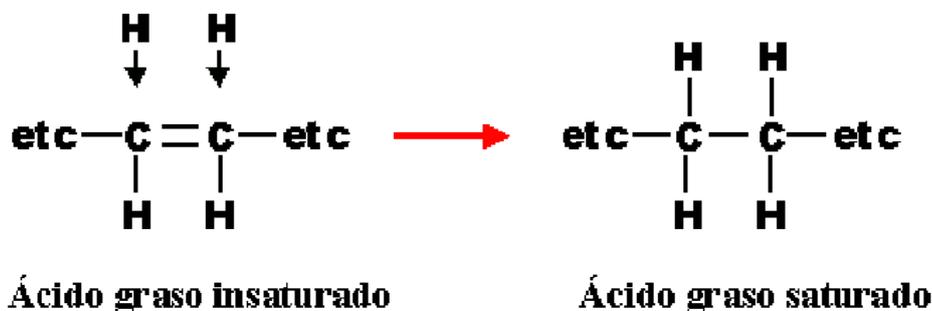
que puede quedar oleína retenida, en la torta de estearina, esto por lo general depende del equipo que se utilice y de su correcta operación.

1.5.2 Hidrogenación

La hidrogenación de aceites es un proceso en el cual por medio de adición de gas hidrógeno se saturan los dobles enlaces de la cadena carbonada del ácido graso utilizando un catalizador a base de níquel o metales nobles [11], esto con el fin de mejorar la estabilidad oxidativa y modificar las propiedades fisicoquímicas del aceite obteniendo una grasa semisólida para posteriores aplicaciones industriales como elaboración de margarinas, grasas comestibles, grasas para freír, grasas especiales entre otros. En la figura 2 se observa la reacción de hidrogenación, la adición de hidrogeno permite romper el doble enlace, transformando el ácido graso insaturado en ácido graso saturado.

Figura 2.

Hidrogenación de un ácido graso saturado.



Nota. La presente figura presenta la transformación de un ácido graso insaturado el cual se convierte en un ácido graso saturado por medio de la adición de hidrógeno. Tomado de: Manual de Nutrición y Dietética, Universidad Complutense de Madrid, España, 2016, pp. 52. [En línea]. Disponible: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/22755/1/Manual-nutricion-dietetica-CARBAJAL.pdf>

1.6 Tipos de Aceites Vegetales

En este capítulo, se muestran los tipos de aceites vegetales que se tienen para realizar la mezcla grasa donde se identifican características tales como su origen, sus principales características organolépticas y sus aplicaciones en la industria de alimentos, con el fin de estudiar a más profundidad las propiedades de los aceites para el desarrollo del presente estudio:

1.6.1 Aceite de Palma

El aceite de palma se utiliza en la industria de aceites y grasas comestibles, especialmente en la formulación de aceites líquidos, margarinas y grasas especiales para la industria de alimentos. Gracias a su relación de ácidos grasos, de este aceite se obtiene dos fracciones: Estearina (Fracción sólida) y Oleína (Fracción líquida), las cuales tienen un amplio rango de usos a nivel industrial, por lo que se considera como una materia prima versátil, estable y de gran valor nutricional [12]. En la tabla 1 se puede observar el perfil de ácidos grasos del aceite de palma, se constituye principalmente por ácido oleico y linoleico que se clasifican como ácidos grasos insaturados y por ácido palmítico y esteárico que se clasifican como ácidos grasos saturados.

Tabla 1.

Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Palma (Elaeis guineensis)

Ácido Graso	Valor (%)
Láurico C12:0	<0,5
Mirístico C14:0	0,5 – 2
Palmítico C16:0	39,3 – 47,5
Palmitoléico C16:1	<0,6
Margárico C17:0	<0,2
Esteárico C18:0	3,5 – 6
Oleico C18:1	36 – 44
Linoleico C18:2	9 – 12
Linolénico C18:3	<0,5
Araquídico C20:0	<0,1
Gadoléico C20:1	<0,4
Behénico C22:0	<0,2

Nota. La presente tabla presenta la composición de ácidos grasos en porcentaje del aceite de palma (*Elaeis guineensis*). Tomado de: Gaxoleum Ficha Técnica Aceite de Palma

1.6.2 *Estearina de Palma*

Aceite sólido comestible, obtenido por fraccionamiento en seco del aceite de palma totalmente refinado y desodorizado [13]. Se caracteriza por tener una apariencia blanca a temperatura ambiente y resulta ser la fracción sólida del aceite de palma RBD, la cual la hace de gran aprovechamiento a nivel industrial para la elaboración de diferentes productos alimenticios, como margarinas para panadería, grasas para confitería, grasas especiales para la elaboración de helados, entre otros. En la tabla 2 se observa el perfil de ácidos grasos de la estearina de palma que se constituye principalmente por ácido palmítico, que se encuentra dentro los ácidos grasos saturados, razón por la cual se encuentra en estado sólido a temperatura ambiente.

Tabla 2.

Perfil de Ácidos Grasos de la Estearina de Palma

Ácido Graso	Valor (%)
Caproico C6:0	NP
Caprílico C8:0	NP
Cáprico C10:0	NP
Láurico C12:0	Máximo 0,4
Mirístico C14:0	1,1 - 1,8
Palmítico C16:0	45-65
Esteárico C18:0	3-5
Oleico C18:1	32 – 37
Linoleico C18:2	3,2 - 9,8
Linolénico C18:3	Menor a 0,6

Nota. La presente tabla presenta la composición de ácidos grasos en porcentaje de la estearina de palma. Tomado de: C.I BIOCOSTA S.A Ficha Técnica Estearina de Palma RBD

1.6.3 *Aceite de palmiste*

El aceite de palmiste es extraído de la almendra del fruto de la palma por medio de extracción de solventes para su posterior proceso de refinado, blanqueado y desodorizado, este se caracteriza por tener una composición alta en ácidos grasos saturados, principalmente en ácido láurico al cual se le debe su alto grado de estabilidad, por lo que a temperatura ambiente se mantiene en estado semisólido y presenta un color amarillo-blanco [14].

El aceite de palmiste es de gran importancia en la industria de alimentos ya que este se encuentra en la formulación de distintas grasas especiales para la preparación de margarinas de fusión rápida y de mesa, grasas para confitería, masas para galletas y cremas para rellenos, helados, entre otros. En la tabla 3 se presenta el perfil de ácidos grasos del aceite de palmiste, principalmente se constituye de ácido oleico que representa alrededor del 14.8 % y de ácido láurico que representa alrededor del 48.7%

Tabla 3.

Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Palmiste

Ácido Graso	Valor (%)
Caproico C6:0	0,3
Caprílico C8:0	4,2
Cáprico C10:0	3,7
Láurico C12:0	48,7
Mirístico C14:0	15,6
Palmítico C16:0	7,5
Esteárico C18:0	1,8
Oleico C18:1	14,8
Linoleico C18:2	2,6
Otros	0,1

Nota: La presente tabla presenta la composición de ácidos grasos en porcentaje del aceite de palmiste. Tomado de: T.P. Pantzaris; Mohd Jaaffar Ahmad, Propiedades y usos del aceite de palmiste, PALMA S Vol. 23 No. 3, 2002, pág 3.

1.6.4 Aceite de Soya

El aceite de soya proviene de una semilla leguminosa que se extrae por prensado, es un aceite abundante en ácidos grasos polinsaturados y la lecitina el cual es un subproducto de la soya se conoce como la fuente universal de fosfolípidos. El aceite de soya RBD es un producto líquido a temperatura ambiente que se obtiene al procesar el aceite desgomado de soya tras pasar por las etapas de refinado, blanqueado y desodorizado, procesos que lo hacen apto para consumo humano. En la tabla 4 se presenta el perfil de ácidos grasos del aceite de soya, se caracteriza por que presenta la presencia de ácidos grasos polinsaturados esenciales, principalmente ácido linoléico que se encuentra entre el 49% y 57,1 % y ácido linolénico alrededor del 5,5 % y 9.5%

Tabla 4.*Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Soya*

Ácido Graso	Valor (%)
Mirístico C14:0	0,4 Máximo
Palmítico C16:0	9,5 – 13,3
Esteárico C18:0	3,0 – 5,4
Oleico C18:1	17,7 – 28,5
Linoleico C18:2	49,0 – 57,1
Linolénico C18:3	5,5 – 9,5
Araquídico C20:0	0,1 – 0,6
Behénico C22:0	0,5 Máximo

Nota. La presente tabla presenta la composición de ácidos grasos en porcentaje del aceite de soya. Tomado de: Oleofinos, Especificación Técnica Aceite de Soya RBD (2013)

1.6.5 Aceite de Canola

El aceite de canola, principalmente se compone de ácidos grasos monoinsaturados y se extrae por prensado o extracción de solventes [15]. En la tabla 5 se observa el perfil de ácidos grasos del aceite de canola, que se compone principalmente por ácido oleico alrededor del 52% y 67 %, seguido por ácido linoléico alrededor del 16 % y 25 %

Tabla 5.*Perfil de Ácidos Grasos del Aceite de Canola*

Ácido Graso	Valor (%)
Palmítico C16:0	3,3 - 6,0
Palmitoléico C16:1	0,10 – 0,60
Margárico C17:0	0,30 Máximo
Esteárico C18:0	1,10 – 2,5
Oleico C18:1	52,0 – 67,0
Linoleico C18:2	16,0 – 25,0
Linolénico C18:3	6,0 – 14,0

Nota. La presente tabla presenta la composición de ácidos grasos en porcentaje del aceite de canola. Tomado de: Oleofinos, Especificación Técnica Aceite de Canola RBD (2013)

2. PROCESO DE INTERESTERIFICACIÓN EN LA INDUSTRIA DE ACEITES Y GRASAS PARA LA ELABORACIÓN DE MARGARINAS

Para tener un panorama respecto a los términos y conceptos que se emplearán en el presente trabajo y comprender de mejor manera los resultados que se obtengan, en el presente capítulo se presentan conceptos sobre la reacción de interesterificación para la modificación de aceites y grasas, la descripción del proceso de interesterificación enzimática, las propiedades fisicoquímicas que permitirán caracterizar la mezcla grasa y finalmente una breve descripción de la elaboración de las margarinas:

2.1 Interesterificación

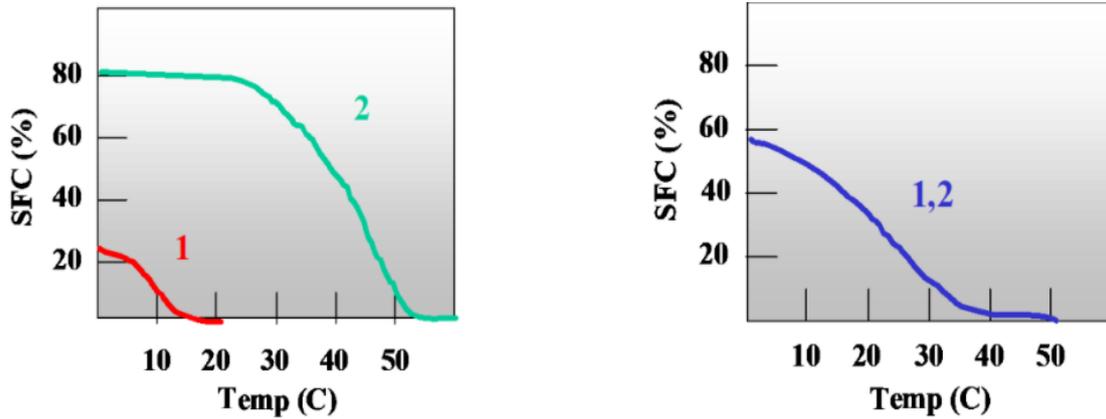
La interesterificación es uno de los procesos más importantes para la industria de grasas y aceites, es una reacción que promueve el reordenamiento de los ácidos grasos modificando la composición de los triglicéridos que forman los lípidos, permitiendo que se combinen con ácidos grasos libres, alcoholes o éteres [16], es importante destacar que esta modificación no altera la composición química y mejora las propiedades físicas y nutricionales de las mismas.

A diferencia de la hidrogenación, este método no actúa sobre la estructura de los ácidos grasos, por lo cual no se produce isomerización posicional y geométrica, por lo que no permite la formación de ácidos grasos trans [17]. El proceso de interesterificación se lleva a cabo en presencia de un catalizador, dependiendo de este, puede ser química o enzimática [18]. El propósito general de la interesterificación es mezclar dos aceites y/o grasas con características fisicoquímicas distintas para la obtención de una nueva grasa homogénea con características físicas intermedias, por medio de la acción de un catalizador [2].

Las propiedades fisicoquímicas más importantes que intervienen en el proceso de interesterificación es modificar la curva de fusión de sólidos y el punto de fusión de la mezcla grasa, esto con el fin de mejorar la compatibilidad de los distintos triglicéridos en estado solidificado para la producción de grasas con plasticidad ideal sin la formación de isómeros trans. En la figura 3, se puede observar la influencia del proceso de interesterificación en el contenido de grasa sólida de una mezcla de aceites para la obtención de propiedades deseables e intermedias. Al lado izquierdo se observa el perfil de grasa sólida de dos aceites con propiedades fisicoquímicas diferentes, mientras al lado derecho se observa el perfil de grasa sólida de la mezcla resultante con propiedades intermedias

Figura 3.

Perfil de sólidos para la obtención de una mezcla grasa con sólidos intermedios.

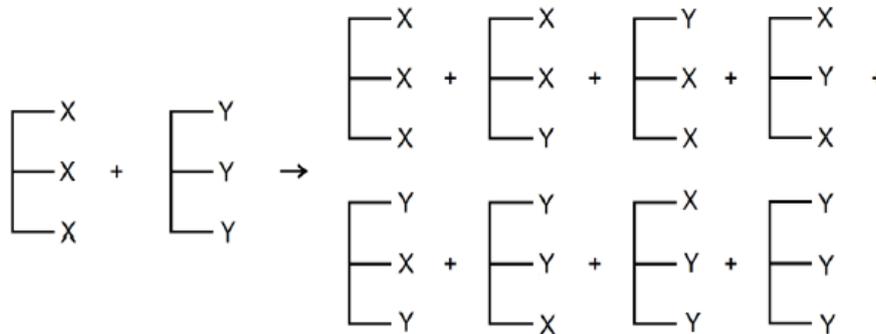


Nota. La presente figura muestra la combinación de dos aceites con distinto perfil de sólidos para la obtención de una mezcla grasa con sólidos intermedios. Tomado de: Ghion Serge, Tecnologías de Interesterificación Química y Enzimática, p.p. 16, (2018).

En la figura 4, se muestra un esquema general del proceso de interesterificación donde se evidencia un cambio en el perfil de triglicéridos, donde se conserva la composición de los ácidos grasos de la mezcla grasa a interesterificar:

Figura 4.

Esquema general de la reacción de interesterificación

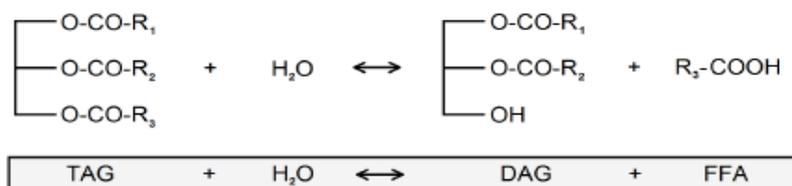


Nota. En la figura se presenta el esquema general de la reacción de interesterificación, considerando dos tipos de triglicéridos XXX y YYY. Tomado de: C. Pacheco, Cinética de la Interesterificación Enzimática de Aceites Vegetales, Tesis De Doctor En Ingeniería Química Universidad Nacional Del Sur, p.p. 9. 2012.

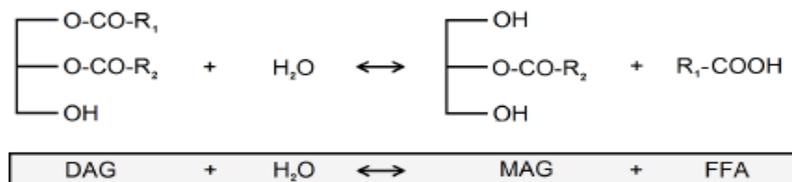
Las reacciones presentadas en la figura 5, son de suma importancia para entender el proceso de interesterificación. En primer lugar, como se evidencia en la fig. 5(a), se presenta inicialmente la hidrólisis de los triglicéridos (TAG) en diglicéridos (DAG) y ácidos grasos libres (FFA), se debe tener en cuenta que durante esta primera etapa, ocurre un proceso en paralelo de reinteresterificación el cual consiste en la unión del DAG generado con un FFA para la formación de un nuevo triglicérido, dependiendo de los FFA que se encuentren en el medio, ya que esta reacción es reversible, en esta etapa como tal se da todo el proceso de interesterificación. Por otro lado, se pueden presentar reacciones secundarias las cuales consisten en la hidrólisis de los DAG en MAG y FFA y en últimas ocasiones la formación de glicerol. Estas reacciones se pueden evitar controlando la cantidad de agua presente en el sistema [19].

Figura 5.

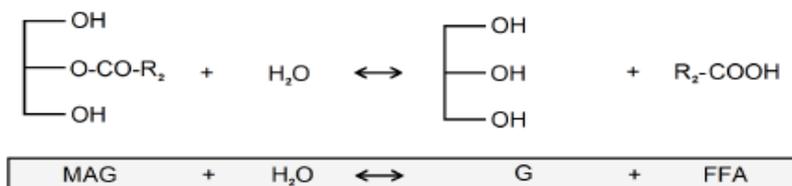
Reacciones que interfieren en el proceso de interesterificación.



(a)



(b)



Nota. En la fig. 5(a) se presenta la reacción principal de interesterificación y en la fig. 5(b) y 5(c), se presentan las reacciones secundarias del proceso de interesterificación. Tomado de: C. Pacheco, Cinética de la Interesterificación Enzimática de Aceites Vegetales, Tesis De Doctor En Ingeniería Química Universidad Nacional Del Sur, p.p. 11. 2012.

2.1.1 Interesterificación Química

La interesterificación química es inducida mediante la mezcla de los componentes de aceites y grasas con un catalizador químico que por lo general son metales alcalinos, alcoholatos e hidróxido de sodio con glicerol, este proceso se caracteriza por trabajar a altas temperaturas entre los 60 y 200°C [20].

Es importante destacar que la efectividad de este proceso depende de las condiciones iniciales de acidez libre, humedad e índice de peróxidos del aceite a interesterificar, si estas propiedades no cumplen con los parámetros establecidos, la reacción no se puede llevar a cabo exitosamente ya que pueden envenenar el catalizador. Por otro lado, dentro del proceso es muy importante la etapa de secado del catalizador ya que si esto no se realiza provocara que el catalizador se desactive, es decir que este es un proceso en donde el aceite se debe someter a varios cambios de temperatura y agitación.

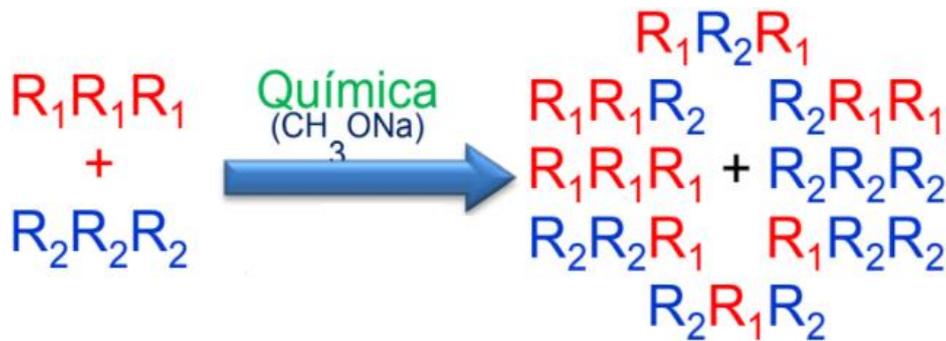
<<La reacción se divide en tres partes, inducción, intercambio y terminación. El periodo de inducción consta de la reacción del catalizador con los glicéridos para producir un intermediario el cual es un compuesto de sodio derivado de un diacilglicerol, sin tener todavía intercambio de los grupos acilo, lo anterior genera aparición de un color marrón indicando que la interesterificación ha iniciado completamente. Seguidamente comienza el intercambio de grupos acilos hasta alcanzar el equilibrio termodinámico, indicando el periodo de finalización debido al agotamiento de agua para destruir el compuesto intermediario>> [16].

Debido al uso de un catalizador químico se favorece la formación de ácidos grasos libres los cuales pueden reaccionar con el catalizador favoreciendo la formación de jabones los cuales deben ser neutralizados con ácido cítrico y blanqueamiento con tierra activada debido a la formación de color.

En la figura 6, se presenta la reacción de interesterificación química aleatorizada es la más común y se denomina de esta forma ya que reordena todos los ácidos grasos (R) entre sí a lo largo del triglicérido.

Figura 6.

Reacción tipo aleatoria formada a partir de la reacción de interesterificación química.



Nota. En la presente figura se muestra el mecanismo de reacción tipo aleatoria de la interesterificación química. Tomado de: Ghion Serge, Tecnologías de Interesterificación Química y Enzimática, p.p. 16, (2018).

En la figura 7, se presentan las diversas etapas del proceso de interesterificación química, inicialmente se debe tratar previamente los aceites a usar, sometiéndolos a un proceso de refinación y desodorización, seguidamente se procede a realizar la mezcla de aceites para llevar a cabo la reacción catalizada químicamente, debido a la formación de jabón y color en el transcurso de la reacción, la mezcla debe ser sometida a un proceso de pos-tratamiento que consiste en la eliminación de jabones por adición de ácido cítrico y blanqueamiento con tierra activada, seguidamente la mezcla debe ser sometida a un proceso de filtración para separar la tierra del aceite y finalmente la mezcla grasa debe ser desodorizada nuevamente.

Figura 7.

Etapas del proceso de interesterificación química



Nota. En la presente figura se muestra el diagrama de bloques para llevar a cabo el proceso de interesterificación química. Tomado de: Ghion Serge, Tecnologías de Interesterificación Química y Enzimática, p.p. 22, (2018).

2.1.2 Interesterificación Enzimática

La interesterificación enzimática es un proceso que utiliza como catalizador “enzimas biológicas provenientes de bacterias, hongos y levaduras, normalmente lipasas inmovilizadas. Generalmente este proceso se caracteriza por trabajar a temperaturas bajas próximas a los 70 °C. Es un proceso que no requiere de tratamientos de blanqueo y eliminación de subproductos, debido a que no genera color y tampoco permite la producción de jabones” [16].

Para este caso, la función principal de la enzima es catalizar la reacción química alterando las propiedades fisicoquímicas de la grasa, a este último se le conoce como sustrato. En la figura 8, se muestra un esquema de la interacción enzima- sustrato a lo largo del proceso, inicialmente el sustrato se une a la enzima a sus centros activos, formando el complejo enzima sustrato, que al transformar el sustrato inicial da como resultado un producto con características deseables.

Figura 8.

Ciclo de acción de los enzimas con la formación del complejo enzima sustrato y la liberación de los productos.



Nota. En la presente figura se muestra la interacción de la enzima sobre el sustrato y su posterior liberación de productos. Tomado de: CASERES MARÍA, Complejo Enzima-Sustrato, Departamento de Biología-Geología

La interesterificación enzimática posee una serie de ventajas con respecto a la química tales como, condiciones menores de presión y temperatura, especificidad hacia los sustratos, eliminación de efluentes propios de la remoción de catalizadores, reducción de degradación de los productos y de la aparición de productos secundarios. La interesterificación enzimática se puede implementar en procesos batch o continuos, por lo general el proceso continuo es el más aceptado utilizando un reactor de lecho fijo [21], para este caso de estudio se evaluará la reacción un reactor tipo batch. Otros factores importantes a tener en cuenta en el proceso es el control de la temperatura, pH y humedad con el fin de evitar la degradación de la enzima.

En la figura 9, se presenta la reacción de interesterificación enzimática, debido al uso de enzimas selectivas en las posiciones 1 y 3, se puede observar que R1 y R2, que representan las posiciones extremas del triglicérido, cambian a lo largo de la reacción, mientras la posición 2 (U), se mantiene intacta

Figura 9.

Reacción tipo selectiva formada a partir de la reacción de interesterificación enzimática

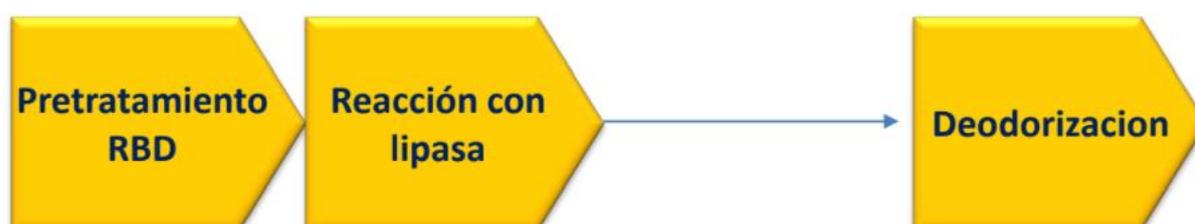


Nota. En la presente figura se muestra el mecanismo de reacción selectivo en las posiciones 1 y 3 del triglicérido en la interesterificación enzimática Tomado de: Ghion Serge, Tecnologías de Interesterificación Química y Enzimática, p.p. 16, (2018).

En la figura 10, se presentan las diferentes etapas del proceso de interesterificación enzimática, para el cual se usa una mezcla grasa, a partir de aceites refinados y desodorizados, posteriormente como se observa en la figura, la mezcla es sometida al proceso de reacción catalizada por las lipasas, ya que las lipasas no generan formación de color ni de jabón, la mezcla interesterificada es llevada finalmente al proceso de desodorización, representando así, un proceso más simple en comparación con la interesterificación química [2].

Figura 10.

Etapas del proceso de interesterificación enzimática

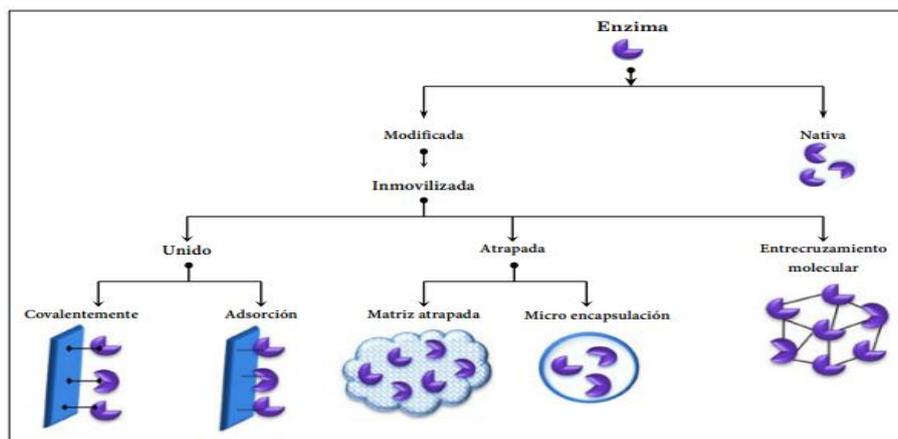


Nota. En la presente figura se muestra el diagrama de bloques para llevar a cabo el proceso de interesterificación enzimática. Tomado de: Ghion Serge, Tecnologías de Interesterificación Química y Enzimática, p.p. 22, (2018).

2.1.2. a Enzima Lipozyme TL IM Inmovilizada. Las enzimas son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, siempre que sea termodinámicamente posible [22], en este caso, mediante el control de contenido de agua es posible que la enzima promueva la ocurrencia de reacción de esterificación, la concentración óptima de agua del sistema debe ser lo suficientemente baja con el fin de minimizar las reacciones de hidrólisis, no obstante, la presencia de la misma es necesaria para la integridad de la enzima y para la generación de productos intermediarios necesarios de la reacción [19]. En la interesterificación enzimática principalmente la enzima que se utiliza, es suministrada por la compañía Novozymes y se denomina Lipozyme TL IM es una lipasa específica 1,3 procedente de *Thermomyces lanuginosus* e inmovilizada sobre un portador de gel de sílice. Lipozyme TL IM es un catalizador altamente eficaz para la interesterificación y puede reorganizar los ácidos grasos preferentemente en las posiciones 1 y 3 de los triglicéridos, esta exhibe un alto grado de selectividad de sustrato permitiendo cadenas laterales voluminosas y grupos grandes en la parte de alcohol y ácido de la molécula [23]. En la figura 11, se puede observar la clasificación de las enzimas inmovilizadas, dependiendo del método utilizado, para el caso en estudio como la enzima se encuentra en soporte de sílice, esta se encuentra dentro de las enzimas inmovilizadas atrapadas en una matriz.

Figura 11.

Clasificación de las enzimas inmovilizadas



Nota. En la presente figura se puede observar los tipos de inmovilización de las enzimas, Tomado de: CACHAGO CHÁVEZ Israel Bolívar. Estudio de hidrólisis en aceite de coco virgen (*Cocos nucifera*) mediante el uso de lipasas inmovilizadas aplicando el diseño de superficie de respuesta. Trabajo de grado Químico. Quito. Universidad central del Ecuador.2015. p 13

La enzima también se caracteriza por ser regioespecifica es decir que tiene la capacidad de dividir ácidos grasos en las posiciones sn 1-3 del TG e hidrolizan para proporcionar ácidos grasos libres, diglicéridos y monoglicéridos [24]. En la figura 12, se presentan las diferentes condiciones para usar las enzimas inmovilizadas y características del medio de la reacción de interesterificación enzimática, según la ficha técnica de lipasas inmovilizadas para biocatalisis que ofrece la compañía Novozymes

Figura 12.

Propiedades de las enzimas inmovilizadas para biocatalisis de Novozymes

Product name	Activity*	pH optimum	Temp optimum	Substrate specificity
Novozym® 435	10000 PLU/g	pH 5-9	30-60°C	Esters and alcohols
Lipozyme® TL IM	250 IUN/g	pH 6-8	50-75°C	Esters
Novozym® 40086	275 IUN/g	pH 7-10	30-50°C	Esters

Nota. La presente figura muestra las diferentes características y condiciones del medio de reacción de las enzimas inmovilizadas suministradas por Novozymes. Tomado de: Novozymes, Immobilized lipases for biocatalysis Novozymes. [PDF]. Disponible: https://www.novozymes.com/-/media/Project/Novozymes/Website/website/document-library/Advance-your-business/Pharma/Biocatalysis_brochure_Immobilised_Lipases.pdf

2.2 Propiedades Fisicoquímicas de las Mezclas Grasas

2.2.1 Acidez

La acidez cuantifica los ácidos grasos libres en un aceite, expresado en porcentaje másico de ácido oleico. La acidez libre es una de las características químicas que mejor definen la calidad de un aceite o grasa. Este parámetro brinda una idea desde cómo ha sido cultivado hasta tratado un aceite, pues indica la alteración de los triglicéridos debida a la hidrólisis química o enzimática [25]. La fórmula para calcular la acidez de una mezcla grasa es la siguiente:

$$\text{Ácidoz} = F \cdot \frac{V}{M} \text{ (ml) (Ec. 1.)}$$

Donde:

$$F = \frac{(C \cdot 282)}{10} \text{ (Ec. 2.)}$$

F = Factor expresado como Ácido Oleico

F = Concentración de NaOH (M)

282 = Masa Molar del Ácido Oleico ($\frac{g}{mol}$)

V = Volumen de NaOH (ml)

M = Masa de la muestra grasa (g)

El parámetro de acidez de acuerdo a documentación interna de SIGRA S.A, se debe encontrar máximo en 0,06%, después del proceso de desodorización, sin embargo, para el estudio en cuestión se evaluarán las variaciones del punto de acidez de la mezcla grasa solamente después del proceso de interesterificación enzimática, puesto que no se contempla la desodorización en los ensayos.

2.2.2 Contenido de grasa sólida (SFC)

Define el comportamiento de fusión de una mezcla grasa a diferentes condiciones como refrigeración, temperatura ambiente, paladar y procesos, a diferentes temperaturas las cuales normalmente son 0, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40°C. Las grasas como las margarinas se funden de manera diferente según su composición de triglicéridos, lo cual se determina mediante la gráfica de Contenido de grasa sólida Vs. Temperatura (°C). El contenido de grasa sólida de acuerdo a documentación interna de SIGRA S.A, se debe encontrar en 36 % a 20 °C por interesterificación química, ya que a esta temperatura se evalúa el comportamiento de la grasa a temperatura ambiente. Para la investigación en cuestión se espera obtener resultados similares al parámetro establecido.

2.2.3 Perfil de ácidos grasos

El estudio del perfil de los ácidos grasos en las principales grasas de cada alimento es de gran importancia. La identificación y clasificación de estas grasas depende estrictamente de su composición en ácidos grasos. Debido a la complejidad de la estructura de los ácidos grasos y a la dificultad de determinar exactamente la composición de una grasa mediante los análisis tradicionales, la cromatografía de gases se ha convertido en una herramienta indispensable para establecer el perfil de ácidos grasos [26].

2.2.4 Punto de fusión

El punto de fusión de una grasa corresponde a la temperatura por la cual se funden todos los sólidos. Cuando en las grasas están presentes ácidos de grasos insaturados se reduce el punto de fusión. Los puntos de fusión de las grasas puras son muy precisos, pero como las grasas o los aceites están formados por una mezcla de lípidos con distintos puntos de fusión nos tenemos que referir a zona de fusión que se define como el punto de fusión del componente de la grasa que se funde a una temperatura más alta [27]. De acuerdo a documentación interna de SIGRA S.A, el punto de fusión de la grasa se debe encontrar entre los 37°C y 39 °C.

2.3 Elaboración de Margarinas

Según la Norma Icontec Colombiana 241 del 2019, la margarina se define como una emulsión de aceites y/o grasas comestibles con agua, la cual tiene un porcentaje superior o igual al 80% en materia grasa y un contenido máximo de agua del 16%. La grasa es el componente fundamental de las margarinas ya que de su pureza depende la calidad del producto final, por eso estas deben estar perfectamente refinadas para ser inodoras e insípidas y mediante procesos de modificación logran adquirir características fisicoquímicas deseables y ser estables químicamente, antes de la adición de aditivos como sabores y vitaminas [16]. El agua se utiliza para preparar la emulsión con la sustancia grasa dispersando ésta como pequeñas gotas en el agua.

3. IDENTIFICACIÓN DE LAS VARIABLES DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MEZCLA SEMISÓLIDA POR MEDIO DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA

Con el fin de tener conocimientos técnicos para llevar a cabo el proceso de interesterificación enzimática de una mezcla grasa y reconocer las variables del proceso que afectan las propiedades fisicoquímicas de la mezcla resultante, las cuales permiten determinar las condiciones del proceso, se realiza una revisión bibliográfica. En este capítulo se presentan los diferentes artículos escogidos de las bases de datos proporcionadas por la universidad y de acceso libre, dentro de las cuales se encuentran Science Direct y Springer Link. Además, se incluyeron otros artículos relevantes del tema encontrados durante la investigación.

Para la búsqueda bibliográfica se tuvieron en cuenta diferentes aspectos, en primer lugar se identificaron los conceptos claves fundamentales y se definió la estrategia de búsqueda, para este caso el operador booleano que se ajustaba a la investigación fue “AND”, finalmente las palabras claves fueron "**Interesterification**" and "**Lipozyme**".

Para la búsqueda en la base de datos Springer Link al ingresar la estrategia de búsqueda y fijar un periodo de tiempo entre el 2010 y 2021 se encontraron 174 artículos, al filtrar la búsqueda se escogieron los siguientes parámetros: tipo de contenido- artículo, disciplina- química y subdisciplina-química de alimentos. Mientras que para la búsqueda realizada en la base de datos Science Direct al ingresar la estrategia de búsqueda se encontraron 453 resultados, donde se definieron una serie ítems para filtrar la investigación y encontrar los artículos más relevantes.

3.1 Variables que influyen en la reacción de interesterificación enzimática

Durante la revisión bibliográfica y el análisis respectivo a cada uno de los artículos seleccionados basados en procesos de interesterificación enzimática, se logra obtener un acercamiento al comportamiento de las variables más relevantes de la catálisis enzimática para así, establecer un rango de operación para el planteamiento del diseño de experimentos. Para consolidar la información recopilada, en la tabla 6, se reportan los parámetros más importantes del proceso de interesterificación enzimática llevado a cabo en cada uno de los artículos, es importante mencionar que dichos valores fueron los resultados obtenidos para las mejores condiciones de operación en cada uno de los casos. Entre los parámetros reportados se

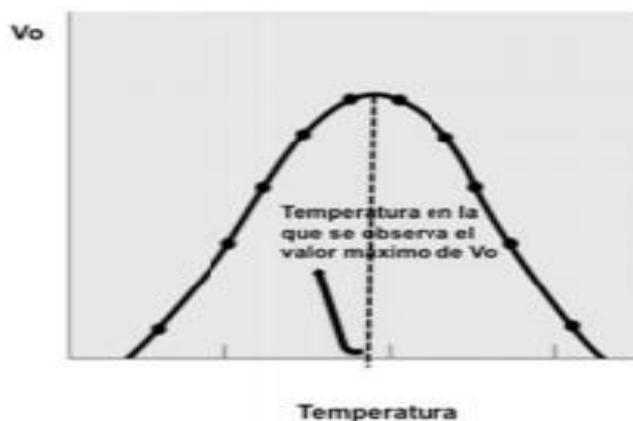
encuentran: la materia prima, enzima, relación enzima/sustrato, agitación, temperatura y tiempo, los cuales se relacionan con el cambio del perfil de grasa sólida después de la reacción, el grado de interesterificación o punto de fusión.

3.1.1. Temperatura

En primera instancia, se evidencia que la temperatura es una variable importante dentro del proceso de interesterificación enzimática, ya que es un parámetro que se relaciona directamente con la velocidad de la reacción y la actividad enzimática. En primer lugar, la enzima tiene como objetivo disminuir la energía de activación de una reacción, por lo tanto hace que esta ocurra en menor tiempo. En la figura 13 se relaciona la temperatura con la actividad catalítica, se observa que al aumentar la temperatura, aumenta la actividad enzimática, sin embargo, es evidente que al alcanzar el valor óptimo de temperatura se consigue el valor máximo de velocidad, y a partir de este punto la actividad enzimática disminuye con el aumento de la temperatura. “Este aumento de la temperatura produce un aumento de la energía cinética de las moléculas, favoreciendo el choque entre el sitio activo de la enzima y el sustrato, causando inestabilidad en los enlaces” [28].

Figura 13.

Velocidad de la reacción en función de la temperatura



Nota: La presente figura muestra el comportamiento de la velocidad de reacción enzimática en función de la temperatura. Aníbal R. Lodeiro. (2016), Catálisis enzimática Fundamentos químicos de la vida. p.p 140. [En línea].

Disponible:

<https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/690>

De acuerdo con Karabulut et al., 2009, “la temperatura afecta la afinidad de la enzima por los sustratos, por lo cual un cambio de temperatura, puede llegar a afectar la efectividad de la enzima hacia la incorporación de diferentes ácidos grasos” [16]. Por otro lado, según Nelson Moreno y Aidé Perea V (Interesterificación enzimática para la producción de grasas especiales usando lipasa de *Thermomyces anuginosus*) los resultados arrojados por el ANOVA, indicaron que la temperatura tiene una influencia significativamente estadística sobre el grado de interesterificación.

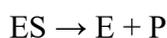
En paralelo, es de suma importancia tener en cuenta que las enzimas experimentan desnaturalización y pérdida de actividad al superar una determinada temperatura [29]. “La desnaturalización no involucra la ruptura de enlaces covalentes sino la desestabilización de puentes de hidrógeno y de otras interacciones débiles que están involucradas en el mantenimiento de las conformaciones activas de la enzima” [30].

Teniendo en cuenta lo anterior, los niveles de temperatura, se fijaron tomando en consideración los resultados de los diferentes artículos recopilados y contrastándolos con el rango de temperatura óptima (50°C-75°C) registrado en la ficha técnica de la enzima Lipozyme TL IM. Como se observa en la tabla 6, los valores para este factor se encuentran entre los 60°C y 75 °C, rango que coincide con los valores suministrados por el proveedor. Con el fin de disminuir el rango de temperatura, se establece como nivel mínimo 60 °C y como nivel máximo 70 °C, evitando el riesgo de que la enzima se altere por su sensibilidad a altas temperaturas.

3.1.2. Concentración de la enzima

En segundo lugar, se identifica el %p/p enzima/sustrato como una de las variables más importantes dentro de la interesterificación enzimática, ya que de este factor depende la probabilidad de formar el complejo enzima-sustrato y obtener la grasa interesterificada. “Es de suma importancia tener en cuenta que la concentración de la enzima puede acelerar la reacción, siempre que se disponga de sustrato para interactuar, sin embargo, en el momento en que todo el sustrato esté adherido, la velocidad llegará a su punto máximo alcanzando la saturación de enzima por sustrato, ya que no hay sustrato disponible que se pueda unir” [31].

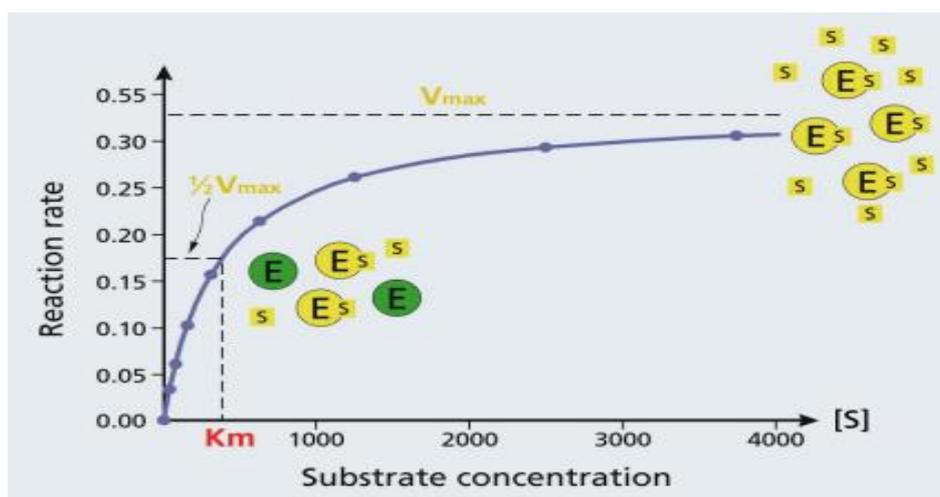
Una reacción enzimática se puede resumir mediante la siguiente expresión:



Donde ES es el complejo enzima sustrato, E es enzima, y P es el producto. Como se puede observar en la figura 14 al tener una concentración de sustrato saturante, la reacción alcanza rápidamente el estado estacionario en el que el complejo enzima sustrato ES, se mantiene constante, es decir se ha alcanzado el valor máximo de velocidad [29] , los cuales dependen tanto de la concentración del sustrato como de la concentración de enzima en el medio.

Figura 14.

Velocidad de reacción enzimática contra la concentración de sustrato



Nota. En la presente gráfica se muestra el comportamiento de la velocidad de reacción enzimática a medida que aumentan la concentración de sustrato hasta alcanzar el estado estacionario. Tomado de: J. Merino, M. Noriega, “Fisiología Genral: Enzimas” Santander, España. [PDF]. Disponible: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25202B-Bloque%2520I-Enzimas.pdf>

Nelson Moreno y Aidé Perea V, afirman que este factor también influye significativamente en el grado de interesterificación de la reacción, ya que al trabajar con valores óptimos se puede alcanzar el máximo valor de grado de interesterificación, y como se ha mencionado permite controlar el costo del proceso, pues la enzima representa la mayor parte dentro de los costos del proceso, además que trabajar con porcentaje muy elevados causa la saturación de la enzima. Para este factor se escogen valores extremos con el objetivo de monitorear un amplio rango de esta variable, en la tabla 6, se evidencia que el valor mínimo de enzima/ sustrato que se encontró en los artículos recopilados fue de 2.5%, valor con el que se obtuvo un grado de interesterificación alto, por otro lado, también se puso en consideración el elevado costo de la

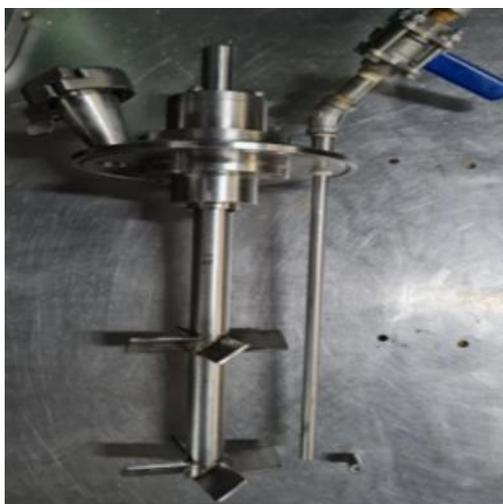
enzima Lipozyme TL IM, por lo cual se fijó este valor como nivel mínimo, con el fin de evaluar el desempeño del mismo, en la mezcla grasa derivada de los aceites del palma y palmiste

3.1.3. Agitación

Las reacciones que comprenden sólidos suelen llevarse a cabo con mayor rapidez a medida que se incrementa el área superficial del sólido [32], en este caso, para la interesterificación enzimática presenta la enzima Lipozyme TL IM, en estado sólido. “ La agitación se utiliza para la disolución de los reactivos, facilitar su contacto y para garantizar la máxima homogeneidad posible en el transcurso de una reacción” [33], por lo tanto la agitación resulta ser de suma importancia para el proceso de interesterificación enzimática en un reactor tipo batch. Como se puede observar en la tabla 6. La velocidad de agitación ronda entre los 200 y 700 RPM, lo cual implica velocidades para favorecer el área de contacto aceite-enzima y a su vez evitar que esta última se sedimente por gravedad. Teniendo en cuenta, los valores registrados en la tabla 6 y poniendo en consideración el tipo de agitador de la planta piloto en SIGRA S.A que se presenta en la figura 15, el cual contaba con 4 aspas en la parte inferior del agitador y 4 en el medio del mismo, se decide trabajar con valores altos de agitación, para este caso 600 RPM, con el fin de asegurar el flujo del aceite a lo largo del reactor y garantizar la transferencia de masa, por ende, el contacto entre el sitio activo de la enzima y el sustrato.

Figura 15.

Tipo de agitador del reactor de la planta piloto.



Nota. Tipo de agitador de la planta piloto el cual tiene dos aspas una en la parte inferior y otra en la parte del medio.

3.1.4. Tiempo

El tiempo es otra de las variables identificadas durante la revisión bibliográfica, en la tabla 6, se observa que el rango de este factor se encuentra desde los 16 min hasta las 24 h, este factor es indispensable ya que se debe garantizar un tiempo considerable para garantizar la formación de los sustratos a productos y a su vez tener un valor óptimo puesto que de este factor depende los costos operacionales de los servicios industriales como vapor para garantizar el proceso isotérmico dentro del reactor y energía eléctrica para el funcionamiento del agitador. Por otro lado según el instructivo de interesterificación enzimática de la empresa SIGRA S.A (Documentación interna), se estipula un tiempo mínimo de reacción de 4 horas para garantizar el proceso completo. En la figura 16 se presenta el resumen de cada una de las variables del proceso de identificadas durante la revisión bibliográfica.

En la figura 16, se presenta el resumen de las variables más importantes del proceso de interesterificación enzimática de una mezcla grasa, donde se tiene en cuenta la temperatura, %p/p enzima/sustrato, agitación y tiempo. La tabla 6, presenta de forma condensada la información obtenida de los artículos más relevantes para la presente investigación donde se identificaron las variables independientes y dependientes.

Figura 16.

Resumen de las variables del proceso de interesterificación enzimática



Nota. En la figura se presentan las variables del proceso y su importancia dentro del proceso de interesterificación enzimática, las cuales son temperatura, %p/p enzima/sustrato, agitación y tiempo.

Tabla 6.

Identificación de las variables del proceso de interesterificación enzimática encontradas en la revisión bibliográfica.

NOMBRE DEL ARTICULO	CONDICIONES	VARIABLES DE RESPUESTA			COMENTARIOS
Trans-free Margarine Fat Produced Using Enzymatic Interesterification of Rice	ENZIMA: Lipozyme TL IM % (p/p): 10% AGITACIÓN (rpm): 300 TEMPERATURA (°C): 60 TIEMPO (h): 6 MEZCLA: 40:60 de estearina de palma y aceite de salvado de arroz	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Se observa que después de la reacción de interesterificación enzimática, disminuye el contenido de grasa sólida con respecto a la inicial
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)	
		15	42-45	37-39	
		20	40-42	28-30	
		25	38-40	20-22	
		30	36-38	16-18	
		35	35-36	12-15	
		40	34-25	6-9	
		PERFIL DE TRIGLICÉRIDOS			Se observa que después de la reacción de interesterificación enzimática, ocurre un cambio en perfil de triglicéridos en la mezcla, con respecto a la inicial
		TAG	% Antes de (EI)	% Después de (EI)	
		LLO	16,6 +/- 0,4	7,8 +/- 0,2	
PLO	17,7 +/- 0,3	25,5 +/- 0,0			
POP	2,4 +/- 0,1	6,8 +/- 0,1			
Production of margarine fats by enzymatic interesterification with silica-granulated Thermomyces lanuginosa lipase in a large-scale study	ENZIMA: Lipozyme TL IM % (p/p): 10% AGITACIÓN (rpm): 300 TEMPERATURA (°C): 60 TIEMPO (h): 6 MEZCLA: Estearina de palma y aceite de palma	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Se observa que después de la reacción de interesterificación enzimática, disminuye el contenido de grasa sólida con respecto a la inicial
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)	
		10	64,4	60,3	
		20	37,4	34,4	
		30	18,5	14,5	
		40	6,9	<0,5	
		PERFIL DE ACIDOS GRASOS			Se observa que la interesterificación enzimática, no interviene en el perfil de ácidos grasos de la mezcla
		FAMES	Antes de (EI)	Después de (EI)	
		C6:0	0,3	0,2	
		C12:0	14,1	14,8	
		C16:0	40,6	40,7	
C18:1 n-9	23,1	22,8			
Lipase Catalyzed Interesterification Of Rice Bran Oil With Hydrogenated Cottonseed Oil To Produce Trans Free Fat	ENZIMA: Lipozyme TL IM y Lipozyme RM IM MEZCLA: Aceite de arroz -Aceite de algodón AGITACIÓN (rpm): - TEMPERATURA (°C): 60 TIEMPO (h): 4 % (p/p): 5%	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Se observa que el el perfil de grasa sólida, disminuye después del proceso de interesterificación enzimática
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)	
		10	15-17	18-20	
		20	12-15	8-10	
		30	10-13	3-5	
		40	5-8	1-3	

Tabla 7. Continuación

NOMBRE DEL ARTICULO	CONDICIONES	VARIABLES DE RESPUESTA			COMENTARIOS	
Modification of palm-based oil blend via interesterification: Physicochemical properties, crystallization behaviors and oxidative stabilities	MEZCLA: Oleína de palma- Aceite de palma- Estearina ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): - TEMPERATURA (°C): 60 TIEMPO (h): - % (p/p): -	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Se observa que después del proceso de interesterificación enzimática, el perfil de grasa sólida disminuye Se observa que el punto de fusión aumento después de la interesterificación enzimática	
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)		
		10	42-45	32-35		
		20	18-20	20-22		
		25	10-12	12-15		
		30	6-8	7-10		
		35	3-5	5-7		
		40	1-3	4-5		
		Punto de fusión antes EI: 39,34 +/- 0,01				
		Punto de fusión después EI: 40,69 +/- 0,13				
Interesterification of rice bran wax and palm olein catalyzed by lipase: Crystallization behaviours and characterization	MEZCLA: Cera de salvado de arroz y oleina ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): 200 TEMPERATURA (°C): 75 TIEMPO (h): 6 % (p/p): 5	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Se observa que después del proceso de interesterificación enzimática, el perfil de grasa sólida aumenta Se observa que el punto de fusión disminuye después de la interesterificación enzimática	
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)		
		10	48-50	36-38		
		20	24-25	25-27		
		25	18-20	20-22		
		30	15-16	12-14		
		35	12-14	5-8		
		40	8-12	0-1		
		Punto de fusión antes EI: 69,8 +/- 1,8				
		Punto de fusión después EI: 68 +/-1,3				
Interesterificación enzimática para la producción de grasas especiales usando lipasa de thermomyces lanuginosus	MEZCLA: Superestearina de palma- aceite de soya ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): - TEMPERATURA (°C): 65 TIEMPO (h): 3 % (p/p): 2,5	Grado de Interesterificación: 34%			El grado de interesterificación de los experimentos rondaba entre los 17% y 34%	
Production of Structured Triacylglycerol via Enzymatic Interesterification of Medium-Chain Triacylglycerol and Soybean Oil Using a Pilot-Scale Solvent-Free Packed Bed	MEZCLA: Aceites ricos en triglicéridos de cadena larga ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): 150 TEMPERATURA (°C): 75 TIEMPO (h): 0,27 % (p/p): 10	PERFIL DE ACIDOS GRASOS sn-2			Se observa que después de la reacción de interesterificación enzimática se observa un cambio mínimo en la composición de los ácidos grasos	
		FAMES	Antes de (EI)	Después de (EI)		
		C8:0	25,51 +/- 0,21	25,41 +/- 0,83		
		C10:0	20,49 +/- 0,48	32,19 +/- 0,64		
		C16:0	13,40 +/- 0,48	15,60 +/- 0,24		
		C18:0	11,53 +/- 0,16	9,54 +/- 0,12		
		C18:1	10,79 +/- 0,29	6,19 +/- 0,13		
		C18:2	19,28 +/- 0,73	11,07 +/- 0,45		

Tabla 8. Continuación

NOMBRE DEL ARTICULO	CONDICIONES	VARIABLES DE RESPUESTA			COMENTARIOS
Enzymatic Interesterification of Palm Oil and Fractions: Monitoring the Degree of Interesterification using Different Methods	MEZCLA: Oleína de palma/Fracción media blanda de palma ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): 200 TEMPERATURA (°C): 70 TIEMPO (h): 30 % (p/p): 4	PERFIL DE TRIGLICÉRIDOS			Se observa un cambio considerable en el perfil de triglicéridos, después del proceso de interesterificación enzimática
		TAG	% Antes de (EI)	% Después de (EI)	
		MLP	0,8	1,1	
		LOL	0,6	1,6	
		LLP	3,0	2,7	
		LOO	2,1	5,9	
		POL	11,8	12,5	
		PLP	11,0	7,3	
		MPP	0,2	0,7	
		OOO	4,3	6,9	
		POO	25,4	22,1	
		POP	30,6	22,1	
PPP	0,8	6,9			
Enzymatic Interesterification of Palm Stearin and Palm Kernel Olein	MEZCLA: Estearina de palma y oleína de aceite de palmiste ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): 250 TEMPERATURA (°C): 60 TIEMPO (h): 5 % (p/p): -	PERFIL DE GRASA SOLIDA			Según gráficas se observa que el perfil de grasa sólida después del proceso de interesterificación enzimática, aumenta
		T (°C)	30:70	70:30	
		10	31,5	41,3	
		15	17,3	28	
		20	9,6	24,1	
		25	3,3	12,2	
		30	1,1	6,8	
		35	-	4,1	
		Punto f inicial	40 °C	47 °C	Se observa que después del proceso de interesterificación enzimática el punto de fusión disminuye
		Punto f final	30 °C	37 °C	
Chemical and Enzymatic Interesterification of a Blend of Palm Stearin: Soybean Oil for Low trans-Margarine Formulation	MEZCLA: Estearina de palma y aceite de soya ENZIMA: Lipozyme TL IM AGITACIÓN (rpm): 200 TEMPERATURA (°C): 70 TIEMPO (h): 8 % (p/p): 5	PERFIL DE GRASA SOLIDA			En el primer caso, el perfil de grasa sólida después del proceso de interesterificación disminuye
		T (°C)	% SFC Antes de (EI)	% SFC Después de (EI)	
		15	52,2 +/- 0,1	50,9 +/- 0,2	
		20	45,2 +/- 0,1	41,8 +/- 0,1	
		25	38,1 +/- 0,1	31,8 +/- 0,1	
		30	31,2 +/- 0,1	22,6 +/- 0,1	
		35	25,2 +/- 0,1	15,0 +/- 0,1	
		40	19,7 +/- 0,3	10,6 +/- 0,1	

Nota. La tabla muestra las condiciones del proceso interesterificación enzimática (EI), encontrados en los artículos en las bases de datos (Springer Link, Science Direct y JAOCS), junto con las variables de respuesta medidas.

4. DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE UNA MEZCLA BASE PARA LA ELABORACIÓN DE MARGARINAS POR MEDIO DE INTERESTERIFICACIÓN ENZIMÁTICA

Con el fin de obtener las mejores condiciones de operación, se propone un diseño de experimentos factorial (3^2), que permita estudiar el efecto que tienen en conjunto los factores en la variable de respuesta, además de identificar las interacciones entre factores.

Para la investigación con base a los antecedentes y artículos recolectados durante el desarrollo de la propuesta, se escogieron dos factores con tres niveles cada uno, el primer factor hace alusión al porcentaje de peso/peso enzima/sustrato el cual se trabajará en un rango de 5 a 10% dicho porcentaje provienen de la revisión bibliográfica descritas en el numeral 3.1. El segundo factor hace referencia a la temperatura, la cual se estableció en un rango de 60 a 70°C, que de igual modo dicho rango se seleccionó a partir de la búsqueda bibliográfica especificada en el numeral 3.1.

El tiempo de reacción establecido fue por 4 horas con una agitación constante de 600 rpm. De acuerdo a lo descrito anteriormente el diseño tendría un total de 9 experimentos, se considera que la variable respuesta para el experimento debe ser el porcentaje de sólidos en la muestra grasa medido por la curva de sólidos.

Los tres niveles en el diseño de experimentos, están posicionados en un orden de menor a mayor, siendo el % p/p de enzima/sustrato de 2,5% y una temperatura de 60°C, el nivel bajo y el % p/p de enzima/sustrato de 8,5% y una temperatura de 70°C el nivel alto, como se muestra en la tabla 7.

Tabla 9.

Distribución de los niveles de los factores del diseño de experimentos

FACTOR	BAJO	MEDIO	ALTO
% Enzima/Sustrato (g)	2,5	5	8,5
Temperatura (°C)	60	65	70

Nota. En la tabla se puede observar los factores escogidos para el diseño de experimentos y sus respectivos niveles.

En base a los niveles seleccionados, presentados en la tabla anterior, se realiza una combinación de los valores, para la obtención de un diseño de experimentos factorial completo de nueve (9) experimentos, como se muestra en la tabla 8.

Tabla 10.

Distribución del diseño de experimentos factorial

Experimento	%Enzima/Sustrato	Temperatura
1	2,5 +/- 0,05	60 +/- 0,50
2	2,5 +/- 0,05	65 +/- 0,50
3	2,5 +/- 0,05	70 +/- 0,50
4	5,0 +/- 0,05	60 +/- 0,50
5	5,0 +/- 0,05	65 +/- 0,50
6	5,0 +/- 0,05	70 +/- 0,50
7	8,5 +/- 0,05	60 +/- 0,50
8	8,5 +/- 0,05	65 +/- 0,50
9	8,5 +/- 0,05	70 +/- 0,50

Nota. En la presente tabla se muestra la totalidad de ensayos y sus condiciones de operación.

Antes de comenzar a describir cada una de las fases realizadas en la presente investigación, en la figura 17, se presente un esquema de las diferentes escalas manejadas dentro de la industria para la investigación y estandarización de un proceso, donde se tienen en cuenta los diferentes factores relevantes para cada una de las etapas.

En este caso, la presente investigación, se encuentra en la etapa piloto, ya que estudia los factores como temperatura, velocidades de agitación y el tipo de régimen del reactor (Discontinuo), en paralelo permite identificar las operaciones unitarias que en este caso son el filtrado de la enzima y la recuperación de la misma.

Figura 17.

Diferencia de escalas para procesos de investigación en la industria.



Nota. La presente figura muestra la planta piloto donde fueron realizados los diferentes ensayos de Interesterificación enzimática. Tomado de: Universidad Abierta y a Distancia de México, “Ingeniería de biorreactores II: Escalamiento de biorreactores”, Ciudad de México, México. p.p 14. [PDF]. Disponible: https://dmd.unadmexico.mx/contenidos/DCSBA/BLOQUE1/BI/06/BIB2/unidad_04/descargables/BIB2_U4_Contenido.pdf

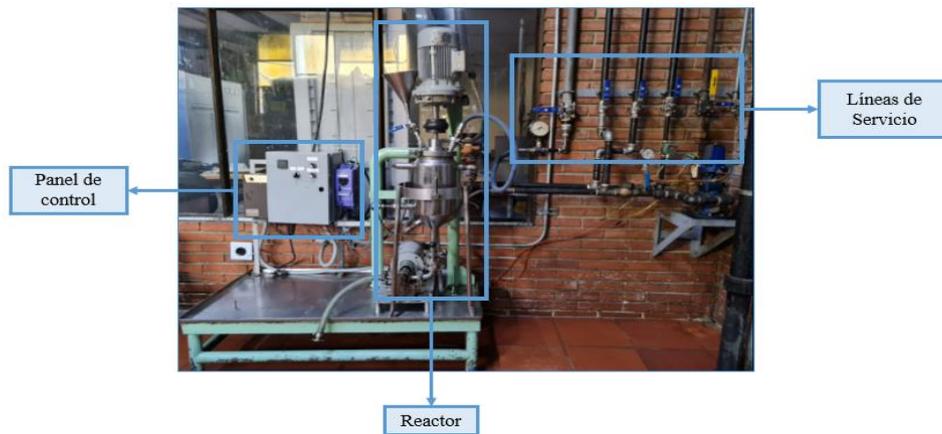
4.1 Funcionamiento De La Planta Piloto

El presente proyecto se lleva a cabo en la planta piloto de SIGRA S.A. Para la operación de la planta piloto se deben tener en cuenta varios factores tales como su revisión antes de realizar los ensayos, la operación de la planta durante el ensayo y el tratamiento de limpieza de la misma.

La planta piloto consta de un reactor de capacidad de 3 L con agitación, un panel de control y las líneas de servicio (Agua, Vapor y Presión de Vacío). En la figura 18 se presenta una vista general de la planta piloto de la empresa SIGRA S.A.

Figura 18.

Vista General de la Planta Piloto

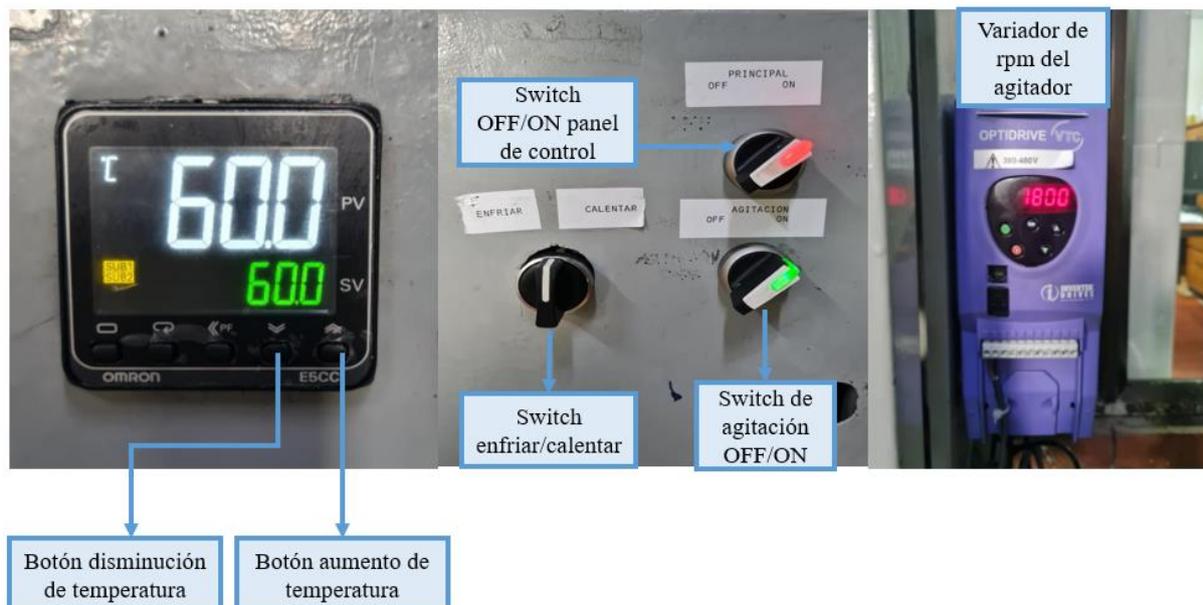


Nota. La presente figura muestra la planta piloto ubicada en SIGRA S.A donde fueron realizados los diferentes ensayos de Interesterificación enzimática.

En la figura 19, se presenta el panel de control en el cual se controla la temperatura que se desea dentro del reactor, el encendido/apagado y velocidad de agitación.

Figura 19.

Partes del panel de control de la planta piloto



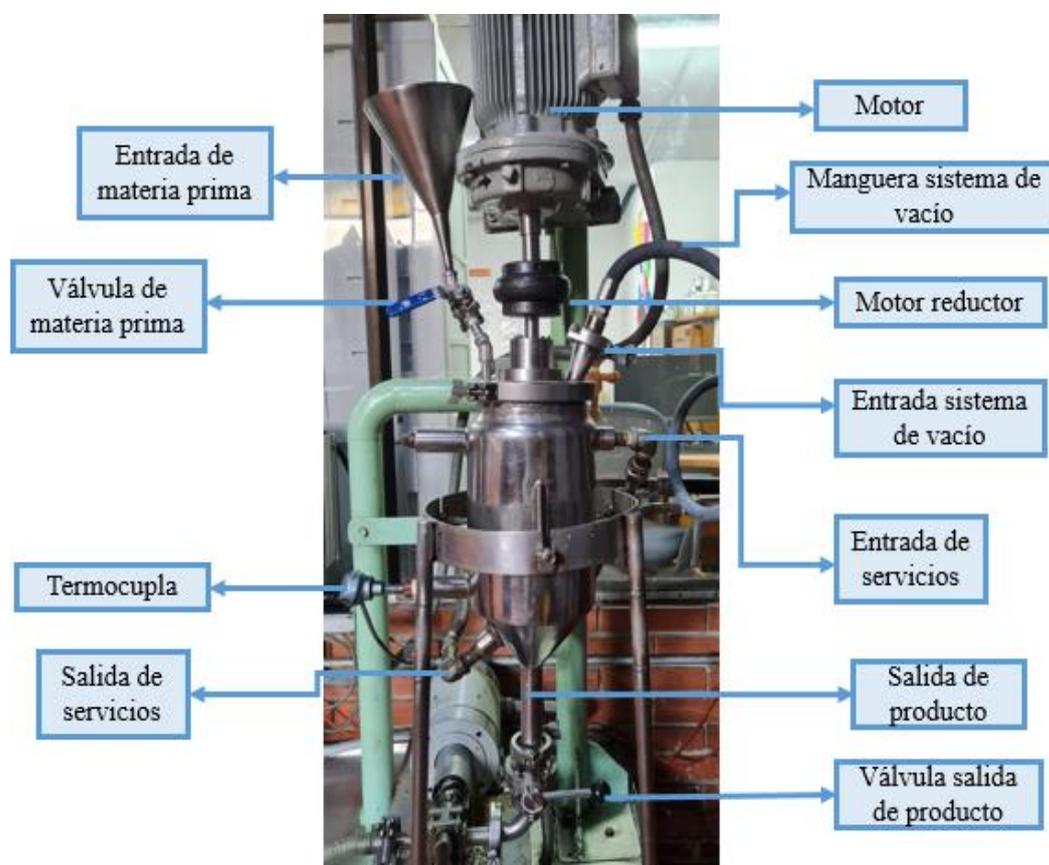
Nota. En la figura se puede observar los diferentes switches utilizados, para controlar el panel de control, la temperatura y agitación del sistema. Seguidamente se encuentra la pantalla donde se establece el set point de temperatura.

En el panel de temperatura como se muestra en la figura, se encuentran los botones de aumento y disminución de temperatura, para establecer el set point que se desea. Por otro lado, se encuentra el variador de rpm del agitador, donde se establece la velocidad del mismo.

El reactor cuenta con una chaqueta de calentamiento, un sistema de agitación, línea de vacío, un sensor de temperatura (termocupla) y entrada de materia prima/catalizador. En la figura 20 evidencia los implementos que posee el reactor tales como válvula de adición de materia prima/catalizador, motor-agitador, entrada y salida de las líneas de servicio para la chaqueta del reactor, bomba de salida de producto, válvula de descarga de producto, manguera de descarga de producto:

Figura 20.

Partes del reactor de la planta piloto

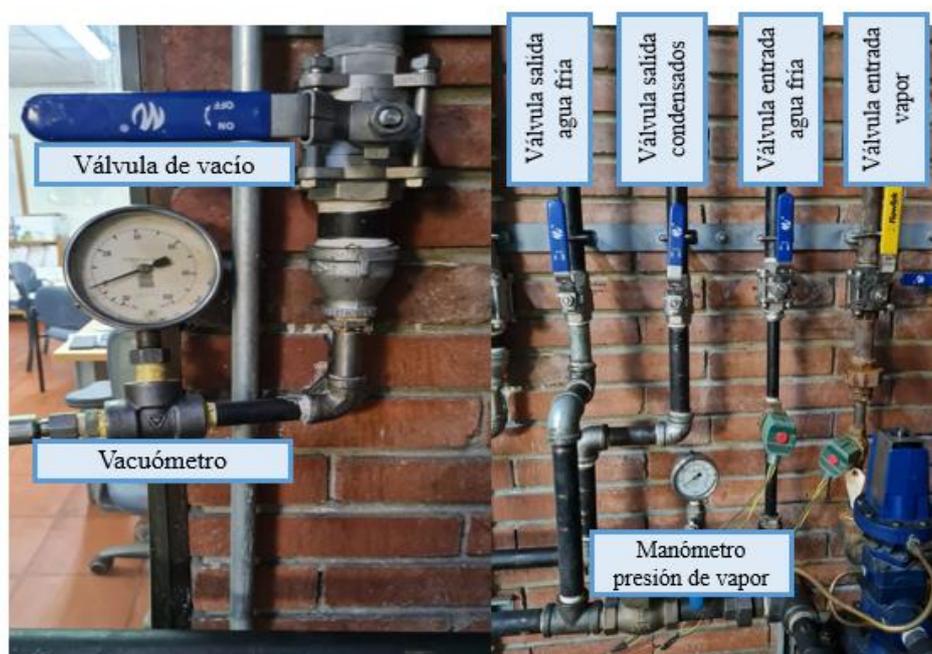


Nota. La presente figura muestra las partes y accesorios del reactor de la planta piloto ubicada en SIGRA S.A

Los servicios utilizados para la operación de la planta piloto son vapor de agua para los procesos de calentamiento, agua fría para los procesos de enfriamiento y el sistema de vacío, estos son suministrados a partir de válvulas manuales, como se muestra en la figura 21, donde se puede observar, válvula de vacío, vacuómetro, válvula de salida de agua fría, válvula de entrada de agua fría, válvula de salida de condensado del vapor de calentamiento, y válvula de entrada de vapor de calentamiento.

Figura 21.

Válvulas de control de servicio de la planta piloto



Nota. La figura muestra las válvulas de servicio de vapor, agua y vacío de la planta piloto ubicada en SIGRA S.A

4.2 Proceso De Interesterificación Enzimática En La Planta Piloto De SIGRA S.A

Para llevar a cabo el proceso de interesterificación enzimática a escala piloto en la planta de SIGRA S.A, se deben seguir los pasos que se muestran a continuación:

- Preparar 2,05 kg la mezcla grasa dentro de una cantina totalmente limpia en una balanza analítica, calentar toda la muestra en una plancha de calentamiento y realizar una agitación manual para incorporar y homogeneizar.
- Pesar la enzima Lipozyme TL IM, la cual es el porcentaje del peso de la muestra que se va a adicionar al reactor, según el diseño de experimentos.

- Calentar el reactor según la temperatura indicada en el diseño de experimentos, la temperatura se debe fijar en el tablero de control y se debe proceder a abrir la válvula de vapor y del retorno de condensados (Una vez estabilice dejar la válvula de vapor entre abierta para garantizar un proceso isotérmico)
- Verificar que la válvula de salida del reactor se encuentre cerrada (Si no es así, cerrar la misma).
- Una vez se encuentre estable la temperatura deseada, se procede a cargar la mitad de la cantidad de aceite en el reactor por medio de la entrada de materia prima del mismo.
- Cargar la cantidad de enzima respectiva.
- Adicionar el restante de la cantidad de aceite (Si el aceite no baja por el embudo, abrir levemente la válvula del sistema de vacío, una vez se introduzca la cantidad de aceite, cerrar la válvula de vacío y la entrada de la válvula de materia prima)
- Fijar las condiciones de agitación en el variador de rpm en 1800 lo cual equivale a 600 rpm.
- Dejar la reacción durante 4 horas para garantizar el proceso completo.
- Pasado el tiempo, colocar un filtro gaff y una cantina para filtrar el aceite de la enzima. En la figura 22 se presenta una imagen del filtro gaff.

Figura 22.

Proceso de filtrado.



Nota. En la figura se puede evidenciar el uso del filtro gaff para el proceso de separación de la enzima y el aceite.

- Una vez termine de descargar toda la cantidad de aceite del reactor se procede a realizar el proceso de limpieza del reactor descrito en el apartado 4.1.4.

- Cuando se encuentre filtrado el aceite de la enzima, se extrae una muestra de 100 g, para realizar curva de sólidos y punto de fusión.

4.3 Recuperación De La Enzima Lipozyme IM TL.

Es de suma importancia recuperar la enzima debido a que esta puede ser reutilizada en futuros ensayos, para ello es necesario realizar un proceso de filtración, lavado con solvente acetona y secado de la enzima, esto con el fin de llevar a cabo una exitosa recuperación de la misma. A continuación, se describe paso a paso la recuperación de la enzima Lipozyme IM TL:

- Como se mencionó en el apartado 4.2, para extraer el aceite del reactor, es necesario filtrar con un filtro gaff, esto con el fin de separar la enzima del aceite.
- Una vez filtrada la enzima, ésta se introduce en un vaso de precipitados de 1000 ml.
- Por cada gramo de enzima se debe añadir 4-4,5 ml de acetona, esto con el fin de extraer la grasa residual que queda en la superficie de la misma.
- Colocar el vaso de precipitados con agitación constante a 100 rpm por 20 minutos.
- Filtrar la enzima de la acetona.
- La acetona residual debe colocarse en un recipiente.
- Colocar la enzima en un vaso de precipitado y dejarla por 1h en la campana extractora
- Colocar la enzima en una superficie con el fin de secarla a temperatura ambiente.
- Pesar la enzima, esta debe ser +/- 3g sobre su peso inicial.
- Una vez secada la enzima, almacenarla en refrigeración

4.4 Recuperación Del Solvente (Acetona)

La destilación es una técnica de laboratorio utilizada en la separación de sustancias miscibles. Consiste en hacer hervir una mezcla, normalmente una disolución, y condensar después, por enfriamiento, los vapores que han producido, en este caso la acetona el cual tiene un punto de ebullición de 56°C. En la figura 23 se presenta el montaje usado para la recuperación de acetona.

- Colocar la acetona residual en un balón de fondo redondo de 1000 ml.
- Conectarla al condensador por medio de un sujetador.
- Por otro lado, colocar un balón de fondo redondo de 500 ml en la otra entrada del condensador.
- Introducir agua en el baño.
- Abrir la válvula de entrada de agua.

- Encender el equipo.
- Encender el rotavapor y dejarlo en el número 5.
- Colocar una temperatura de 100°C.
- Pasado el tiempo la acetona empieza a destilar y separarse de la grasa residual.
- Una vez extraída la acetona recuperada, introducirla en un recipiente.
- Repetir este procedimiento hasta recuperar el volumen de acetona deseada.

Figura 23.

Montaje para la recuperación de acetona

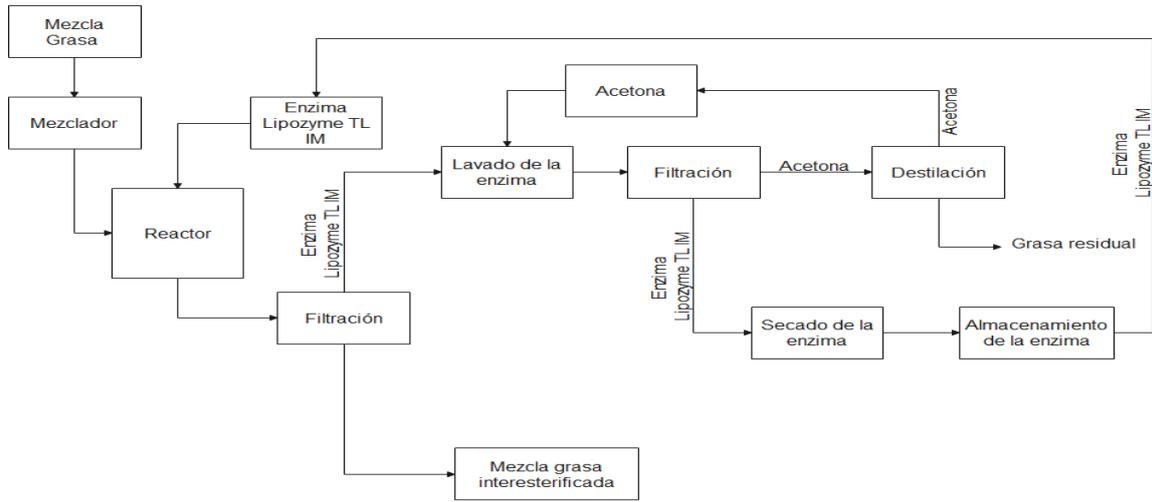


Nota. En la presente figura se muestra el montaje de destilación para la recuperación de acetona compuesto por un condensador, un recipiente con calentamiento, dos balones y un rotavapor.

En la figura 24 se presenta un diagrama de flujo básico sobre el proceso llevado a cabo durante el desarrollo experimental y en la figura 25 se presenta el esquema y lazos de control del proceso donde, inicialmente se realiza el acondicionamiento de la mezcla grasa por medio de un mezclador, que posteriormente ingresa a un reactor tipo batch junto con la enzima, para reaccionar a las condiciones de operación de acuerdo al diseño de experimentos, finalmente se realiza la separación de la mezcla obtenida y la recuperación de la enzima de acuerdo a los procesos descritos anteriormente.

Figura 24.

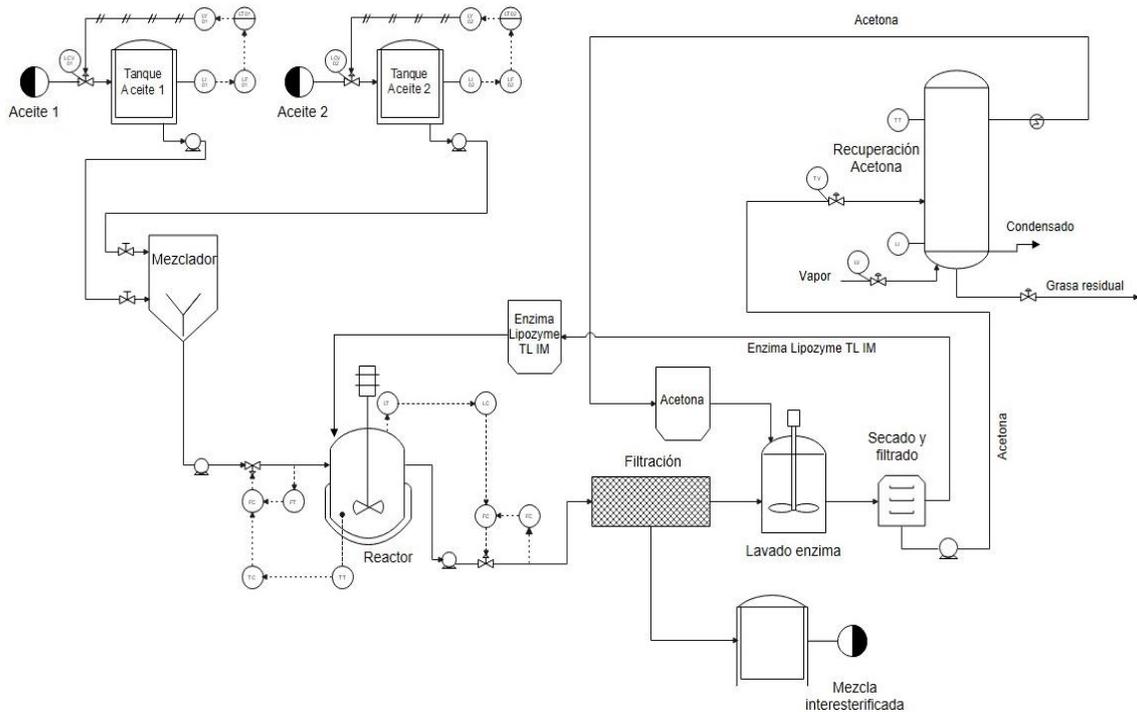
Proceso de interesterificación enzimática a escala piloto y procesos de recuperación



Nota. Se presenta diagrama de bloques del proceso de interesterificación enzimática a escala piloto en SIGRA S.A

Figura 25.

Esquema de los equipos y lazos de control del proceso de interesterificación enzimática



Nota. Se presenta el esquema y lazos de control del proceso de interesterificación enzimática a escala piloto en SIGRA S.A

4.5 Materias Primas

Las materias primas seleccionadas para llevar a cabo el proceso de interesterificación enzimática se presentan en el siguiente apartado.

4.5.1 Mezcla Grasa derivada del Aceite de Palma y Aceite de Palmiste

Para llevar a cabo el proceso de interesterificación enzimática se va a realizar una mezcla grasa derivada de los aceites de palma y palmiste, tal y como se muestra en la siguiente figura 25

Figura 26.

Muestra de Mezcla Grasa



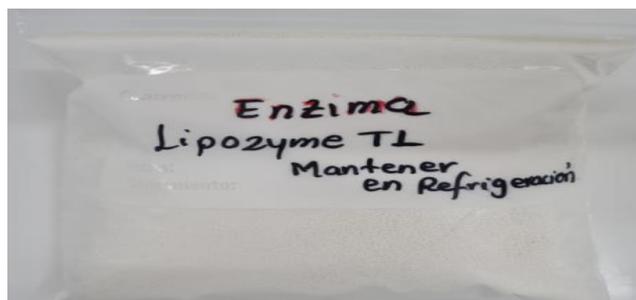
Nota. Se presenta la mezcla grasa a interesterificar a temperatura ambiente.

4.5.2 Enzima “Lipozyme TL IM”

En la figura 27 se presenta una imagen de la enzima Lipozyme TL IM, la cual deben mantenerse en refrigeración

Figura 27.

Enzima Lipozyme TL IM



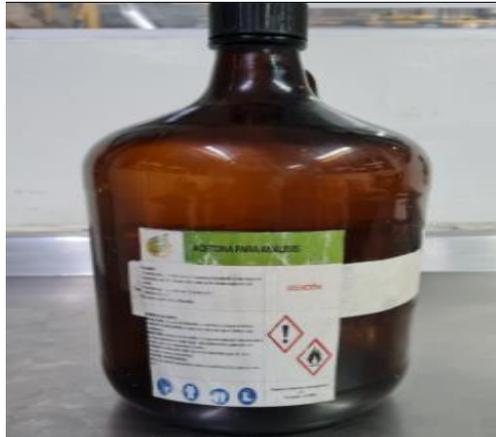
Nota. La presente figura se puede apreciar la apariencia física de la enzima Lipozyme TL IM, proporcionada por la empresa SIGRA S.A por el proveedor Novozymes.

4.5.3 Acetona

La acetona (Figura 28) es utilizada para la recuperación de la enzima, donde se deben utilizar alrededor de 6,0 y 6,5 ml de acetona para limpiar un gramo de enzima utilizada.

Figura 28.

Acetona



Nota. La presente figura se puede observar el disolvente acetona, el cual es usado para la recuperación de la enzima.

4.6 Resultados del diseño de experimentos

El grado de interesterificación se mide mediante la siguiente ecuación:

$$GI (\%) = \left(\frac{SFC_o - SFC}{SFC_o - SFC_\infty} \right) \cdot 100 \text{ (Ec. 3)}$$

SFC_o: SFC de la mezcla en el tiempo cero

SFC: SFC de la mezcla en el tiempo de 4 horas

SFC_∞: SFC en la etapa de equilibrio después de la interesterificación química

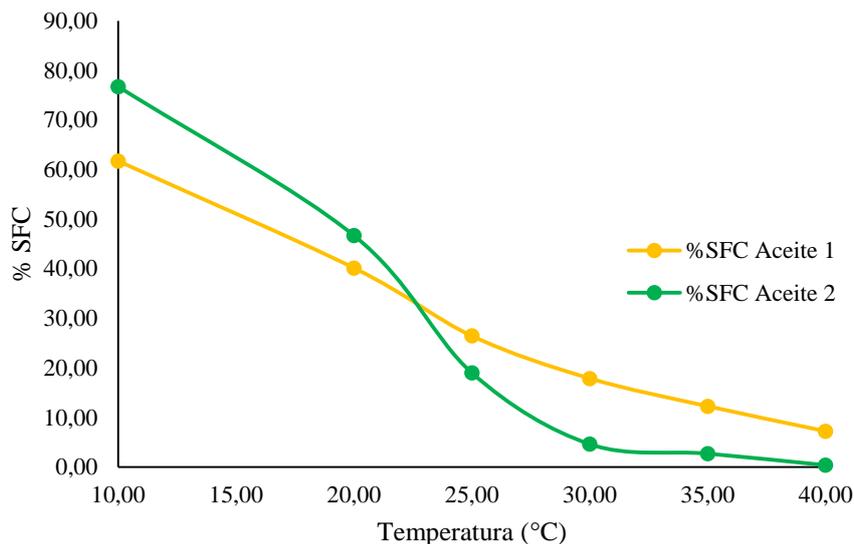
SFC_∞: 36,00 (Parámetro establecido)

4.6.1 Experimento 1

En este apartado se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 2,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 60 °C. En la figura 29 se presenta el perfil de grasa sólida de las materias primas y en la figura 30 se presenta el contenido de grasa solida de la mezcla sin interesterificar e interesterificada.

Figura 29.

% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 1.

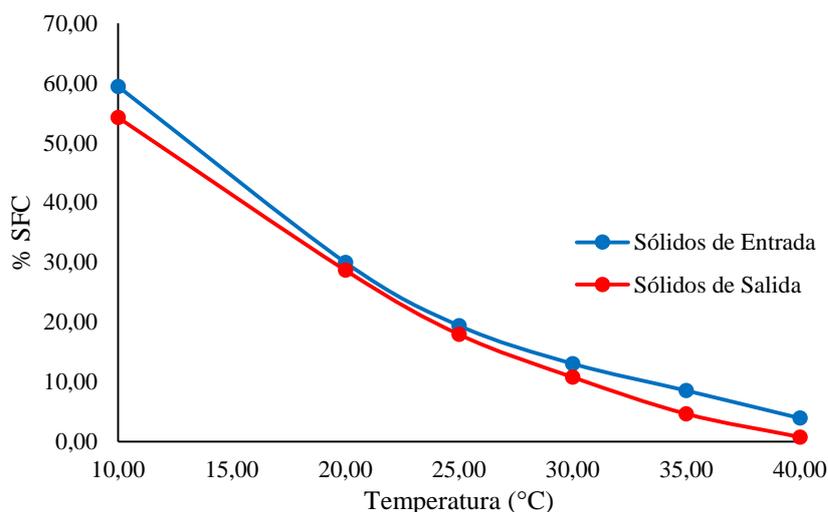


Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa solida de cada uno de los aceites de la mezcla grasa usada en el experimento 1.

En la gráfica 30, se puede apreciar que el perfil de sólidos de entrada, son mayores que el perfil de sólidos de salida, esto debido a que con un porcentaje del 2,5% p/p enzima-sustrato y a una temperatura de 60°C, la reacción de interesterificación favoreció la formación de subproductos como los diglicéridos (DAG) ya que la cantidad de enzima no favoreció la reacción reversible de reinteresterificación, que según la autora Pacheco, la presencia de DAG puede retardar la cristalización y, por ende, disminuir el contenido de grasa sólida de los productos interesterificados [19]. Además, es importante resaltar que la cantidad de enzima usada, por su contenido de agua género este fenómeno de hidrólisis, aumentando el porcentaje de ácidos grasos libres de la mezcla, afectando la calidad del producto final promoviendo la oxidación del mismo.

Figura 30.

%SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 1



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

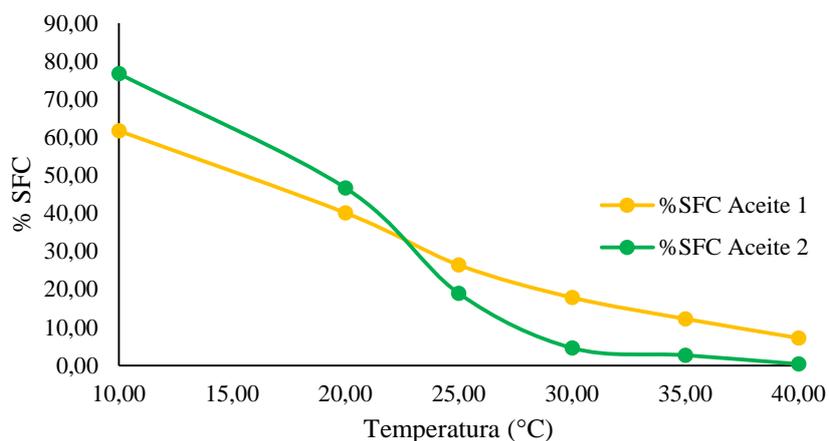
4.6.2 Experimento #2

Seguidamente, se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 2,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 65 °C. En la figura 31 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites y en la figura 32 el perfil de grasa sólida de la mezcla del experimento 2 antes y después de la reacción.

En este experimento, se aprecia un comportamiento similar al experimento anterior, en la figura 32 se observa que nuevamente el perfil de sólidos de entrada se encuentra por encima del perfil de sólidos de salida, debido a la generación de DAG en la mezcla. Por otro lado, es importante destacar que a pesar de que se incrementó la temperatura de reacción 5°C, no se evidenciaron cambios significativos en la reacción interesterificación.

Figura 31.

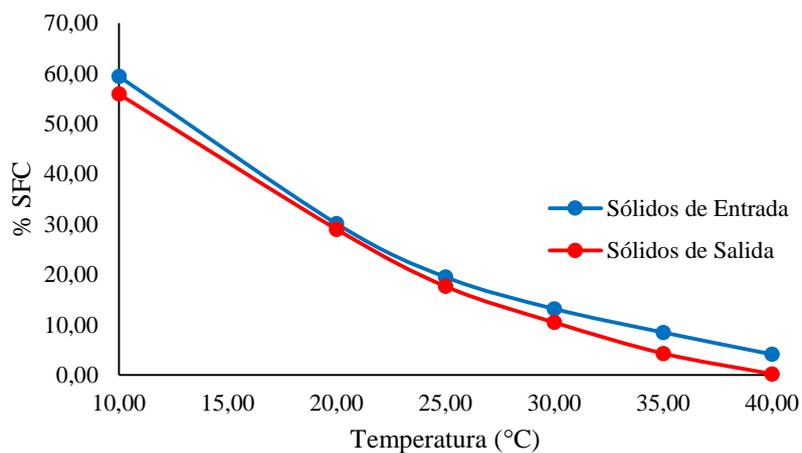
% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 2.



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de los aceites usados en el experimento.

Figura 32.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 2



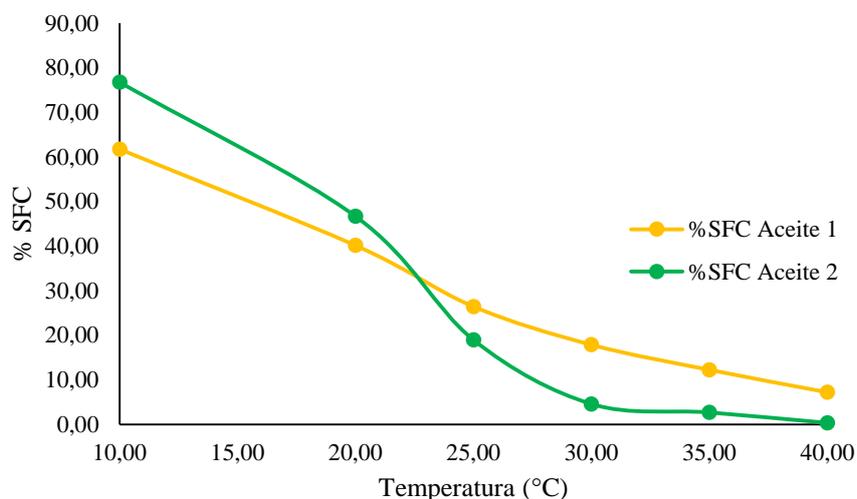
Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.3 Experimento #3

Se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 2,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 70 °C. En la figura 33 se presenta el contenido de grasa sólida de las materias primas y en la figura 34 el perfil de grasa sólida de la mezcla del experimento 3 antes y después de la reacción.

Figura 33.

% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 3.

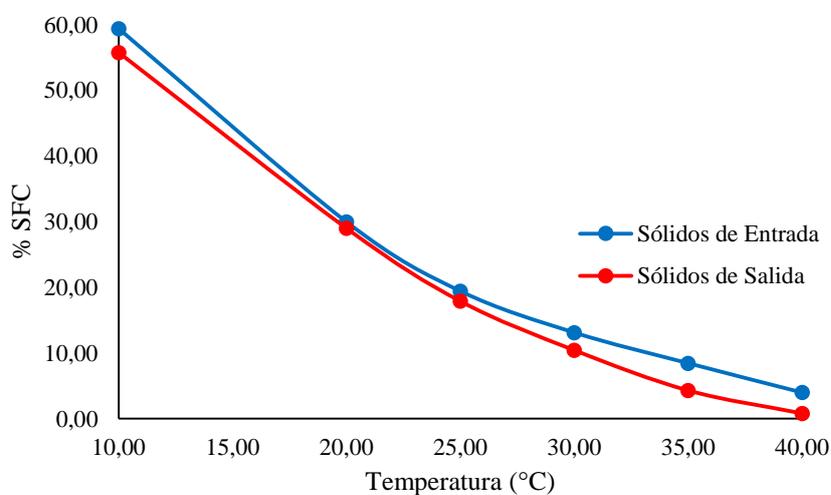


Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

Como se puede evidenciar en la gráfica 34, de igual manera que en los experimentos 1 y 2, el perfil de grasa sólida de la mezcla de salida es inferior al perfil de grasa sólida de entrada. En estos tres experimentos se concluye que la cantidad de enzima usada no fue suficiente para llevar a cabo la reacción de interesterificación enzimática y cumplir con los parámetros establecidos por la compañía.

Figura 34.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 3



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.4 Experimento #4

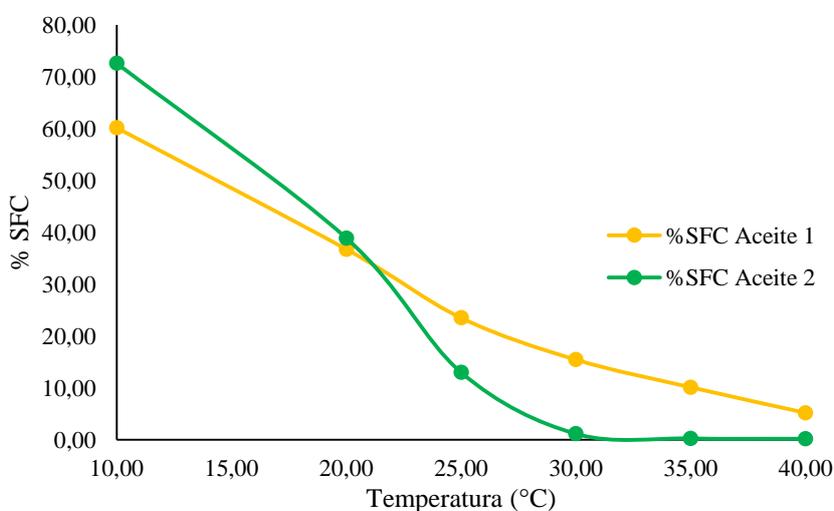
Se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 5,00 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 60 °C. En la figura 35 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites y en la figura 36 el perfil de grasa sólida de la mezcla del experimento 4 antes y después de la reacción.

En la figura 36, se puede observar que el perfil de grasa solida de salida es mayor que el perfil de solidos de entrada, es decir que a un porcentaje del 5.00% p/p y una temperatura de 60°C, son condiciones que permiten que la reacción de interesterificación se lleve a cabo, minimizando la formación de subproductos.

Las modificaciones en el perfil de grasa solida obtenidas en este experimento presentan un aumento significativo por debajo de los 30°C, lo cual indica que el producto interesterificado tiene una consistencia mas solida con respecto a estas temperaturas (10°C, 20°C, 25°C y 30°C) paralelamente por encima de los 30°C el producto se volvio mas blando al disminuir su contenido de grasa solida en las temperaturas de 35°C y 40 °C. Al comparar este resultado con el parametro establecido por la compañía, se observa que a pesar de que la mezcla reacciono, no cumple con el valor minimo requerido.

Figura 35.

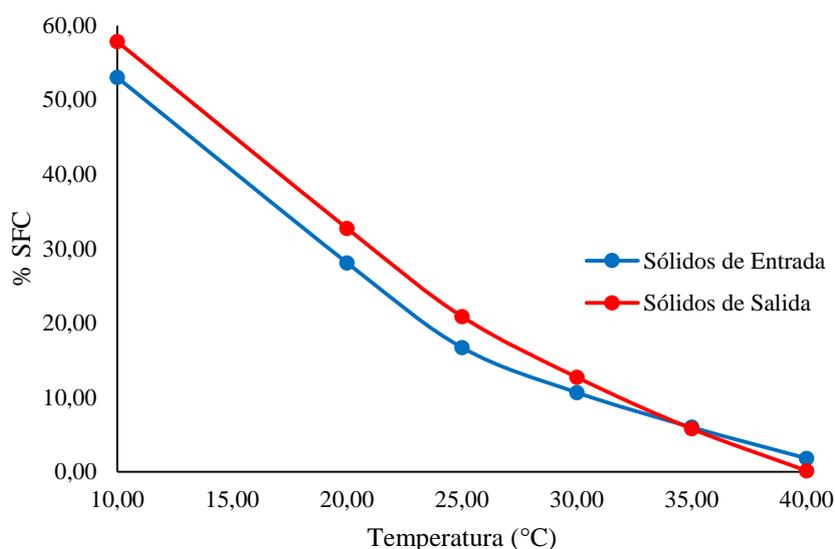
% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 4.



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa solida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

Figura 36.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 4



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.5 Experimento #5

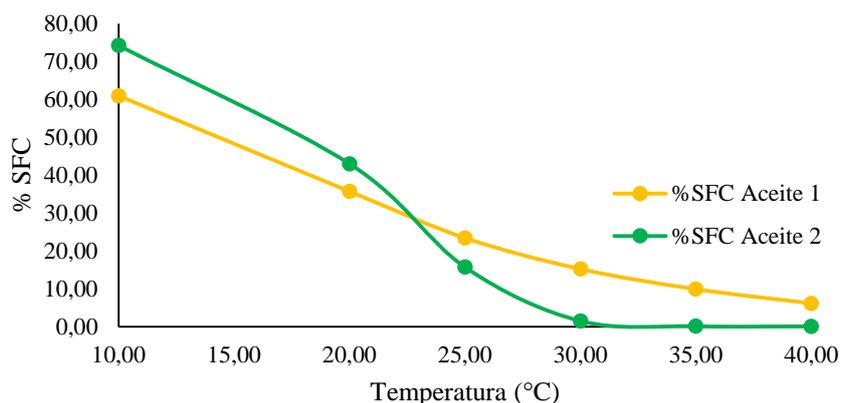
Se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 5,00 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 65 °C. En la figura 37 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites y en la figura 38 el perfil de grasa sólida de la mezcla del experimento antes y después de la reacción.

Como se puede observar en la figura 38, el perfil de grasa sólida obtenido a 10°C del producto antes y después de la reacción presentó una variación mínima, es decir que su capacidad de esparcimiento se mantuvo constante, en paralelo se observa que, a partir del rango de temperaturas entre 20°C y 25 °C, se presentan cambios significativos indicando que el producto es más sólido a temperatura ambiente.

Por otro lado, a temperaturas superiores (30°C, 35°C y 40°C) el producto presenta una consistencia más blanda debido a que el perfil de grasa sólida se mantuvo o disminuyó. Con respecto al experimento anterior se evidencia que el aumento de la temperatura no presenta un cambio significativo en el perfil de grasa sólida, en especial a 20 °C.

Figura 37.

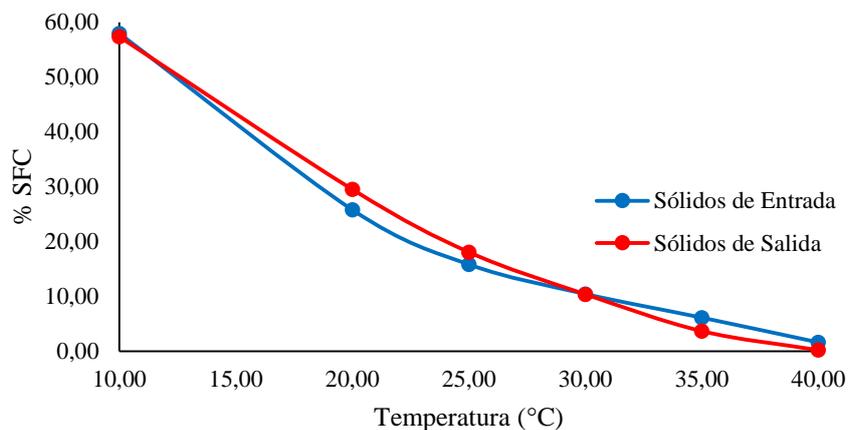
% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 5.



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa solida de los aceites usados en el experimento.

Figura 38.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 5



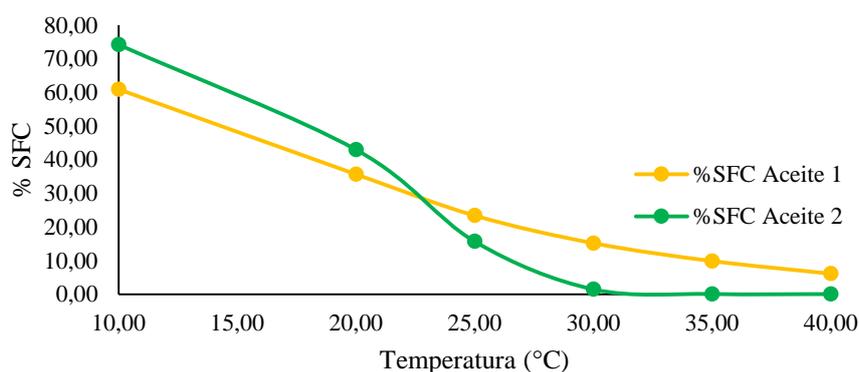
Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.6 Experimento #6

Se presentan los resultados del primer experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 5,00 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 70 °C. En la figura 39 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites y en la figura 40 el perfil de grasa sólida de la mezcla del experimento antes y después de la reacción.

Figura 39.

% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 6

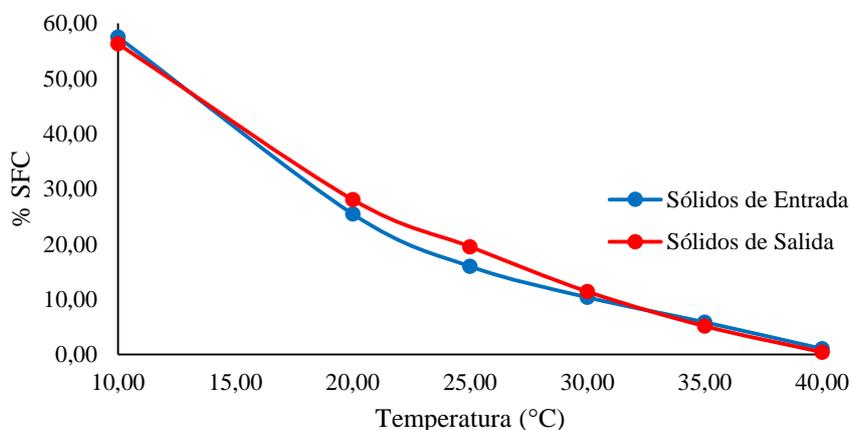


Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

En la figura 40, se observa que el perfil de grasa sólida a 10°C, no presentó cambios significativos con respecto a los sólidos de entrada de la mezcla grasa, lo cual indica que la capacidad de esparcimiento del producto a esta temperatura, se mantuvo constante. Por otro lado, en el rango de temperaturas de 20°C y 30°C, se presenta un aumento en el contenido de grasa sólida, obteniendo un producto con mayor dureza. Sin embargo, a las temperaturas de 35°C y 40°C se evidencia una disminución mínima, manteniendo la consistencia blanda del producto inicial.

Figura 40.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 6



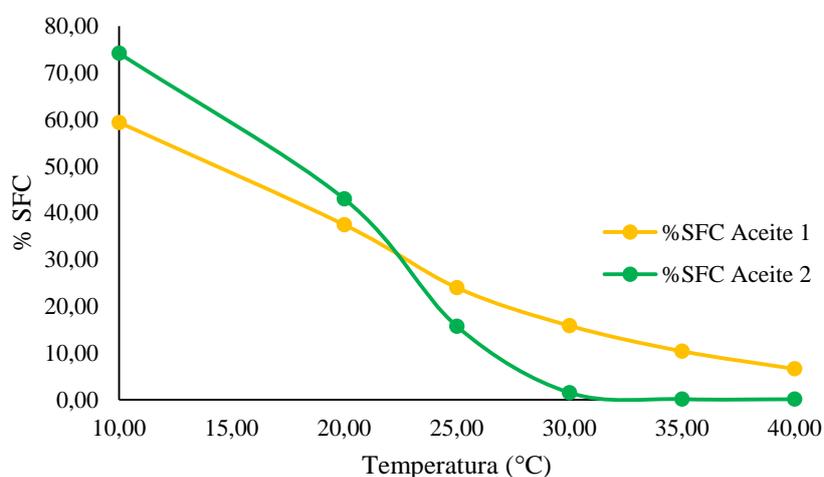
Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.7 Experimento #7

Se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 8,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 60 °C. En la figura 41 se presenta el contenido de grasa sólida de las materias primas.

Figura 41.

% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 7



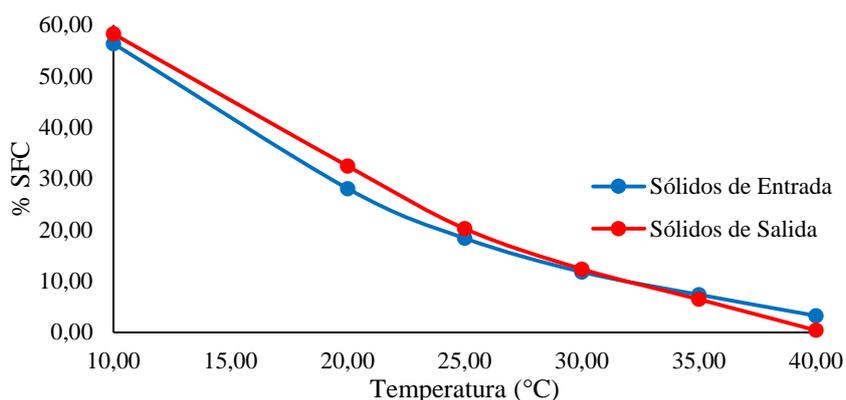
Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

En la gráfica 42, se observa que con las condiciones propuestas de 8,50 %p/p y 60°C, la reacción de interesterificación se llevó a cabo correctamente, ya que se evidencia un cambio significativo en el perfil de sólidos de la muestra. El perfil de contenido de grasa sólida del producto interesterificado, es superior para temperaturas menores o iguales a 25°C, lo cual indica que la mezcla presenta una consistencia con mayor dureza a estas temperaturas.

Por otro lado, a temperaturas mayores o iguales a 30°C, el perfil de grasa sólida disminuye, resultando ser más significativo a temperaturas de 40°C, donde el producto final presenta una consistencia más blanda.

Figura 42.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 7



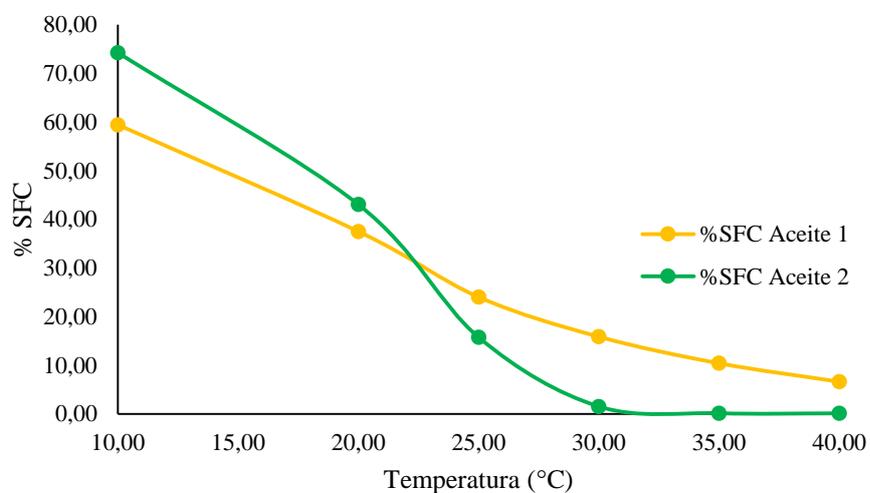
Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

4.6.8 Experimento #8

Se presentan los resultados del primer experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 8,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 65 °C. En la figura 43 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites usados en la mezcla.

Figura 43.

% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 8

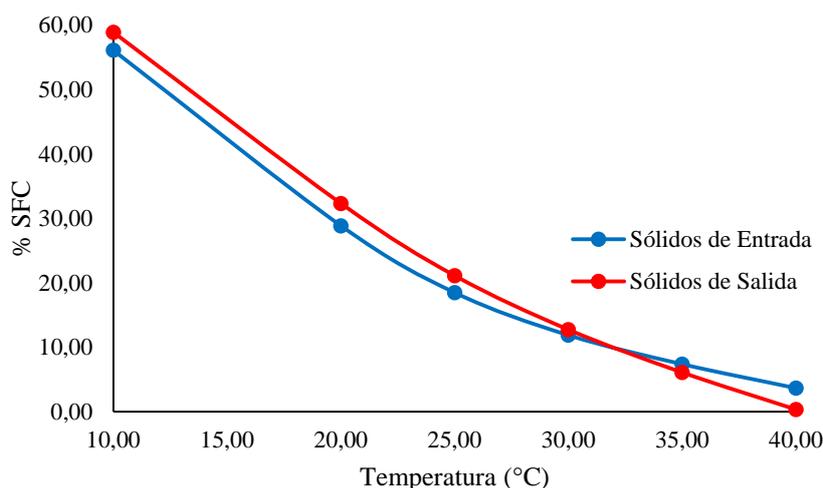


Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

En el experimento 8, se evidencia que el aumento de temperatura, no influye significativamente en el perfil de contenido de grasa sólida. Como se muestra en la figura 44, el perfil de grasa solida de salida a temperaturas menores o iguales a 25°C, son superiores, con respecto a los sólidos de entrada, indicando que el producto final tenía una consistencia más sólida. En paralelo, a temperaturas mayores o iguales a 30°C, la mezcla grasa presenta una apariencia más blanda sobre todo a la temperatura de 40°C, con respecto a la mezcla grasa inicial.

Figura 44.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 8



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

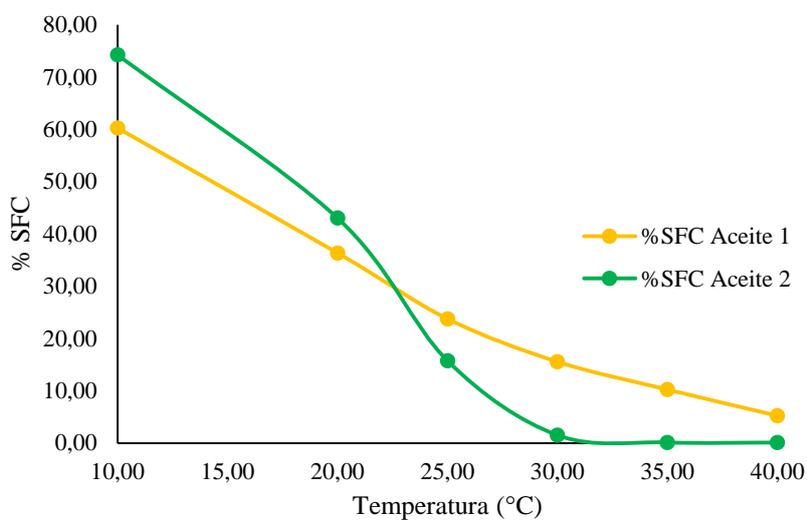
4.6.9 Experimento #9

Se presentan los resultados del experimento que se llevó a cabo con las siguientes condiciones: 8,50 %p/p de enzima/sustrato y una temperatura de 70 °C. En la figura 43 se presenta el contenido de grasa sólida de los aceites usados en la mezcla.

En el experimento 9, se puede evidenciar un comportamiento similar al del experimento 8, donde a temperaturas inferiores a 30°C, el contenido de grasa solida de salida, es mayor al contenido de grasa solida de entrada, obteniendo una mezcla grasa con una mayor proporción de solidos que se traduce, en una consistencia más sólida. Paralelamente, a temperaturas mayores a 30°C, el perfil de grasa solida de la mezcla de salida disminuyo en comparación con los de entrada, indicando una mezcla más blanda con respecto a la mezcla inicial, tal y como se observa en la figura 46.

Figura 45.

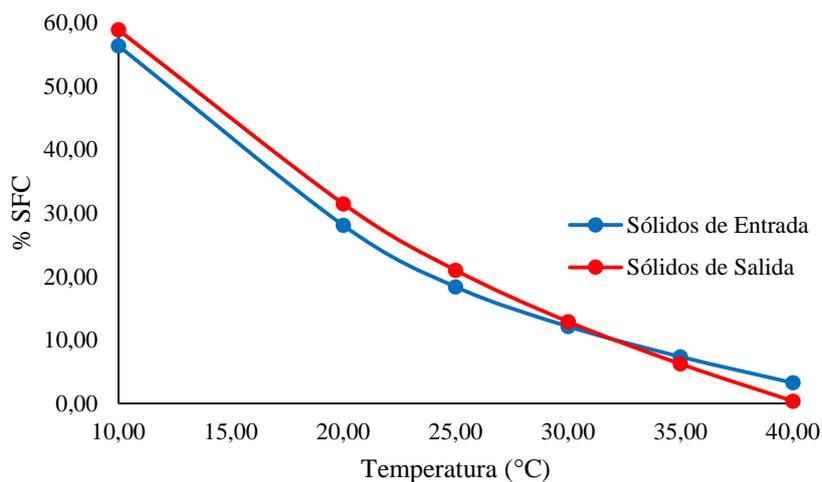
% SFC Aceite 1 y Aceite 2 usados en la mezcla de aceites del Experimento 9



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de aceites usados en el experimento.

Figura 46.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada del experimento 9



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la mezcla grasa.

En la tabla 9, se observa relacionan las condiciones de operación, con la diferencia del contenido de grasa sólida de salida y entrada a 20 °C y el grado de interesterificación.

Tabla 11.*Tabla resumen del diseño de experimentos*

EXPERIMENTO	TEMPERATURA (°C)	ENZIMA/ SUSTRATO %p/p	SOL F- SOL I	(%) GI
Exp 1	60,00	2,50	-1,31	21,83%
Exp 2	65,00	2,50	-1,11	18,81%
Exp 3	70,00	2,50	-0,97	16,28%
Exp 4	60,00	5,00	4,63	58,73%
Exp 5	65,00	5,00	3,72	36,43%
Exp 6	70,00	5,00	2,60	24,62%
Exp 7	60,00	8,50	4,40	55,42%
Exp 8	65,00	8,50	3,46	48,53%
Exp 9	70,00	8,50	3,40	42,82%

Nota. En la presente tabla se presentan los resultados de la diferencia del contenido de grasa sólida final e inicial (Variable de respuesta) de cada experimento.

4.7 Análisis De Varianza Del Diseño De Experimentos

El análisis de varianza del diseño de experimentos se realizó mediante el software Minitab 16, tomando como datos de partida los valores presentados en la tabla 36, este se realizó para un diseño factorial de tres niveles con dos factores (Temperatura (°C) y Enzima/Sustrato %p/p), teniendo como variable de respuesta la diferencia del contenido de grasa sólida final e inicial, específicamente a la temperatura de 20°C de cada uno de los experimentos.

Esta variable de respuesta se estableció debido a que el contenido de grasa sólida de las mezclas grasas usadas en el desarrollo experimental variaba en cada corrida, esto debido a las propiedades fisicoquímicas de la materia prima.

$$\text{Variable de respuesta} = \%SFC_{20 \text{ Salida}} - \%SFC_{20 \text{ Entrada}}$$

A continuación, se pretende identificar, si existe una diferencia significativa en la variable de respuesta en función a la combinación de los niveles de Enzima/Sustrato (%p/p) y Temperatura (°C), factor Enzima/Sustrato (%p/p) y factor temperatura (°C). De acuerdo a lo anterior, se plantean las siguientes hipótesis:

- Combinación de los niveles de Enzima/sustrato (%p/p) y Temperatura (°C)

H₀: No hay interacción entre los niveles de Enzima/sustrato %p/p y Temperatura (°C) que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

H_A: Hay interacción entre los niveles de Enzima/sustrato %p/p y Temperatura (°C) que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

- Enzima/Sustrato (% p/p)

H₀: No hay efecto del %p/p de la enzima/sustrato que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

H_A: Hay efecto de la %p/p de la enzima/sustrato que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

- Nivel de Temperatura (°C)

H₀: No hay efecto de la Temperatura (°C) que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

H_A: Hay efecto de la Temperatura (°C) que influyan en la variable de respuesta ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$)

En la tabla 10 se presenta resumen del análisis de varianza de la variable de respuesta del diseño de experimentos, donde se presenta la regresión lineal, cuadrática y el error residual, obtenidos mediante el software MINITAB 16. En este caso el valor de α es del 0,05.

Tabla 12.

Análisis de varianza %SFC (20°C) Salida-%SFC (20°C) Entrada del diseño de experimentos.

FUENTE	SC SEC	SC	MC	VALOR	VALOR
		AJUST	AJUST	F	P
Regresión	48,26	48,26	9,65	24,12	0,01
Lineal	32,98	5,57	2,79	6,96	0,08
Enzima/Sustrato %p/p	31,77	5,51	5,51	13,77	0,03
Temperatura (°C)	1,21	0,02	0,02	0,05	0,84
Cuadrado	14,96	14,96	7,48	18,69	0,02
Enzima/Sustrato*Enzima/Sustrato	14,93	14,93	14,93	37,33	0,01
Temperatura*Temperatura	0,02	0,02	0,02	0,05	0,84
Interacción de dos factores	0,33	0,33	0,33	0,82	0,43
Enzima/Sustrato*Temperatura	0,33	0,33	0,33	0,82	0,43
Error Residual	1,20	1,20	0,40		
Total	49,46				

Nota. Esta tabla muestra el análisis de varianza del diseño de experimentos factorial 3² obtenido mediante el software Minitab 16.

- Combinación de los niveles de Enzima/sustrato (%p/p) y Temperatura (°C)

De acuerdo al estadístico de prueba, con un nivel de significancia del 5,00% se acepta la hipótesis nula, debido a que $P: 0.43 > \alpha : 0.05$, donde se concluye que no hay interacción entre los niveles de %Enzima/Sustrato y temperatura que influyan en la diferencia del perfil de grasa sólida a 20 °C de salida y entrada.

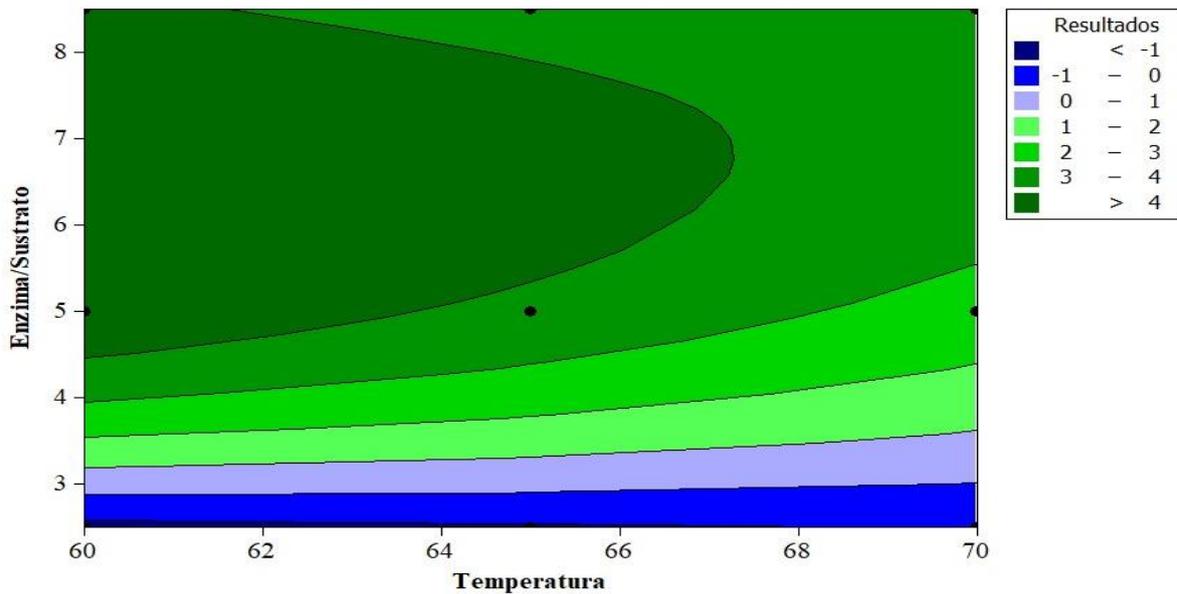
En la figura 47, la cual representa la gráfica de contorno se puede evidenciar que los valores más altos de la diferencia del perfil de grasa sólida a 20 °C de la mezcla grasa de salida y entrada fijando las condiciones de tiempo y agitación a 4h y 600 rpm, respectivamente, se encuentran en la esquina superior izquierda, lo que coincide con los valores más altos del % p/p de enzima/sustrato y los valores más bajos de temperatura.

Los valores más bajos de la diferencia del perfil de grasa sólida a 20 °C de la mezcla grasa de salida y entrada, se encuentra en la esquina inferior izquierda de la gráfica, lo cual representa los valores más bajos tanto del % p/p de enzima/sustrato como de la temperatura.

Por otro lado, se observa que a mayor temperatura y mayor cantidad de enzima sustrato, la diferencia del perfil de grasa sólida a 20 °C de la mezcla grasa de salida y entrada presenta valores intermedios de alrededor de 3 y 4 puntos.

Figura 47.

Grafica de contorno de la diferencia del contenido de grasa sólida Vs. %p/p Enzima/Sustrato y Temperatura (°C)



Nota. La grafica proporciona una vista bidimensional de los datos en relacionando los valores de respuesta ajustados obtenido mediante el software Minitab 16.

- Enzima/Sustrato (% p/p)

Con una significancia del 5,00%, se rechaza la hipótesis nula, debido a que $P: 0.03 < \alpha :0.05$, donde se concluye que hay efecto de algún nivel de porcentaje peso a peso de la enzima/sustrato sobre la diferencia de contenido de grasa sólida a 20°C de salida y entrada, es decir que si existen diferencias significativamente estadísticas.

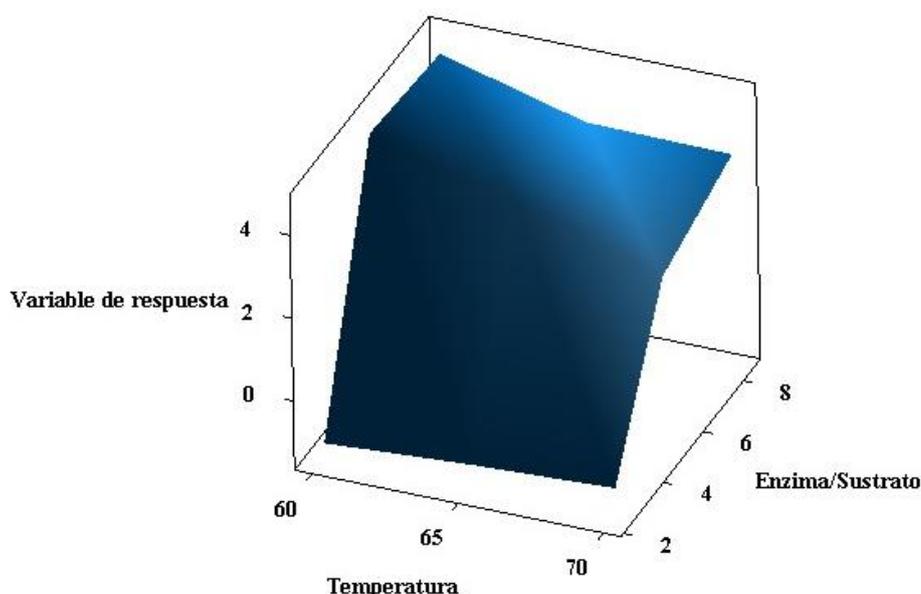
- Nivel de Temperatura (°C)

Con una significancia del 5,00%, se aprueba la hipótesis nula, debido a que $P: 0.84 > \alpha :0.05$ es decir que el factor de la temperatura, no tiene efecto sobre la variable de respuesta del contenido de grasa sólida a 20°C ($\%SFC_{20\ Salida} - \%SFC_{20\ Entrada}$), por lo tanto no hay diferencias significativamente estadísticas.

Por otro lado en la gráfica 48, se puede evidenciar que el punto más alto de la figura, se da en las condiciones de 5,00 %p/p Enzima/Sustrato y 60°C, lo que se traduce en una mayor diferencia del perfil de grasa sólida de la mezcla de salida con respecto a la de entrada. En paralelo el punto más bajo de la gráfica, se da en las condiciones de 2,50 % p/p Enzima/Sustrato y 60°C, indicando el valor más bajo del perfil del contenido de grasa sólida, donde se concluye que el proceso de interesterificación bajo estas condiciones es ineficiente.

Figura 48.

Grafica de superficie de variable de respuesta (Diferencial del contenido de grasa sólida a 20°C de salida y entrada) Vs. %p/p Enzima/Sustrato y Temperatura (°C)



Nota. Esta grafica permite relacionar el efecto de la relación de los factores sobre la variable de respuesta obtenido mediante software Minitab 19.

4.8 Análisis De Resultados General De La Experimentación

El diseño de experimentos factorial 3^2 se ejecutó a escala piloto en la empresa SIGRA S.A, donde fueron suministrados todos los insumos para la elaboración de los ensayos. Debido a que las materias primas usadas para preparar la mezcla (Aceite 1 derivado de la palma y Aceite 2 derivado del palmiste) no provenían de las mismas cargas, se fijó como variable de respuesta la diferencia entre el contenido de grasa sólida de salida y de entrada a 20 °C, esto con el fin de identificar las condiciones de operación a las cuales se alcanza el mayor incremento de grasa sólida con respecto a los sólidos de entrada. Para el desarrollo del proyecto se toma como referencia la especificación establecida por la empresa, en donde se indica que el valor del

contenido de grasa sólida a 20°C debe ser como mínimo 36, después de la reacción, para una la mezcla grasa base presente en este estudio.

El contenido de grasa sólida es una de las propiedades fisicoquímicas más controladas e importantes en la industria de margarinas, ya que se relaciona con la textura, pues define la capacidad de esparcimiento, la estabilidad del producto y la sensación de la misma en la boca, lo que resulta ser fundamental para determinar la formulación de una margarina. Según Karabulut [16], el porcentaje de grasa sólida a 10°C, indica la esparcibilidad de la grasa a temperatura de refrigeración, la cual para una margarina untable se debe encontrar por debajo del 32%, en este caso el contenido de grasa sólida obtenida en todos los ensayos de interesterificación enzimática, estuvo por encima del 50% debido a la naturaleza fisicoquímica de los aceites, es decir que la mezcla grasa obtenida no presenta buenas propiedades de esparcibilidad a la temperatura de refrigeración. En paralelo, el contenido de grasa sólida a la temperatura de 20 °C, es un indicador de la estabilidad física de la margarina a temperatura ambiente, por lo tanto, si el contenido de grasa sólida es menor al 10%, se disminuirá dicha resistencia a la exudación de aceite del producto. Para la grasa trabajada en este proyecto, se obtuvieron valores entre el 28 y 32% después de la reacción, a pesar de que la grasa sin interesterificar cumplía con este propósito ya que poseía valores de alrededor del 25%, el objetivo de la interesterificación es aumentar el contenido de grasa sólida a esta temperatura con el fin de obtener una grasa rígida, que aporte solidez a la mezcla para la elaboración de margarinas.

Por último, el contenido de grasa sólida a 35 y 40°C, se relaciona con el grado de fusión del producto en la boca, el cual debe encontrarse por debajo del 3,5% para no percibir una sensación oleosa en la boca, en este aspecto los resultados obtenidos muestran una disminución del contenido de grasa sólida a estas temperaturas después del proceso de interesterificación, presentando valores entre el 6 y 0,4% a 35°C y 40°C respectivamente, es decir que el perfil de sólidos de la mezcla obtenida por interesterificación enzimática, no presenta buenas propiedades de esparcibilidad, posee resistencia a la exudación de aceite a temperatura ambiente y no funde por completo a temperatura corporal.

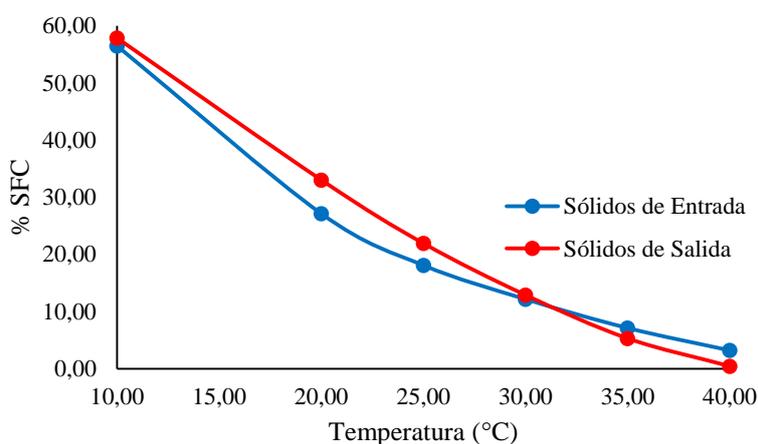
4.8.1. Réplica del mejor experimento

Con base, en el criterio establecido por la empresa y de acuerdo a los resultados obtenidos y a los análisis preliminares realizados anteriormente, se puede afirmar que el experimento en

donde se obtuvieron los mejores resultados fue el número 4, en el cual se trabajó una temperatura de 60°C y 5 % p/p de enzima/sustrato, obteniendo un aumento de 4.63 puntos en el contenido de grasa a 20°C con respecto al contenido de sólidos de entrada. Sin embargo, es importante resaltar que, aunque hubo una variación significativa en el perfil de sólidos, no se logró cumplir con el parámetro establecido. Por tal razón, se realizó una réplica de este experimento cambiando el tiempo de reacción de 4h a 6h y manteniendo la agitación a 600 rpm, para determinar si se alcanzaba el parámetro meta y establecer si necesitaba más tiempo de reacción para cumplir con dicho fin.

Figura 49.

% SFC de la mezcla sin interesterificar e interesterificada de la réplica.



Nota. En la gráfica se observa el comportamiento del perfil de grasa sólida, antes y después del proceso de interesterificación de la réplica de la mezcla grasa.

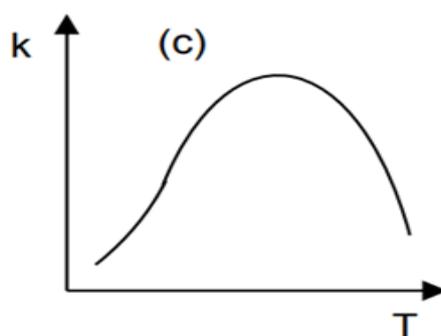
Como se puede evidenciar, el tiempo no fue un factor que influyera significativamente en la reacción de interesterificación, debido a que el aumento del contenido de grasa sólida a 20°C fue muy similar al experimento 4, teniendo diferencias entre el perfil de sólidos de salida y de entrada de 4,82 y 4,63 puntos, respectivamente. Esto se relaciona con la teoría encontrada en la revisión bibliográfica,, cuando se pretende aumentar el contenido de grasa sólida de la mezcla, la interesterificación enzimática presenta un menor rendimiento que la interesterificación química, por lo tanto no se pueden alcanzar los mismos perfiles de contenido de grasa sólida ya que son dos tipos de reacción distintos (Aleatoria y Específica, respectivamente), es decir que la interesterificación enzimática no puede cumplir con los parámetros establecidos

Finalmente el grado de interesterificación se realizó con respecto al contenido de grasa sólida esperado a 20°C por interesterificación química, sin embargo, este valor se ve afectado por la calidad de la materia prima usada para cada mezcla de los experimentos, puesto que variaban el contenido de grasa sólida de los aceites usados, lo cual interfiere en el resultado final. En la tabla 9 se observa que el mayor grado de interesterificación fue el del experimento 4.

Por otra parte, para evaluar la importancia de los factores escogidos sobre la variable de respuesta se realizó un ANOVA por medio del software MINITAB 16, al analizar cada uno de los factores y las hipótesis planteadas, se puede establecer que la interacción temperatura-enzima y el factor temperatura no tienen una influencia significativamente estadística sobre la variable de respuesta. El aumento de la temperatura, por lo general aumenta la velocidad de las reacciones químicas, sin embargo, para la catálisis enzimática, el estudio de la temperatura es más complejo, ya que la enzima puede desnaturizarse a temperaturas elevadas, es por esto que es de suma importancia tener un rango de temperatura óptimo en donde se encuentra el valor máximo de velocidad tal y como se muestra en la figura 50.

Figura 50.

Dependencias de la constante específica de velocidad con la temperatura



Nota. La presente figura evidencia la dependencia de la constante específica de velocidad con la temperatura en reacciones enzimática, hidrogenaciones catalíticas, etc. Tomado de: Aníbal R. Lodeiro. (2016), Catálisis enzimática Fundamentos químicos de la vida. p.p 39. [En línea]. Disponible: <https://libros.unlp.edu.ar/index.php/unlp/catalog/book/690>

En este caso para la enzima Lipozyme TL IM, este rango se encuentra entre 50-75°C según la ficha técnica, valores que fueron trabajados en el diseño de experimentos, como se mencionó anteriormente la temperatura no tuvo influencia sobre la variable de respuesta, ya que la

actividad catalítica relacionada con la velocidad de reacción, en este rango de temperaturas es muy similar.

Seguidamente, la cantidad de enzima usada si interviene en los resultados y tiene una influencia significativa, debido a que si se trabaja con una concentración baja, la cantidad de enzima no será capaz de llevar a cabo la reacción de reinteresterificación para transformar el sustrato, antes promueve la generación de subproductos como monoglicéridos y diglicéridos. En cambio, el aumento de la concentración de la enzima acelera el proceso de la reacción ya que habrá mayor cantidad de enzima para interactuar con el sustrato favoreciendo la formación de productos.

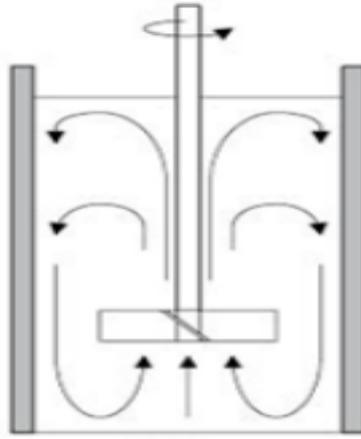
Lo anterior se puede ver reflejado en la gráfica 20 de superficie, en donde se observa que el aumento de la temperatura no tiene influencia sobre la variable de respuesta, por el contrario, el % enzima/sustrato tiene una gran influencia en la diferencia del contenido de grasa sólida, debido a que a medida que se aumenta esta proporción aumenta la diferencia de sólidos a 20 °C, sin embargo, en la gráfica se observa que a aproximadamente al 5,00- 8,50% p/p de enzima/sustrato, la diferencia de sólidos a 20 °C tienen los mejores resultados, por lo tanto, trabajar a un porcentaje mayor al anterior no causará cambios significativos, por el contrario se verá reflejado en los costos.

Desde otro punto de vista, el sistema de agitación es uno de los factores claves en la reacción de interesterificación enzimática, ya que es esta la que permite el contacto enzima-aceite para llevar a cabo la reacción. Con base a lo anterior, una velocidad de agitación demasiado baja puede conducir a una reacción lenta ocasionando una mayor generación de subproductos, debido a que en el medio de reacción se pueden presentar limitaciones de transferencia de masa ya que el sustrato puede tardar en llegar al centro activo de la enzima, por el contrario, trabajar a velocidades de agitación elevadas o un mal diseño de las aspas, puede causar la erosión de la base inmovilizada de la enzima [34].

Es de suma importancia alcanzar una mayor turbulencia dentro del reactor con el fin de incrementar el rendimiento, teniendo en cuenta lo anterior, se seleccionó una agitación de 600 rpm. Tal como lo muestra la figura 51, se debe tener un sistema de agitación con flujo axial el cual genera corrientes paralelas al eje del agitador para garantizar que el aceite circule a lo largo de todo el reactor tanto vertical como horizontalmente.

Figura 51.

Sistema de agitación con flujo axial.



Nota. La figura presenta el tipo de agitación ideal para el proceso de interesterificación enzimática, donde el aceite debe circular a lo largo y ancho del reactor para favorecer el contacto con la enzima. Tomado de: Alejandra Díaz Rojas, Curvas de potencia para fluidos no-newtonianos y Newtonianos. Universidad De Los Andes (2017)

Sin embargo, debido a la forma del agitador de la planta piloto (Figura 15), a los cuatro baffles instalados en el interior del reactor (Figura 52) y sobre todo a la forma cónica del mismo, se alcanzaba a sedimentar por gravedad cierta cantidad de enzima obstruyendo la salida de aceite.

Figura 52.

Interior del reactor de la planta piloto.



Nota. Interior del reactor de la planta piloto de SIGRA S.A el cual posee cuatro baffles.

Seguidamente, es importante mencionar que el grado de interesterificación según el autor Moreno N, se logran a altas cargas de enzima y temperaturas de reacción comprendidas entre 60 y 70 °C, y con tiempos de reacción mayores a tres (3) horas [35], donde este valor se encuentra en un rango de 17-36%. En paralelo este grado, permite observar la desviación con respecto a la interesterificación química y la conversión, que para estos experimentos se encuentra en el rango de 16-58%.

Por otro lado, es fundamental tener en cuenta que a lo largo del desarrollo experimental se reutilizó la enzima por medio del tratamiento con acetona descrito anteriormente en el numeral 4.3, se debe recalcar que esta etapa es muy valiosa ya que determina la actividad de la misma al pasar por otro ciclo de reacción, debido a que se evidencio que si no se realiza un proceso de recuperación eficiente, la enzima quedará con residuos de grasa lo cual genera una pérdida en la actividad de la misma.

5. DIAGNÓSTICO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA MEZCLA GRASA INTERESTERIFICADA Y SIN INTERESTERIFICAR

Con el fin de tener conocimiento técnico acerca de la materia prima en estudio del presente proyecto y claridad sobre sus propiedades fisicoquímicas, en este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la caracterización de la mezcla grasa. En primera instancia se llevó a cabo la caracterización de la materia prima por separado, y posteriormente se procedió a analizar la mezcla, dentro las propiedades determinadas se encuentran: la acidez, el punto de fusión, el contenido de grasa sólida y el perfil de ácidos grasos

5.1. Ensayos De Laboratorio

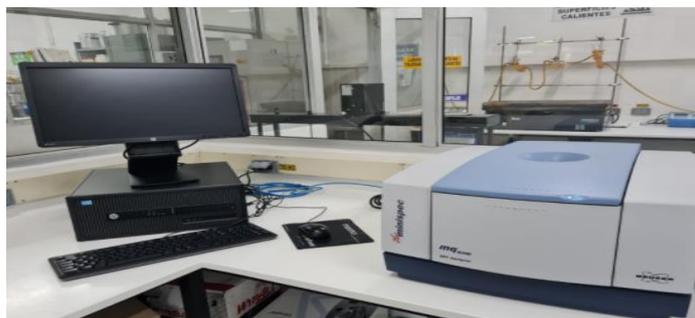
En el presente apartado se describirán los pasos a seguir para determinar las propiedades fisicoquímicas de la muestra tanto de materias primas como de las mezclas grasas sin interesterificar e interesterificadas, las cuales todas se llevan a cabo en los laboratorios de calidad de la compañía de SIGRA S.A.

5.1.1. Perfil de grasa solida

Para llevar a cabo la medición del perfil de sólidos de una mezcla gras, inicialmente se debe calentar y homogenizar completamente la muestra, en un tubo minispec trasvasar la muestra hasta que la columna del líquido tenga una altura entre los 4 y 5 cm, repetir este procedimiento con 5 tubos más ya que se requieren para colocarlos en los baños de 10, 20, 25, 30, 35,40 °C, dejar durante una horas los tubos con muestra en el baño destinado a 0 °C, pasado el tiempo pasar el tubo al baño de la temperatura que según corresponda durante otros 30 minutos, ingresar usuario y contraseña en el equipo para realizar la medición, dar click en medir, introducir el tubo debidamente limpio y seco en el equipo para su medición, repetir el mismo procedimiento con la cantidad de tubos restantes, una vez finalizadas todas las mediciones según las temperaturas, dar clic en stop, volver y cerrar sesión. En la figura 53 se muestra el equipo analizador MINISPEC y en la figura 54 el diagrama de flujo.

Figura 53.

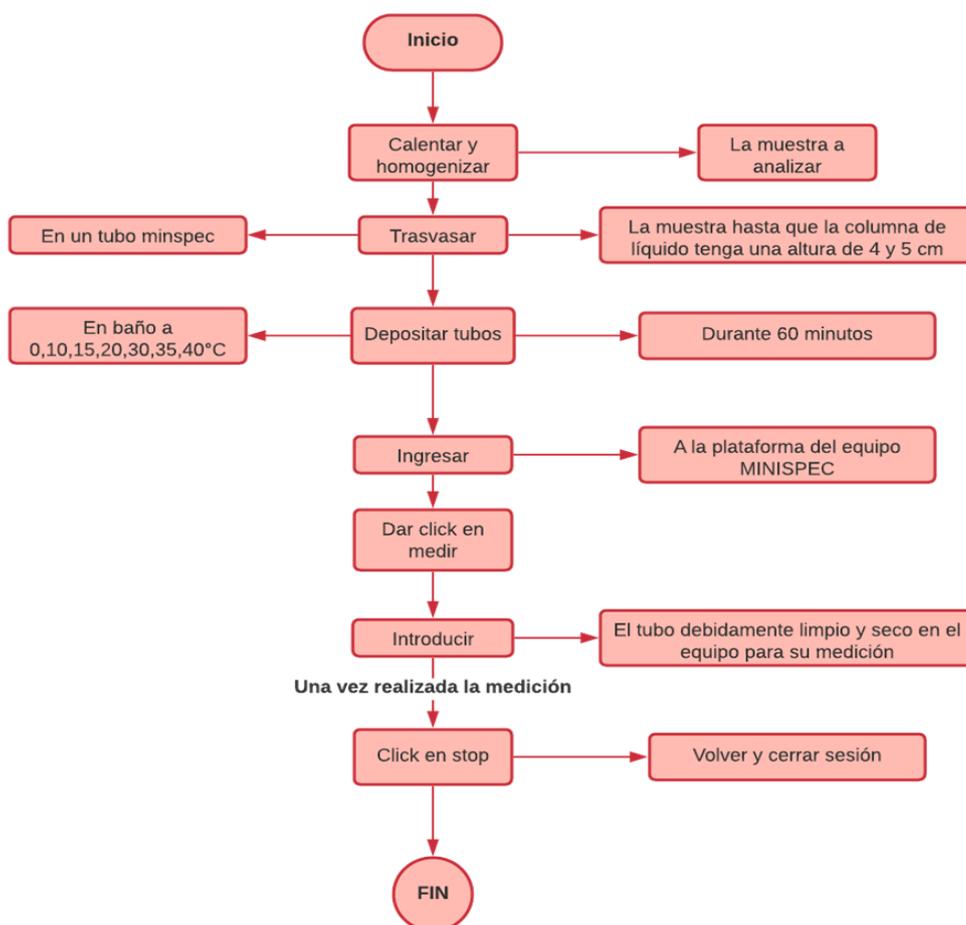
Equipo analizador MINISPEC



Nota. La presente figura el equipo analizador MINISPEC, el cual es utilizado para la medición del contenido de grasa sólida.

Figura 54.

Determinación del perfil de sólidos con el equipo MINISPEC.



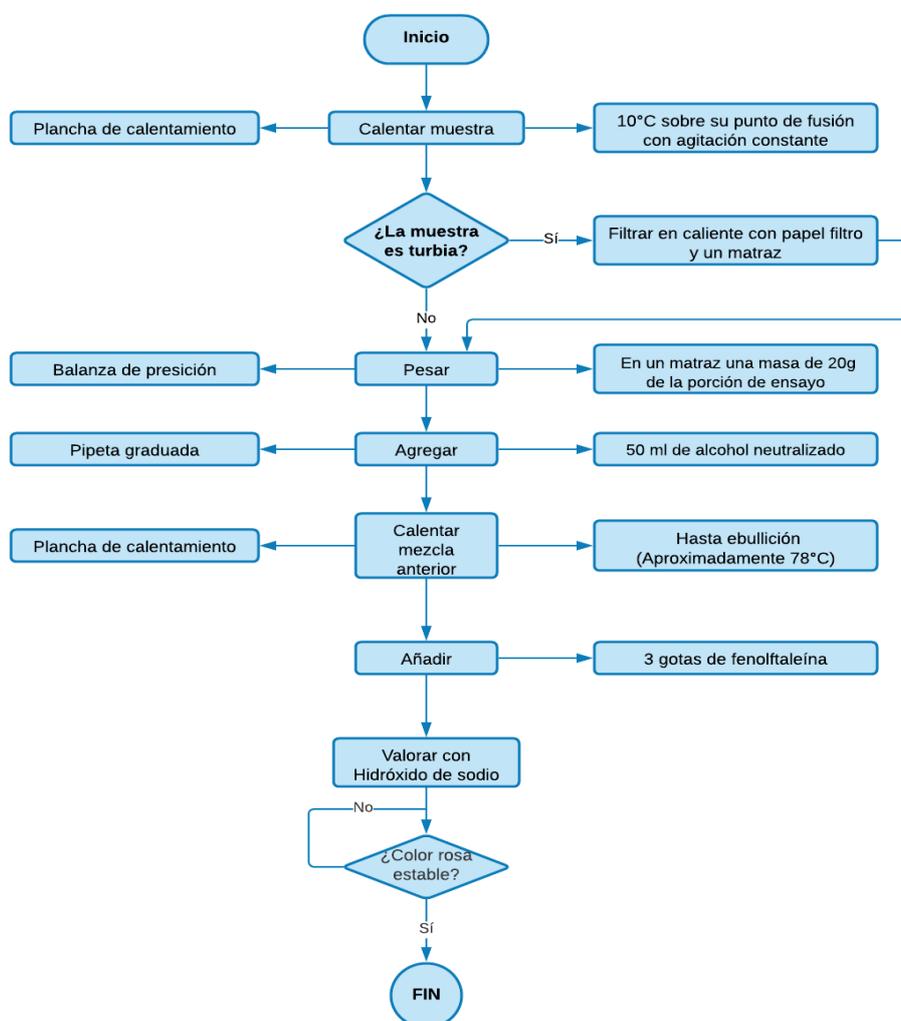
Nota. El presente diagrama, muestra el procedimiento a seguir para la determinación del contenido de grasa sólida en el equipo analizador MINISPEC.

5.1.2 Acidez

Para determinar este parámetro inicialmente se debe calentar la muestra máximo 10°C sobre su punto de fusión con agitación constante, si la muestra es turbia o presenta sedimentos, se debe filtrar caliente, pesar en un matraz una masa de 20 g de la porción de ensayo, agregar 50 ml de alcohol neutralizado, calentar mezcla anterior hasta ebullición (Aproximadamente 78°C) y añadir 3 gotas de fenolftaleína y valorar con hidróxido de sodio hasta alcanzar un color ligeramente rosa que se mantenga estable. En la figura 55, se presenta el diagrama de flujo para la determinación de la acidez y en la figura 56 el montaje para determinar la misma.

Figura 55.

Determinación de la acidez de una muestra grasa



Nota. El presente diagrama, muestra el procedimiento a seguir para la determinación de la acidez de una muestra grasa.

Figura 56.

Titulador para la determinación de la acidez



Nota. Se muestra el titulador usado para la determinación de la acidez el cual contiene el reactivo NaOH e indica el volumen del mismo en cada titulación

5.1.3 Punto de fusión

En la figura 58, se presenta un diagrama de flujo para determinar el punto de fusión, inicialmente se debe calentar la mezcla hasta que se encuentra líquida y posteriormente sumergir un capilar abierto hasta que la muestra ascienda 10mm, llevar el capilar con la muestra y agua en un recipiente a refrigeración por 5 minutos, pasado el tiempo llenar en un beaker de 250 ml con agua fría hasta el 75% de su capacidad y sujetar el tubo capilar en un termómetro de mercurio usando bandas elásticas. Colocar el termómetro dentro del beaker y sujetarlo por medio de un soporte universal e iniciar calentamiento con un agitador magnético, registrar la temperatura a la cual la muestra comience a ascender por el capilar. En la figura 57 se presenta el montaje usado en SIGRA S.A para determinar esta propiedad fisicoquímica.

Figura 57.

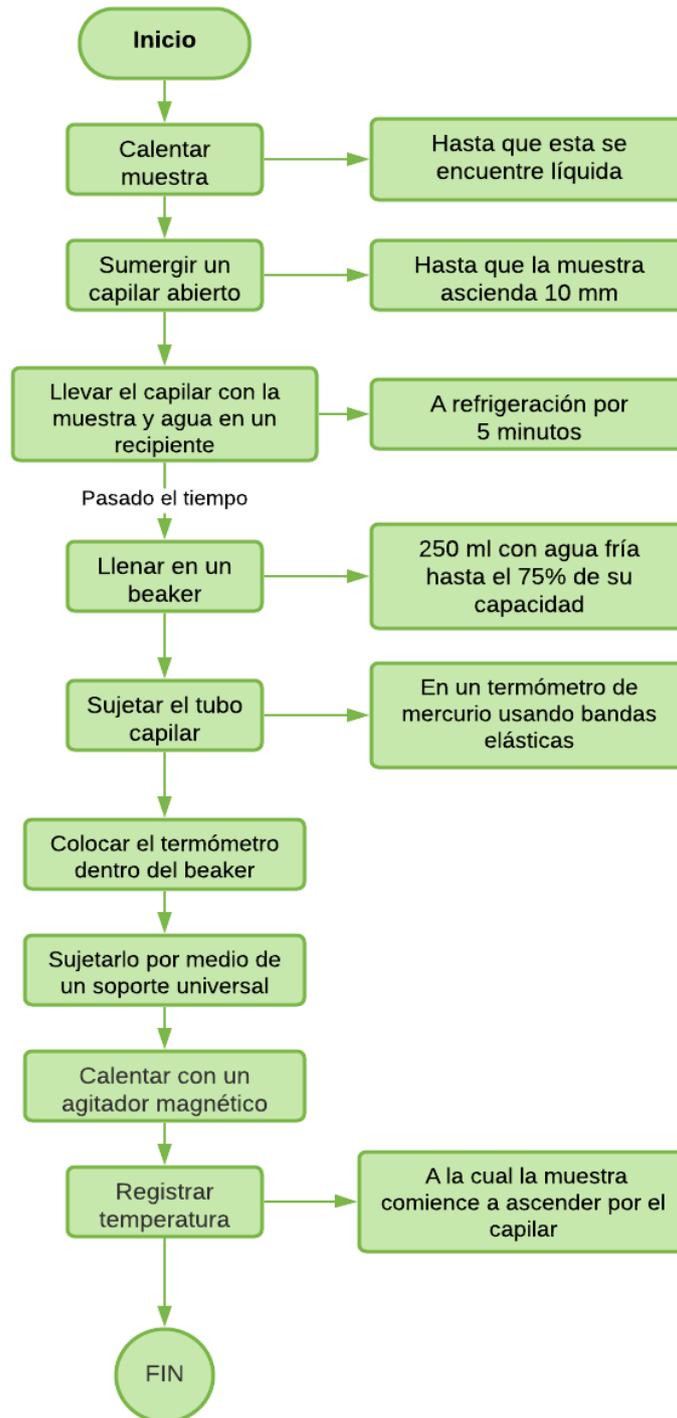
Montaje para determinar el punto de fusión



Nota. En la figura se muestra el montaje en donde se coloca el beaker sobre una plancha de calentamiento con un agitador magnético.

Figura 58.

Determinación del punto de fusión de una muestra grasa.



Nota. El presente diagrama, muestra el procedimiento a seguir para la determinación del punto de fusión de una muestra grasa.

5.1.4 Perfil de ácidos grasos

La cromatografía de gases es una técnica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatografía, la cual es un tubo empacado con algún polímero líquido [32]. En la figura 60, se presenta el diagrama de flujo para la determinación del perfil de ácidos grasos, inicialmente se realiza un tratamiento de la muestra con el fin de tener un extracto concentrado de triglicéridos los cuales son convertidos a ácidos grasos y luego a esteres simples de metanol en vez de glicerol.

El tiempo de apariciones cada pico en la cromatografía identifica a cada componente de la mezcla, y el área indica la fracción presente. En la figura 59, se presenta el cromatógrafo de gases para determinar el perfil de ácidos grasos en SIGRA S.A

Figura 59.

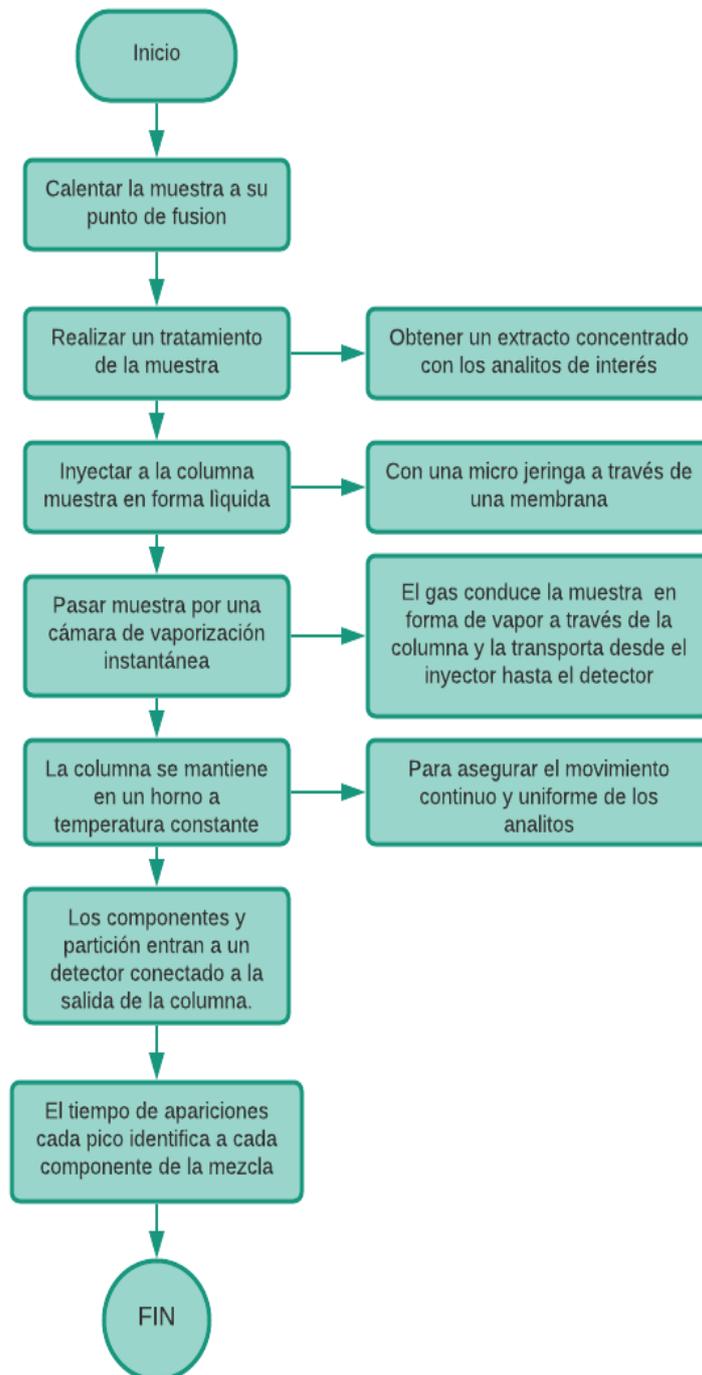
Cromatógrafo de gases para determinar el perfil de ácidos grasos



Nota. La presente figura muestra el cromatógrafo de gases utilizado para determinar el perfil de ácidos grasos

Figura 60.

Cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos graso



Nota. El presente diagrama, muestra el procedimiento a seguir para la realización de una cromatografía de gases para la determinación del perfil de ácidos grasos.

5.2 Resultados De Las Propiedades Fisicoquímicas De Las Materias Primas Y De La Mezcla Sin Interesterificar

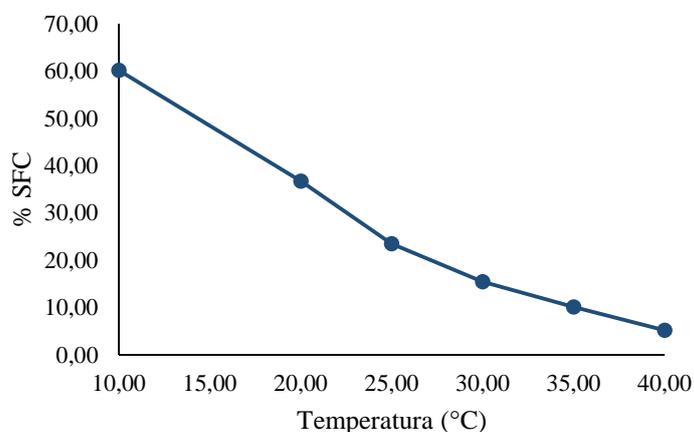
5.2.1 Aceite 1

Al aceite 1, se le determinó su perfil de grasa sólida, acidez y punto de fusión, los cuales siguieron el procedimiento presentado en el apartado 5.1.1.

5.2.1.a Perfil de grasa sólida. En la figura 61, se muestra el perfil de contenido de grasa sólida del aceite 1 usado en la mezcla grasa a interesterificar, donde se observa, que el contenido de grasa sólida a 20 °C esta alrededor del 37%, por otro lado su perfil a los 35 °C se encuentra por encima del 10 %, es decir que aun a esta temperatura no tendrá una consistencia líquida del todo.

Figura 61.

Perfil del contenido de grasa sólida del aceite 1



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa solida del aceite 1 usado en la mezcla a la cual se le realizó la cromatografía.

5.2.1.b Acidez. Para determinar la acidez del aceite 1 se siguió el procedimiento descrito en el numeral 5.1.1.2 donde se pesaron 20,91 g y se procedió a titular con NaOH, los datos obtenidos se presentan en la tabla 11.

Tabla 13.

Masa de la muestra del aceite 1 y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.

Masa muestra (g)	20,91
NaOH (ml)	0,24

Nota. La presente tabla muestra los valores necesarios para determinar la acidez del aceite 1.

Con la ecuación presentada en el numeral 2.2.1, se determinó el porcentaje de acidez de la muestra:

$$\text{Acidez} = 2,80 \cdot \frac{0,24}{20,91} = 0,03\%$$

5.2.1.c Punto de fusión.

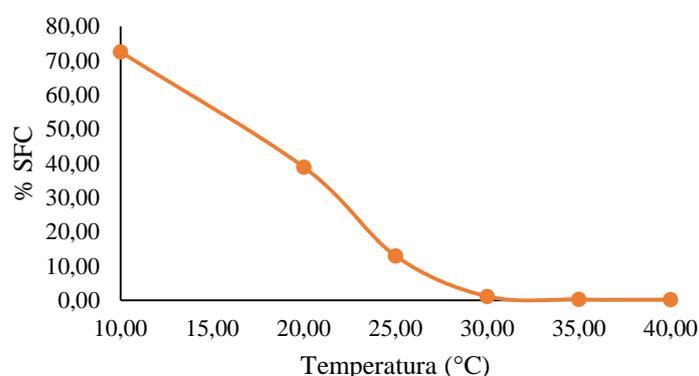
$$\text{Punto de fusión (}^\circ\text{C)} = 42,00 \text{ }^\circ\text{C}$$

5.2.2 Aceite 2

5.2.2.a Perfil de grasa sólida. En la figura 62, se muestra el perfil de contenido de grasa sólida del aceite 2 usado en la mezcla grasa a interesterificar, donde se observa, que el contenido de grasa sólida a 20 °C esta alrededor del 40%, por otro lado su perfil a los 35 °C se aproxima a cero lo cual indica que a temperaturas superiores el aceite ya se encuentra en estado líquido.

Figura 62.

Perfil del contenido de grasa sólida del aceite 2



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa solida de aceite 2

5.2.2. b Acidez. Para determinar la acidez de la muestra de aceite 2, se pesaron 20,76 g y se procedió a titular con NaOH, los datos obtenidos se presentan en la tabla 12.

Tabla 14.

Masa de la muestra del aceite 2 y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.

Masa muestra (g)	20,76
NaOH (ml)	0,15

Nota. La presente tabla muestra los valores necesarios para determinar la acidez del aceite 2.

Con la ecuación presentada en el numeral 2.2.1, se determinó el porcentaje de acidez de la muestra:

$$\text{Ácido} = 2,80 \cdot \frac{0,15}{20,76} = 0,02\%$$

5.2.2.c Punto de fusión.

$$\text{Punto de fusión } (^{\circ}\text{C}) = 30,00 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

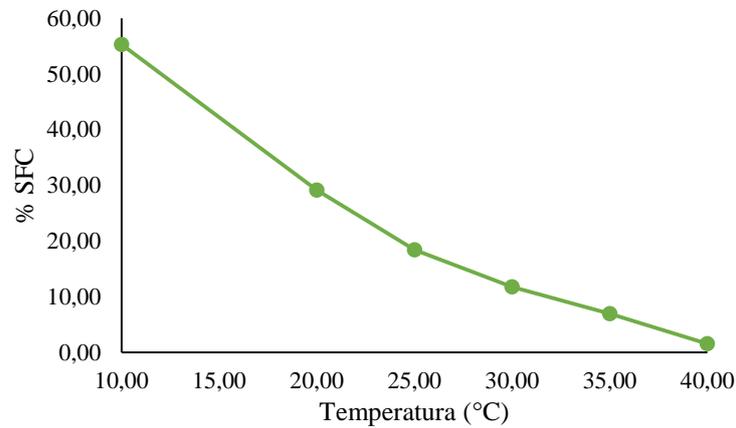
5.2.3 Mezcla Grasa De Aceite Vegetales

A la mezcla grasa se le determinó su perfil de grasa sólida, acidez y punto de fusión, los cuales siguieron el procedimiento presentado en el apartado 5.1.1.

5.2.3.a Perfil de grasa sólida. En la figura 63, se aprecia el perfil de grasa sólida de la mezcla grasa de aceite vegetales antes de someterla al proceso de interesterificación. Como se puede observar en la gráfica, a la temperatura de 20°C, la mezcla presenta un contenido de grasa sólida de alrededor del 30 %, siendo una mezcla semi-sólida a temperatura ambiente, por otra parte a la temperatura de 35°C posee un contenido aproximado del 7%, por lo que a esta temperatura presenta una consistencia más blanda pero no totalmente líquida.

Figura 63.

Perfil del contenido de grasa sólida muestra grasa



Nota. En la gráfica se puede apreciar el perfil del contenido de grasa sólida de la mezcla de grasa a la cual se le realizó la cromatografía.

5.2.3.b Acidez. Para determinar la acidez de la muestra grasa, se pesaron 20,91 g y se procedió a titular con NaOH, los datos obtenidos se presentan en la tabla 13.

Tabla 15.

Masa de la muestra de la mezcla grasa y Volumen de NaOH utilizado en la titulación para la determinación de la acidez.

Masa muestra (g)	20,23
NaOH (ml)	0,22

Nota. La presente tabla muestra los valores necesarios para determinar la acidez de la muestra grasa.

Con la ecuación presentada en el numeral 2.2.1, se determinó el porcentaje de acidez de la muestra:

$$\text{Ácido} = 2,80 \cdot \frac{0,22}{20,23} = 0,03\%$$

5.2.3.c Punto de fusión

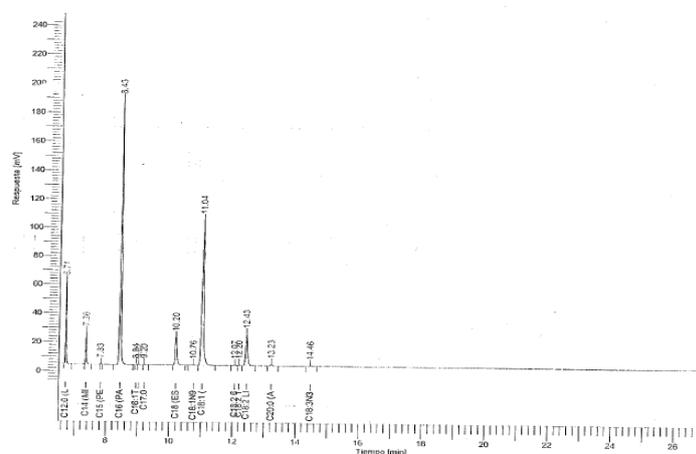
$$\text{Punto de fusión (°C)} = 40,00 \text{ °C}$$

5.2.3.d Perfil de ácidos grasos de la mezcla grasa sin reaccionar. El perfil de ácidos grasos para la mezcla grasa inicial, tal y como se muestra en la figura 64, presenta diferentes picos, en la figura 66 se evidencia un alto contenido de ácidos grasos saturados equivalente al 57,66%, sobresaliendo el ácido palmítico y el ácido láurico con una composición del 39,02% y 7,75% respectivamente, los cuales se observan en la figura 65. De igual modo los ácidos grasos monoinsaturados representan el 33,87% destacándose el ácido oleico con un valor del 33,76%, seguidamente los ácidos grasos poliinsaturados presentan un porcentaje del 8,00% siendo el más representativo el ácido linoleico con un valor del 7,74%. Finalmente, las grasas trans representan el 0,48% de la mezcla total, destacándose en composición el ácido linoelaidico con un valor del 36,54%.

Como se puede evidenciar la mezcla grasa inicial sin reaccionar a temperatura ambiente será una grasa semisólida ya que más del 50,00% de su composición son ácidos grasos saturados, seguidamente el contenido de grasas trans es mínimo ya que por reglamentación para que un alimento sea considerado con cero grasas trans estas deben estar por debajo del 0,50% del total de la mezcla [36] y en este caso se encuentra con un valor del 0,48%, tal y como se observa en la figura 67.

Figura 64.

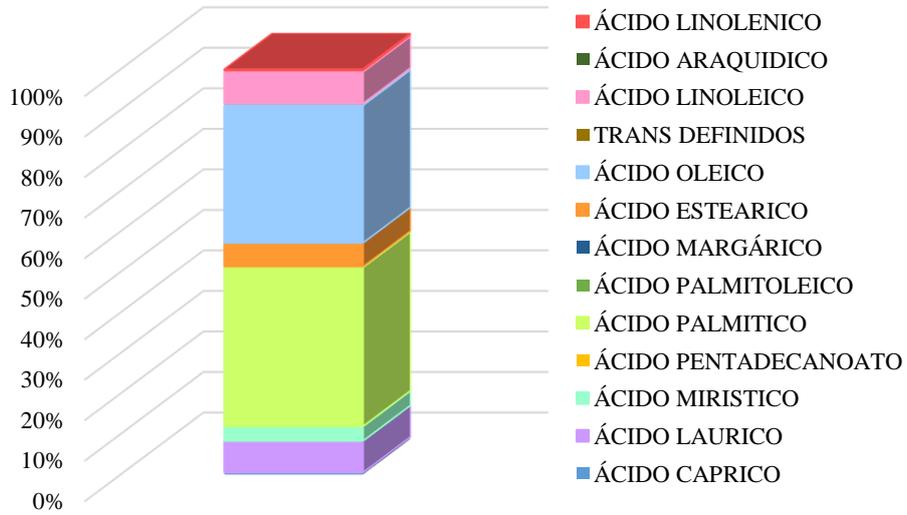
Perfil de triglicéridos de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)



Nota. En la presente gráfica se muestran los picos compuestos por cada ácido graso presente en la mezcla grasa inicial.

Figura 65.

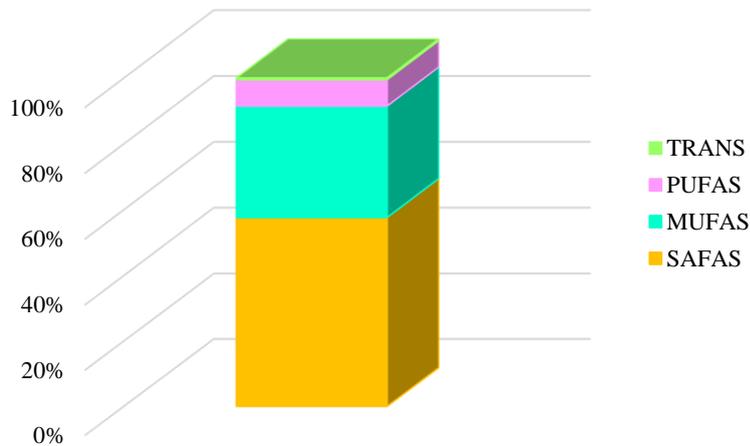
Perfil de ácidos grasos de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos de la mezcla grasa inicial.

Figura 66.

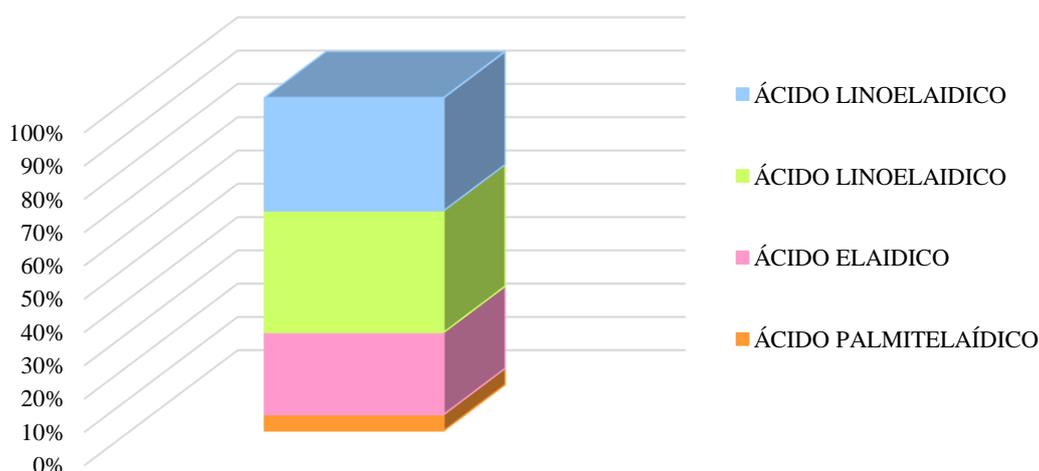
Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, de la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar).



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, presentes en la mezcla grasa inicial.

Figura 67.

Composición de las grasas trans presentes en la mezcla grasa inicial (Sin reaccionar)



Nota. En la presente gráfica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos trans, presentes en la mezcla grasa inicial.

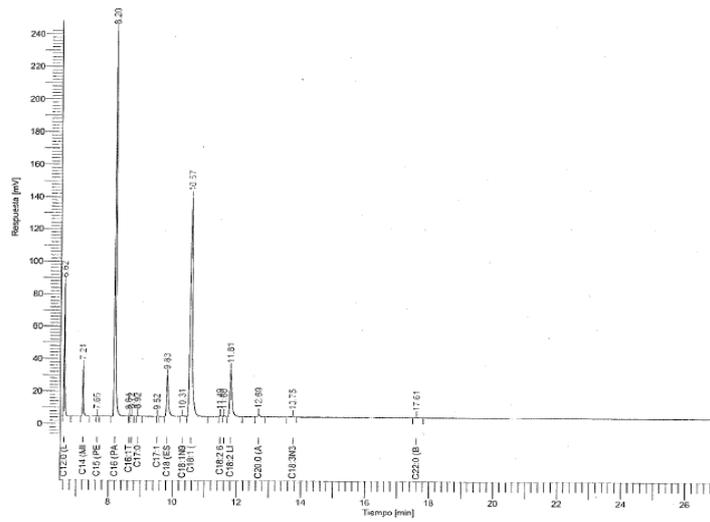
5.2.4 Mezcla Grasa Después Del Proceso De Interesterificación Enzimática

5.2.4.a Perfil de ácidos grasos de la réplica del Exp 4. El perfil de ácidos grasos para la mezcla grasa de la réplica del experimento 4, presenta diversos picos como se muestra en la figura 68, tal y como se muestra en la figura 70, presenta un alto contenido de ácidos grasos saturados equivalente al 57,70%, sobresaliendo el ácido palmítico y el ácido láurico con una composición del 38,74% y 7,97% respectivamente., como se muestra en la figura 69. De igual modo los ácidos grasos monoinsaturados representan el 34,16% destacándose el ácido oleico con un valor del 34,07%, seguidamente los ácidos grasos poliinsaturados presentan un porcentaje del 7,75% siendo el más representativo el ácido linoleico con un valor del 7,55%. Finalmente, las grasas trans de la figura 71 representan el 0,37% de la mezcla total, destacándose en composición el ácido linoelaidico con un valor del 50,32%.

La mezcla de la réplica del experimento 4, represento una disminución en el contenido de grasas trans, estando este alrededor del 0,37% lo cual la hace apta para consumo ya que se está por debajo de 0,5% considerándose como cero grasas trans según la reglamentación dictada en la resolución número 2508 del 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social [36].

Figura 68.

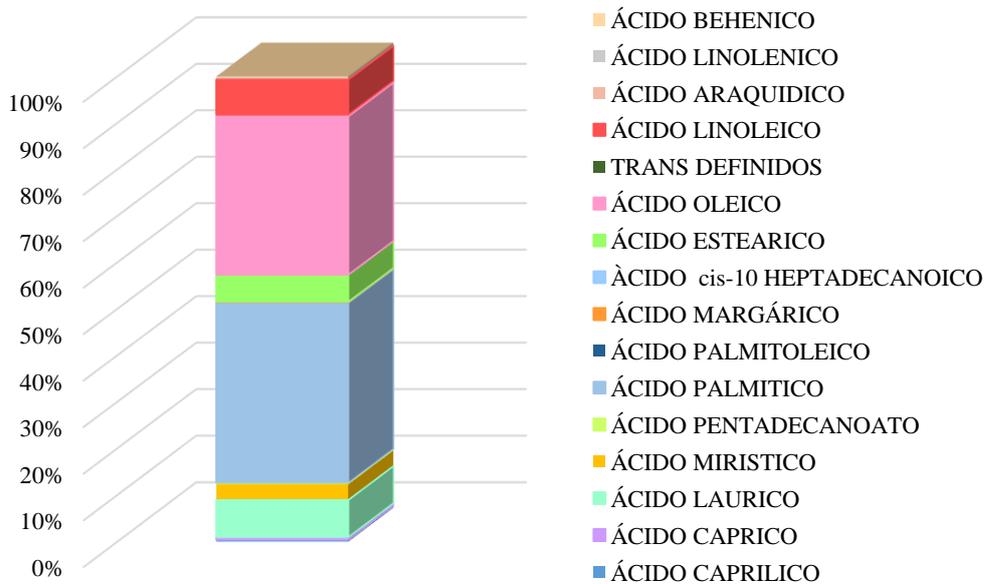
Perfil de triglicéridos de la réplica de experimento 4.



Nota. En la presente gráfica se muestran los picos compuestos por cada ácido graso presente en la réplica del experimento 4.

Figura 69.

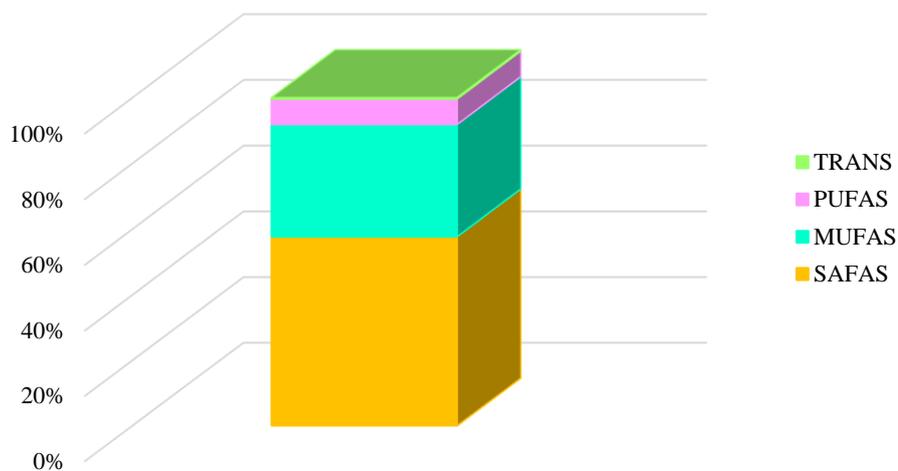
Perfil de ácidos grasos de la réplica del experimento 4



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos de la réplica del experimento 4.

Figura 70.

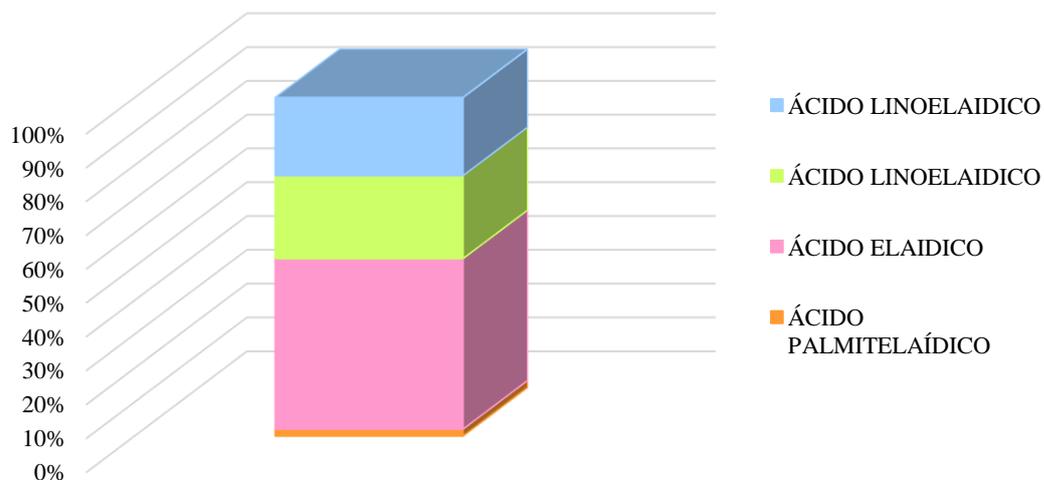
Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, de la réplica del experimento 4



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, presentes en la réplica del experimento 4.

Figura 71.

Composición de las grasas trans presentes en la réplica del experimento 4.



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos trans, presenten en la réplica del experimento 4.

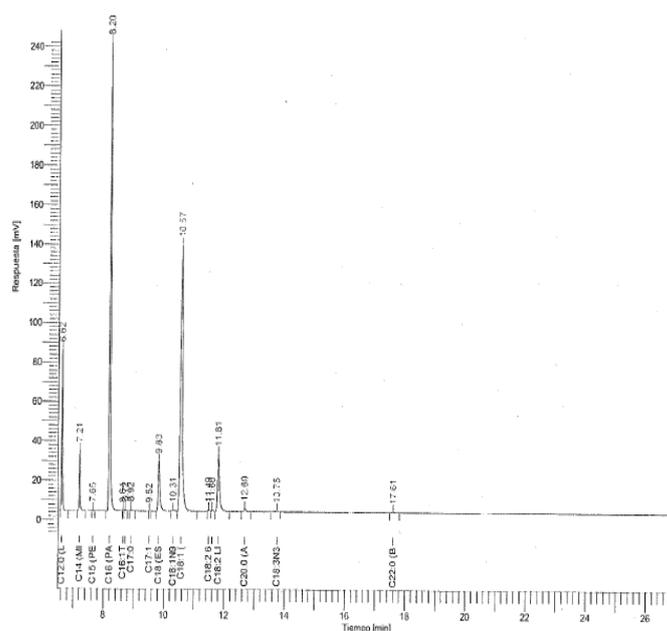
5.2.4.b Perfil de ácidos grasos del Exp 7. El perfil de ácidos grasos para la mezcla grasa del experimento 7, tal y como se muestra en los picos de la figura 72, presenta un alto contenido de ácidos grasos saturados equivalente al 59,90% según la figura 74, sobresaliendo el ácido palmítico y el ácido láurico con una composición del 40,11% y 8,05% respectivamente, siendo esta la mezcla más saturada de las tres cromatografías (Figura 73).

De igual modo los ácidos grasos monoinsaturados representan el 32,58% destacándose el ácido oleico con un valor del 32,49%, seguidamente los ácidos grasos poliinsaturados presentan un porcentaje del 7,72% siendo el más representativo el ácido linoleico con un valor del 7,50%.

Finalmente, las grasas trans representan el 0,31% de la mezcla total, destacándose en composición el ácido linoeláidico con un valor del 54,81% (Figura 75). La mezcla de la réplica del experimento 7, resulta ser la mezcla más saturada de las tres cromatografías y con el menor contenido de ácidos grasos trans.

Figura 72.

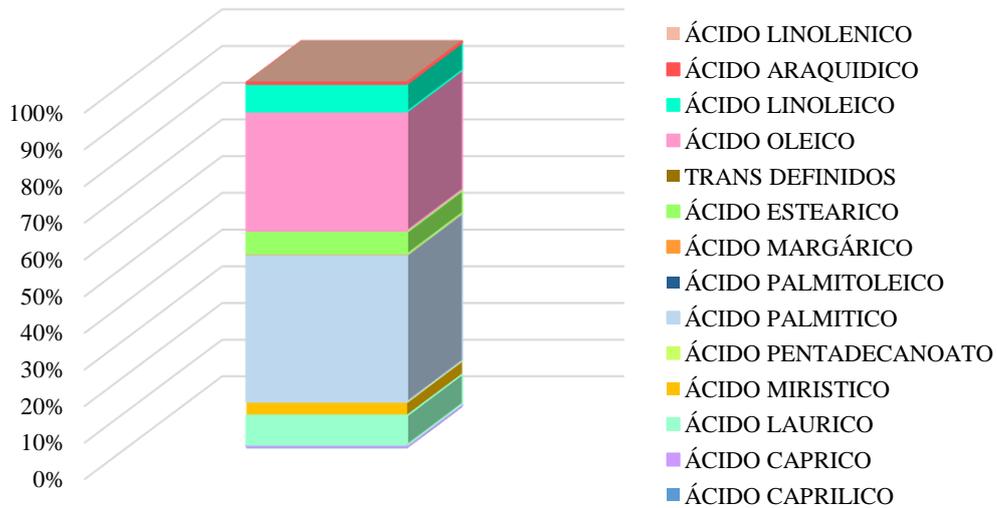
Perfil de triglicéridos del experimento 7



Nota. En la presente gráfica se muestran los picos compuestos por cada ácido graso presente en la mezcla del experimento 7.

Figura 73.

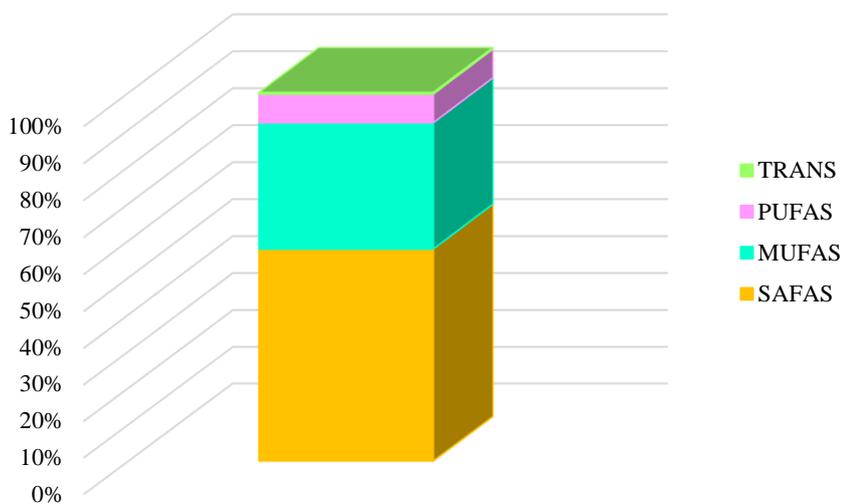
Perfil de ácidos grasos del experimento 7



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos del experimento 7.

Figura 74.

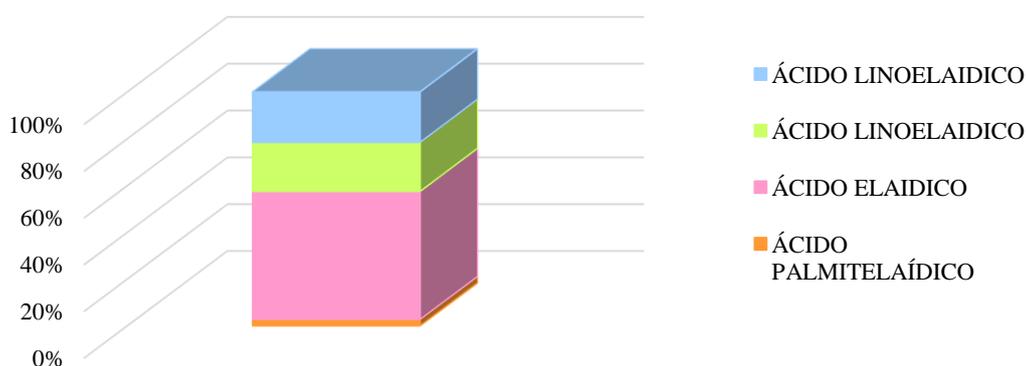
Perfil de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, del experimento 7.



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y grasas trans, presentes en el experimento 7.

Figura 75.

Composición de las grasas trans presentes en el experimento 7



Nota. En la presente grafica se muestra la composición en porcentaje de los ácidos grasos trans, presentes en el experimento 7.

5.2.4.c Acidez después del proceso de interesterificación enzimática. En la tabla 14, se presenta el resultado de la acidez final de todos los ensayos interesterificados, donde se presenta un incremento en la acidez con respecto a la acidez de entrada, por lo tanto, es de suma importancia someter las mezclas a un proceso de desodorización.

Tabla 16.

Resumen del valor de la acidez de cada uno de los experimentos realizados

	Masa de la Muestra (g)	Factor Oleico del NaOH	Volumen de NaOH (ml)	Acidez Final
EXP 1	20,00	2,86	30,07	4,29
EXP 2	20,03	2,86	32,17	4,59
EXP 3	20,06	2,86	29,12	4,15
EXP 4	20,11	2,86	17,09	2,43
EXP 5	20,12	2,86	15,04	2,13
EXP 6	20,80	2,86	17,09	2,35
EXP 7	20,40	2,86	15,64	2,19
EXP 8	20,07	2,86	19,32	2,75
EXP 9	20,03	2,86	18,95	2,70

Nota. En la presente tabla se muestran los resultados obtenidos de acidez de cada uno de los experimentos realizados según el diseño de experimentos.

5.2.4.d Punto de fusión después del proceso de interesterificación enzimática. En la tabla 15 se presenta los resultados obtenidos del punto de fusión de cada una de las mezclas interesterificadas según el diseño de experimentos.

Tabla 17.

Tabla Resumen de los puntos de fusión de cada uno de los experimentos realizados

	Punto de Fusión Final (°C)
EXP 1	37
EXP 2	38
EXP 3	37
EXP 4	39
EXP 5	38
EXP 6	38
EXP 7	39
EXP 8	38
EXP 9	39

Nota. En la presente tabla se muestran los resultados obtenidos de punto de fusión de cada uno de los experimentos realizados según el diseño de experimentos.

5.2.4.e Color después del proceso de interesterificación enzimática y química. En la figura 76, se presenta una comparación entre los aceites obtenidos por interesterificación química y enzimática respectivamente, donde se observa una notoria diferencia en cuanto al color de cada una de las muestras, esto debido a que son dos procesos que se someten a diferentes etapas y su vez poseen diferentes tipos de reacción.

Figura 76.

Muestras de mezclas interesterificadas por ruta química y enzimática.



Nota. En la figura 48 (a) se puede apreciar una mezcla interesterificada químicamente y en la figura 48 (b) una mezcla interesterificada enzimáticamente.

5.3 Análisis De Resultados General De Las Propiedades Fisicoquímicas

La caracterización de aceites y grasas es de suma importancia para determinar el alcance y aplicación industrial que probablemente pueden tener estas dentro del campo de la elaboración de margarinas. Para esto se deben evaluar las propiedades fisicoquímicas ya que resulta de gran valor puesto que predice el comportamiento de la misma al influir en la apariencia, sabor, estabilidad y plasticidad del producto elaborado. Con el fin de tener un conocimiento técnico sobre estos parámetros se caracterizaron las muestras de los aceites suministrados por la empresa SIGRA S.A, de la misma manera que la mezcla de aceites a trabajar.

En primera instancia se determinó el índice de acidez el cual es un parámetro que se relaciona con la calidad del producto, como se observa en la tabla 57, para los tres primeros experimentos, se evidencia un mayor incremento en la acidez después de la reacción y este valor se encuentra alrededor del 4.34%, esto se relaciona con lo mencionado en el capítulo anterior, en donde los resultados arrojaron una disminución en el contenido de grasa sólida, debido a que se favoreció la hidrólisis de los triglicéridos permitiendo la formación de monoglicéridos y diglicéridos por reacciones secundarias e impidiendo el proceso de reinteresterificación. Así mismo se produjo un aumento de los ácidos grasos libres fomentando la oxidación de la grasa y por ende disminuyendo su vida útil.

Paralelamente, se observa que en los experimentos restantes el índice de acidez también aumento encontrándose en un promedio de 2,47%, sin embargo, no fue tan significativo como

en los primeros tres experimentos. De acuerdo a lo anterior y contrastando los resultados obtenidos con el contenido de grasa sólida para los respectivos ensayos (Exp 4 al Exp 9), se afirma que la reacción de reinteresterificación se produjo disminuyendo la presencia de ácidos grasos libres. Es importante tener en cuenta que el proceso de interesterificación enzimática no termina con la separación de la enzima, sino que la mezcla grasa debe pasar por un proceso de desodorización para eliminar los ácidos grasos libres presentes por reacciones secundarias y obtener una grasa RBD apta para el consumo humano.

En segunda instancia se determinó el punto de fusión de las mezclas, en la tabla 58, se evidencia que en todos los ensayos se obtuvo en promedio un punto de fusión de 37-39°C, cumpliendo con el parámetro establecido de la empresa, independientemente de si la mezcla reacciona o no, cabe mencionar que este método de análisis es de observación por lo que los datos obtenidos poseen cierto margen de error humano. Por otro lado se cumplió con el objetivo de la interesterificación ya que el contenido grasa sólida a partir de 35°C, tiende a cero, debido a la reacción dada, por tal razón, el punto de fusión disminuye, con respecto al punto de fusión inicial (39-40°C).

Los perfiles de ácidos grasos tanto de la mezcla sin reaccionar como de las dos mezclas interesterificadas presentan una composición muy similar, esto se ajusta con la teoría ya que el proceso de interesterificación no interviene en la estructura molecular de los ácidos grasos, lo que se da en la reacción es un reordenamiento de los ácidos grasos en las posiciones 1 y 3 (En el caso de la interesterificación enzimática) en la molécula del triglicérido. Sin embargo, las mezclas interesterificadas presentaron una disminución en el contenido de grasas trans ya que para la réplica del experimento 4 y para el experimento 7 se presentaron valores del 0,37% y del 0,31% respectivamente. Por otro lado, el perfil de ácidos grasos para el experimento 4 presentó la aparición del ácido *cis*-10 heptadecanoico, el cual es un ácido graso insaturado que viene de las materias primas utilizadas, por tal razón este experimento obtuvo un menor porcentaje de grasa saturada (57,70%) con respecto al experimento 7 (59,39%)

Por otra parte, como se puede apreciar en la figura 48 (a), se presenta una muestra de mezcla grasa interesterificada por ruta química, donde se observa la presencia de un color marrón dado por la formación del compuesto intermedio glicerato de sodio, el cual permite el reemplazo de un ácido graso en la molécula del triglicérido, seguidamente al usar un catalizador químico como el metóxido de sodio, se da la producción de jabón, por lo cual es necesario tratar la

mezcla con ácido cítrico y tierra de blanqueo. Seguidamente la figura 48 (b), muestra una mezcla grasa obtenida por interesterificación enzimática sin uso de químicos, donde se aprecia un aceite brillante lo cual indica que no es necesario pos-tratarlo con tierra y ácido cítrico, representando la disminución de efluentes y costos operativos en el proceso.

6. EVALUACIÓN DE LOS COSTOS DE PRODUCCIÓN DE LA MEZCLA DE ACEITES INTERESTERIFICADA ENZIMÁTICAMENTE

Con el fin de mostrar los costos de producción de la mezcla de aceites interesterificada enzimáticamente a escala piloto, en este capítulo se presenta el costo de la materia usada durante el desarrollo del proyecto, de la misma manera que los costos de inversión a escala industrial.

6.1 Costos De Materia Prima Para La Producción De Interesterificación Enzimática De La Mezcla Grasa A Escala Piloto

En este apartado se realiza una estimación de los costos de producción de una mezcla grasa a partir de interesterificación enzimática para la elaboración de margarinas a escala piloto. Inicialmente se presenta el costo de la materia prima suministrada por SIGRA S.A, y de la misma manera se relaciona la cantidad usada de cada insumo durante el desarrollo del proyecto de investigación, en la tabla 16, se presenta la cantidad de materia prima usada en la producción de la mezcla grasa a escala piloto por el precio del kilogramo o litro, según las unidades de la materia prima:

Tabla 18.

Costos de la materia prima usada en la producción de la mezcla grasa a escala piloto

Materia prima	Cantidad	Precio (\$COP/kg o L)*Cantidad
Aceite 1	18,02 kg	86.754,23
Aceite 2	18,02 kg	102.920,69
Enzima Lipozyme TL IM	0,60 kg	307.200,00
Acetona	2,00 L	79.515,00
	Total	576.389,92

Nota. En la presente tabla se muestra una estimación del costo de la materia prima para el desarrollo del diseño de experimentos para el estudio de la interesterificación enzimática

6.2 Costos Indirectos De Producción De La Mezcla Grasa Interesterificada Enzimáticamente A Escala Piloto

En esta apartado se presentan los costos indirectos del proceso de interesterificación enzimática a escala piloto, las cuales incluyen los costos de la mano de obra, de los análisis de laboratorio, de los servicios y del mantenimiento, tal y como se presenta en la tabla 17.

Tabla 19.

Costos de la mano de obra para producción de la mezcla grasa

Mano de Obra	Cantidad	Salario mínimo diario 8h X 10 días (COP)
Operarios	2	302.850,00
Total		605.700,00

Nota. En la presente tabla se muestra el sueldo de los operarios menos las deducciones.

En la tabla 18, se presenta los costos de los análisis de laboratorio brindados por la empresa los cuales se realizaron con el fin de evaluar las propiedades fisicoquímicas de las mezclas grasas interesterificadas enzimáticamente:

Tabla 20.

Costos de análisis de laboratorio para la caracterización de la mezcla grasa

Análisis de laboratorio	Cantidad	Costo unitario (COP)	Costo total (COP)
%SFC	31	3.500	108.500,00
Índice de acidez	12	2.500	30.000,00
Punto de fusión	10	2.000	20.000,00
Perfil de ácidos grasos	3	5.000	15.000,00
		Total	173.500,00

Nota. En la presente tabla se muestra el costo de los análisis de laboratorio para evaluar las propiedades fisicoquímicas de la mezcla grasa.

Seguidamente se presentan los costos de los servicios industriales los cuales fueron suministrados por la empresa SIGRA S.A y se presentan de forma resumida en la tabla 19.

En primer lugar la línea de vapor de la planta piloto posee un caudal de:

$$1,10 \times 10^{-3} \frac{\text{ton}}{\text{h}}$$

Donde tiempo de reacción fue de 4 horas:

$$1,10 \times 10^{-3} \frac{\text{ton}}{\text{h}} \cdot 4,00 \text{ h} = 4,40 \times 10^{-3} \text{ton}$$

Para producir una tonelada de vapor se necesitan 57,40 m³ de gas natural, y el metro cubico de gas natural se encuentra en \$1159 COP, por lo que el gasto de vapor para un ensayo es de:

$$\text{Costo de Vapor (\$ COP)} = \text{Costo GN} \left(\frac{\$}{\text{m}^3} \right) \cdot \text{Producción Vapor} \left(\frac{\text{m}^3}{\text{ton}} \right) \cdot \text{Consumo (ton)} \quad (\text{Ec. 4})$$

$$\text{Costo de Vapor (\$ COP)} = 1159,00 \frac{\$}{\text{m}^3} \cdot 57,40 \frac{\text{m}^3}{\text{ton}} \cdot 4,40 \times 10^{-3} \text{ton}$$

$$\text{Costo de Vapor (\$ COP)} = \$292,71 \text{ (COP)}$$

En segundo lugar, el agitador del reactor de la planta piloto tiene una potencia de 2,40 hp, es decir que la energía consumida fue de:

$$2,40 \text{ HP} \left(\frac{0,7457 \text{ kW}}{1,00 \text{ HP}} \right) = 1,79 \text{ kW}$$

Donde el tiempo de reacción fue de 4,00 horas:

$$1,79 \text{ kW} \cdot 4,00 \text{ h} = 7,16 \text{ kWh}$$

El costo de energía eléctrica para un ensayo es de:

$$\text{Costo de Energía Eléctrica (\$ COP)} = \text{Costo EE} \left(\frac{\$}{\text{kWh}} \right) \cdot \text{Consumo (kWh)} \quad (\text{Ec. 5})$$

$$\text{Costo de Energía Eléctrica (\$ COP)} = 404,50 \frac{\$}{\text{kWh}} \cdot 7,16 \text{ kWh}$$

$$\text{Costo de Energía Eléctrica (\$ COP)} = \$2896,22 \text{ (COP)}$$

Finalmente para un ensayo en la planta piloto se estima que se consumen 8,00 litros de agua, los cuales son destinados para actividades de limpieza del reactor:

$$\text{Costo de Agua (\$ COP)} = \text{Costo Agua} \left(\frac{\$}{\text{m}^3} \right) \cdot \text{Consumo (m}^3) \quad (\text{Ec. 6})$$

$$\text{Costo de Agua (\$ COP)} = 7931,30 \frac{\$}{\text{m}^3} \cdot 8,00 \times 10^{-3} \text{m}^3$$

Costo de Agua (\$ COP) = \$63,45 (COP)

Tabla 21.

Costos de los servicios industriales a escala piloto

Servicio	Cantidad Ensayos	Costo (COP)
Agua	10	292,71
Energía eléctrica	10	2892,22
Vapor	10	63,45
Total		32.483,80

Nota. En la presente tabla se muestran los costos industriales necesarios para el proceso de interesterificación enzimática.

En la tabla 20, se presentan los costos por mantenimiento y en la tabla 21 el costo total de producción:

Tabla 22.

Costos de los servicios de mantenimiento a escala piloto

Mano de Obra	Mantenimiento (COP)
Servicio de mantenimiento	600.000
Total	600.000

Nota. En la presente tabla se muestran los costos por el servicio de mantenimiento.

Tabla 23.

Costo total de producción de la mezcla grasa interesterificada enzimáticamente.

COSTO TOTAL DE PRODUCCIÓN	
Materia prima	\$ 576.389,9
Mano de obra	\$ 605.700,0
Gastos indirectos	
Análisis de Laboratorio	\$ 173.500,0
Servicios Industriales	\$ 32.483,8
Servicio Mantenimiento	\$ 600.000,0
Costo total de producción	\$ 1.988.073,7

Nota. La siguiente tabla muestra el costo total de producción del proyecto de interesterificación enzimática de una mezcla grasa.

6.3 Costo Comercial De La Mezcla Grasa Por Ruta Enzimática Y Química.

En el presente apartado, se presenta el costo del kilo de la mezcla grasa de aceites vegetales obtenida tanto por ruta enzimática (Tabla 22) como por ruta química (Tabla 23), teniendo en cuenta el costo de materia prima, mano de obra, servicios industriales y mantenimiento.

Tabla 24.

Costo del kilo de la mezcla grasa obtenida por interesterificación enzimática a escala industrial

Materia Prima	Costo (\$/kg)*Cantidad (kg)
Aceite 1	\$ 3.851,46
Aceite 2	\$ 1.142,29
Enzima Lipozyme TL IM	\$ 204,80
Mano de Obra	\$ 1,88
Vapor	\$ 0,73
Energía Eléctrica	\$ 6,03
Mantenimiento	\$ 1,39
TOTAL	\$ 5.208,58

Nota. Los precios de cada insumo fueron suministrados por la compañía SIGRA S.A para obtener el costo por kilo de la mezcla grasa.

Tabla 25.

Costo del kilo de la mezcla grasa obtenida por interesterificación química a escala industrial

Materia Prima	Costo (\$/kg)*Cantidad (kg)
Aceite 1	\$ 3.851,46
Aceite 2	\$ 1.142,29
Ácido Cítrico	\$ 1,54
Catalizador Químico	\$ 6,02
Tierra	\$ 0,67
Mano de Obra	\$ 4,46
Vapor	\$ 395,21
Energía Eléctrica	\$ 27,24
Mantenimiento	\$ 4,95
	\$ 5.433,84

Nota. Los precios de cada insumo fueron suministrados por la compañía SIGRA S.A para obtener el costo por kilo de la mezcla grasa.

Para obtener el costo comercial de la mezcla grasa, se utiliza la siguiente ecuación, teniendo en cuenta el costo por kilo de la mezcla grasa y aplicando un margen de utilidad del 25,00%, los resultados se presentan en la tabla 24.

$$\text{Precio (\$ COP/kg)} = \text{Costo Unitario (\$ COP/kg)} + \text{Costo Unitario} \left(\frac{\text{COP}}{\text{kg}} \right) \times \text{Utilidad (\%)} \quad (\text{Ec. 6})$$

Tabla 26.

Precio del kilo de la mezcla grasa por ruta enzimática y química

Tipo de reacción	Valor por kg
Enzimática	6510,73
Química	6792,30

Nota. En la presente tabla se presenta el precio comercial de la mezcla grasa obtenido por ruta enzimática y química.

6.4 Costos De Producción Del Proceso De Interesterificación Enzimática A Escala Industrial

En este apartado se presenta una estimación financiera del proceso de producción de interesterificación enzimática a escala industrial con una producción de 24,00 toneladas diarias, tomando como referencia el artículo de FEDEPALMA del año 2004 “*Interesterificación enzimática: Ventajas en el proceso y beneficios para los productos*”. En este artículo se realiza un estudio del proceso y costos de interesterificación enzimática pasando por cada una de las etapas de escalonamiento para la estandarización del proceso. En la primera etapa, se realizaron pruebas a escala laboratorio con reactor en vidrio para verificar el cambio de punto de fusión de las bases y comprobar cuáles son las mejores bases para pruebas [2]. La segunda etapa es un reactor de lecho fijo para una producción de 2 a 3 kilos de grasa interesterificada, la tercera etapa consta de un reactor piloto de lecho fijo para una producción de 25 kg de grasa interesterificada y la última etapa consta de un reactor plug and play para una producción a escala industrial de 24 toneladas por día de grasa interesterificada.

En este artículo se menciona que el costo del reactor industrial se encuentra en un valor de 54 mil dólares, el cual depende del país y del precio del acero inoxidable 316. Sin embargo se debe tener en cuenta que el costo de inversión no solo consta de un reactor enzimático, sino debe contar con instrumentos y accesorios, que para este caso se necesitan los siguientes, un controlador de flujo, una termocupla, dos transmisores de presión, una bomba, un filtro y una válvula. Los precios de estos instrumentos y accesorios (sin tener en cuenta tuberías y accesorios de las mismas), se muestran en la figura 77. donde se relaciona cada uno con los precios manejados en el artículo, para este caso teniendo lo mencionado anteriormente, se tiene un costo de inversión de 90 mil dólares para el año 2004, no obstante, este valor fue proyectado con el IPC de cada año hasta llegar al año 2021 como se muestra en la tabla 25,

teniendo en cuenta un valor del 10% adicional con el fin de estimar un costo de inversión ajustado para así obtener un costos de inversión de \$ 799.242.850,12

Figura 77.

Costos de inversión

	Cantidad	Precio/unit, US\$	Precio, US\$
Columnas	4	54.000	216.000
Controlador de flujo	1	9.000	9.000
PT-100	1	1.500	1.500
Transmisor presión	2	1.500	3.000
Bombas	1	5.500	5.500
Filtros	2	3.000	6.000
Tanques	2	20.000	40.000
Válvulas	1	14.000	14.000
Total			295.000

Nota. En la figura se presenta los costos de inversión para el proceso de interesterificación enzimática. Teniendo en cuenta equipos y accesorios. Tomado de L. a. Volpato, “Interesterificación enzimática: Ventajas en el proceso y beneficios para los Productos,” *Palmas*, vol. Vol. 25 N°, pp. 366, 2004.

Tabla 27.

Proyección de los costos de inversión para el año 2021

IPC	AÑO	COSTO DE INVESIÓN (\$USD)
-	2004	\$ 90.000
4,85 %	2005	\$ 94.365
4,48 %	2006	\$ 98.593
5,69 %	2007	\$ 104.202
7,67 %	2008	\$ 112.195
2,00 %	2009	\$ 114.439
3,17 %	2010	\$ 118.066
7,73 %	2011	\$ 127.193
2,44 %	2012	\$ 130.296
1,94 %	2013	\$ 132.824
3,66 %	2014	\$ 137.686
6,77 %	2015	\$ 147.007
5,75 %	2016	\$ 155.460
4,09 %	2017	\$ 161.818
3,18 %	2018	\$ 166.964
3,80 %	2019	\$ 173.309
1,61 %	2020	\$ 176.099
4,50%	2021	\$ 184.023
	PRECIO EN COP (\$)	\$ 726.584.409
	AJUSTE COP (\$)	\$ 799.242.850

Nota. En la presente tabla se presenta la proyección del costo de inversión desde el año 2004 hasta el año 2021, teniendo en cuenta el IPC (Determinado por la DANE) de los años en cuestión.

En la tabla 26 se presentan los datos que relacionan los ingresos (Producción*Precio al año), costos de operación (Tabla 27) y ganancias. Se determinaron los indicadores de bondad, con el fin de establecer la rentabilidad del proyecto, los cuales se presentan en la tabla 28. En paralelo, la tasa de oportunidad y valor presente neto se detallan en la tabla 29.

Tabla 28.

Resumen de ingresos, costos operacionales y ganancias

AÑO	INGRESOS	COSTOS OPERACIONALES	GANANCIAS
Año 1	\$ 25.001.201.671	\$ 2.554.083.067	\$ 15.715.983.023
Año 2	\$ 26.126.255.746	\$ 2.669.016.805	\$ 16.423.067.259
Año 3	\$ 27.301.937.255	\$ 2.789.122.561	\$ 17.161.970.285
Año 4	\$ 28.530.524.431	\$ 2.914.633.077	\$ 17.934.123.948
Año 5	\$ 29.814.398.031	\$ 3.045.791.565	\$ 18.741.024.526

Nota. Se muestra la proyección a 5 años del proyecto de interesterificación enzimática a escala industrial.

Tabla 29.

Resumen de egresos anuales en la producción de interesterificación enzimática a escala industrial

INSUMOS	VALOR	TOTAL ANUAL
Enzima Lipozyme TL IM	\$ 512.000,00	\$ 2.457.600.000,00
Aceite 1	\$ 4.814,33	\$ 3.840.000,00
Aceite 2	\$ 5.711,47	\$ 960.000,00
Operario	\$ 1.300.000,00	\$ 15.600.000,00
Vapor	\$ 175.630,22	\$ 35.126.044,80
Energia Electrica	\$ 144.785,11	\$ 28.957.022,40
Mantenimiento	\$ 1.000.000,00	\$ 12.000.000,00
	\$	\$ 2.554.083.067,20

Nota. Se presentan los egresos anuales del proyecto de interesterificación enzimática a escala industrial

Tabla 30.

Indicadores de bondad del proyecto de interesterificación enzimática a escala industrial

INDICADORES DE BONDAD	
Valor Presente Neto (VPN)	\$ 49.244.862.219,10
Tasa Interna de Retorno (TIR)	19,71 %
Valor presente ingresos (VNA)	\$ 79.611.929.852,00
Valor presente egresos (VNA)	\$ 8.932.271.200,39
Relación Beneficio / Costo RBC	8,91

Nota. En la presente tabla se muestran los indicadores de bondad del proyecto

Tabla 31.

Tasa de interés de oportunidad y valor actual

PARAMETRO	
Tasa de Interés de Oportunidad (TIO)	20,50%
Valor Actual (VNA)	\$ 50.044.105.069,23

Nota. En la presente el valor de la tasa de interés de oportunidad y el valor actual

6.5 Análisis De Resultados General de Costos

En este capítulo se realizó un análisis de los costos de inversión, se determinó el valor comercial de la grasa y se planteó un panorama preliminar del escalamiento industrial del proceso de interesterificación enzimática. En primer lugar se calculó el costo total de producción a escala piloto de la grasa interesterificada enzimáticamente, para lo cual se tuvo en cuenta el costo de la materia prima, los servicios de vapor y mantenimiento, la mano de obra y los ensayos de laboratorio realizados para el seguimiento y caracterización de la mezcla grasa, todo esto con un costo total de \$ 1'988.073,7.

Paralelamente, como se puede observar en la tabla 24, el precio del kilo de la mezcla grasa obtenido por interesterificación enzimática representa una reducción del 4,15% con respecto al precio del kilo de la mezcla grasa obtenido por ruta química, esto se debe principalmente a que este último posee un mayor costo en los servicios industriales, específicamente en el costo de vapor, ya que la interesterificación química utiliza altas temperaturas y condiciones de vacío. Seguidamente, se observa que en la materia prima exceptuando los costos de los aceites, el costo de la enzima Lipozyme TL IM es el más representativo, debido a que es el insumo con mayor valor en el mercado y de este depende en gran parte los costos operativos. Por otro lado, la interesterificación enzimática, trabaja a bajas temperaturas y a condiciones atmosféricas, teniendo entonces, un menor consumo de servicios industriales por lo tanto un menor costo de operación, en el mismo orden de ideas, este proceso al ser más simple permite obtener una mayor producción que con la interesterificación química ya que esta última posee una serie de etapas las cuales alargan el proceso de producción, por tal razón el costo de inversión, se recupera en el primer año.

Por último, se realizó un análisis financiero del escalamiento industrial del proceso de interesterificación enzimática, para determinar los costos de inversión, se planteó un reactor plug and play con una capacidad de planta de 24 toneladas/día [2], con un lecho de 300 kg de

enzima Lipozyme TL IM, la cual tendrá una vida útil de un mes, además de unos accesorios como sensores de temperatura, válvulas, filtros, controlador de flujo, transmisor de presión y bombas para un total de \$ 799.242.850,12. Paralelamente se determinaron los ingresos teniendo en cuenta el valor comercial de la grasa y los costos operacionales del proceso donde se tuvo en cuenta las materias primas, mantenimiento, mano de obra, servicios de vapor y energía eléctrica. Lo anterior se proyectó por un tiempo de 5 años, de acuerdo al IPC actual. Teniendo en cuenta los resultados de los indicadores de bondad se puede afirmar que el proyecto tiene una rentabilidad del 19,71%, por lo cual recupera la inversión inicial y además el proyecto presenta un flujo de ingresos mayor al flujo de costo y gastos, lo cual se ve reflejado en la relación costo/beneficio.

7. CONCLUSIONES

Se identificaron las variables del proceso de interesterificación enzimática mediante la revisión bibliográfica usando bases de datos como Science Direct, Springer link y artículos relevantes encontrados para el estudio durante el desarrollo de la investigación. Dentro de las variables del proceso definidas, se encuentra: la temperatura, el tiempo de reacción. % p/p de enzima/sustrato y velocidad de agitación

Se determinaron las condiciones de operación para la obtención de una mezcla base para la elaboración de margarinas por medio de interesterificación enzimática de acuerdo al resultado del diseño de experimentos factorial, se obtuvieron los mejores resultados en el rango de 60,00-65,00°C, con 5,00-8,50% p/p de enzima/sustrato, 4 h de reacción y 600 RPM

Se caracterizó la mezcla de aceites antes y después de la reacción, inicialmente el perfil de sólidos de la mezcla obtenida por interesterificación enzimática, arroja que esta no presenta buenas propiedades de esparcibilidad, posee resistencia a la exudación de aceite a temperatura ambiente y no funde por completo a temperatura corporal. Paralelamente el perfil de ácidos grasos indica que la mezcla grasa se puede catalogar como una grasa cero trans debido a que el porcentaje de estos ácidos se encuentra por debajo del 0.50 %. Además, se puede afirmar que el índice de acidez de la grasa aumenta con el proceso de interesterificación enzimática, en las mezclas obtenidas este parámetro fue superior al 2,00%, por ende, es necesario someter la mezcla grasa a un proceso de desodorización para hacerla apta para consumo humano.

Se evaluaron los costos de producción de la mezcla de aceites interesterificada enzimáticamente, en primera instancia, a escala piloto donde se obtuvo un costo total de producción de \$1'988.073,7 donde se incluyen los costos directos de la materia prima y los costos indirectos que involucran mano de obra, servicios industriales y mantenimiento. De la misma manera, se evaluó el proyecto de interesterificación enzimática a escala industrial y se determinó que es viable económicamente ya que posee una rentabilidad del 19,71%, obteniendo una relación costo-beneficio de 8,91, lo cual la hace competitiva frente a la interesterificación química.

BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Hendrix Gerente De Producto, D. Ballestra, M. Hendrix, V. Gibon, and G. Calliau, “Modificación de las grasas para agregar valor a los aceites de palma y de palmiste,” *Rev. Palmas*, vol. 37, pp. 173–183, 2016.
[En línea]. Disponible:
http://web.fedepalma.org/sites/default/files/files/Fedepalma/Memorias de la XVIII Conferencia Internacional sobre Palma de aceite/M_2_18_Modificacion de las grasas.pdf.
- [2] P. Serge, “Tecnologías de Interesterificación.”, Course and P. Kernel, Desmet Ballestra Group, 2018.
- [3] L. a. Volpato, “Interesterificación enzimática: Ventajas en el proceso y beneficios para los Productos,” *Palmas*, vol. Vol. 25 N°, pp. 359–364, 2004.
- [4] “Crece competencia en margarinas.”, *revista semana*, Colombia, Bogotá, 2020. [En línea]. Disponible:
<https://www.semana.com/economia/articulo/sigra-crece-en-el-mercado-de-lasmargarinas/284261/>
- [5] M. V. Tavella, J. M. Tavella, J. Gamboa-Santos, M. J. Lamelo, and M. Mastroianni, “Hacia una Argentina libre de grasas trans,” *Rev. Chil. Nutr.*, vol. 43, no. 4, pp. 408–415, 2016. [En línea]. Disponible:
doi: 10.4067/S0717-75182016000400011.
- [6] “Nosotros | Sigra.” [En línea]. Disponible:
<https://sigra.com/nosotros/> (accessed Dec. 05, 2021).
- [7] P. Blanco, “Diseño de una planta piloto de refinación de aceites vegetales,” tesis de pre, Universidad de Cádiz, España, Cádiz, 2017. [En línea]. Disponible:
<https://rodin.uca.es/xmlui/handle/10498/6391>
- [8] A.F. Betancourt Triana, “Evaluación de la reactivación de tierras de blanqueo como mejora en el proceso de blanqueo de aceite crudo de palma (ACP) en la compañía SIGRA S.A.” Maestría en ingeniería de procesos y sistemas industriales, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Colombia, Bogotá, 2020. [En línea]. Disponible:
<https://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/7393>
- [9] L. C. Cortés Gómez and S. Torres Cruz, Liliana, “Evaluación de alternativas para el aprovechamiento del residuo de la filtración de un aceite comestible,” Tesis de grado,

- Universidad de la Salle, Colombia, Bogotá, 2016, [En línea]. Disponible: https://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/file.php/424/Gilma_Medina/Grasasyaceites/Documento_Grasas_y_aceites.pdf%0Ahttps://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1057&context=ing_ambiental_sanitaria.
- [10] A. E. Cadena G., "Fraccionamiento en seco de los aceites de palma y de palmiste y usos de las fracciones", *RevPalm*, vol. 25, n.º especial, pp. 482-491, ene. 2004. [En línea]. Disponible: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/1116>
- [11] C.X. Orozco Corredor "Producción de ácidos grasos saturados a partir de la hidrogenación catalítica de ácido oleico", tesis de grado, Universidad de los Andes, Colombia, Bogotá, 2006. [En línea]. Disponible: <https://repositorio.uniandes.edu.co/bitstream/handle/1992/22618/u270856.pdf?sequence=1>
- [12] "Aceite de palma colombiano, versátil, nutritivo y saludable en los hogares | Fedepalma." [En línea]. Disponible: <https://web.fedepalma.org/Aceite-de-palma-colombiano-versatil-nutritivo-y-saludable-en-los-hogares>
- [13] "BIOCOSTA, "Estarina de Palma RBD," no. 22, 2020.
- [14] T.P. Pantzaris y Mohd Jaaffar Ahmad, "Propiedades y usos del aceite de palmiste", *RevPalm*, vol. 23, n.º 3, pp. 46-58, ene. 2002 [En línea] Disponible: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/925>
- [15] M. . Giacomini, "El aceite canola y sus efectos en la salud Canola oil and health effects," *An. Venez. Nutr.*, vol. 25, no. 5, pp. 94–99, 2012. [En línea] Disponible: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522012000200006
- [16] M Farfán Martínez, "Obtención de una base grasa para margarina mediante interesterificación química y enzimática de una mezcla aceite de nuez-aceite de soya full hidrogenado", tesis pre grado, Universidad de Chile, Chile, Santiago de Chile [En línea] Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/105615>
- [17] "Oleofinos." [En línea] Disponible en: <https://oleofinos.com.mx/tecnologia-interesterificacion-enzimatica.php> (accessed Nov. 01, 2021).
- [18] M.C. Gutierrez Guerrero, "Estructuración de aceite vegetal mediante interesterificación y organolección", doctorado, Universidad autónoma de Aguascalientes, Mexico,

- Aguascalientes,2019. [En línea] Disponible en:
<http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/handle/11317/1799>
- [19] C. Pacheco " Cinética de la Interesterificación Enzimática de Aceites Vegetales “Tesis de doctor en ingeniería química, Universidad nacional del sur, Argentina, Bahía Blanca, 2012. [En línea] Disponible en:
<https://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/470>
- [20] F. No and T. M. Parzanese, “Procesos alternativos para la reducción de Grasas Trans,” pp. 1–16, 2006. [En línea] Disponible en:
http://www.alimentosargentinos.gob.ar/contenido/sectores/tecnologia/Ficha_05_GTrans.pdf
- [21] J.A. Salcedo Cruz "Diseño de una manteca vegetal para uso industrial a partir de grasa interesterificada enzimáticamente " Tesis de Grado, Escuela superior politécnica del litoral, Ecuador, Gayaquil, 2014. [En línea] Disponible en:
<https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/89591/D-79967.pdf>
- [22] G. García, L Bautista, A Alcázar “Obtención De Diglicéridos a Partir De Ácidos Grasos Mediante Catálisis Enzimática,” Tesis de grado en ingeniería química, Universidad Rey Juan Carlos, España, 2009 [En línea] Disponible en:
https://burjcdigital.urjc.es/bitstream/handle/10115/7840/09-10_Garc%c3%ada%2cUtrera_Guillermo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- [23] Novozymes, “Immobilized lipases for biocatalysis,” Novozymes, pp. 1–6, 2016, [En línea] Disponible en:
https://www.novozymes.com/media/Project/Novozymes/Website/website/documentlibrary/Advance-yourbusiness/Pharma/Biocatalysis_brochure_Immobilised_Lipases.pdf
- [24] I. Bolívar Cachago Cahvez, “Estudio de hidrólisis en aceite de coco virgen (Cocos nucífera) mediante el uso de lipasas inmovilizadas aplicando el diseño de superficie de respuesta,” Universidad central del Ecuador, Ecuador, Quito, 2015. [En línea] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6416>
- [25] E. García Martínez, I. Fernández Segovia, and A. Fuentes López, “Determinación del enranciamiento hidrolítico de un aceite de oliva mediante el grado de acidez.,” Univ. Politécnica Val. España, Valencia, 2014, [En línea] Disponible en:
https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38367/Eva_García_Calidad_aceite_2014.pdf?sequence=1.

- [26] “Microlab Industrial "Perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases.” [En línea] Disponible en: <https://www.microlabindustrial.com/blog/perfil-de-acidos-grasos-por-cromatografiade-gases>
- [27] “Propiedades físicas de los aceites y grasas - BTSA.” [En línea] Disponible en: <https://www.btsa.com/propiedades-fisicas-de-los-aceites-y-grasas/>
- [28] “Biología 1 bgu by margarita sandoval - Issuu,2010” [En línea] Disponible en: https://issuu.com/margaritasandoval43/docs/biologia_1_bgu/69
- [29] J. Merino, M. J. Noriega, “Fisiología General Enzimas,” Fisiol. Gen. Enzimas, p. 5, 2006, [En línea] Disponible en: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25202B-Bloque%2520I-Enzimas.pdf>.
- [30] A. Loreido, "Fundamentos químicos de la vida, catalisis enzimática", Universidad nacional de la plata, Argentina, 2016 [En línea] Disponible en: ISBN 978-950-34-1382-1
- [31] “Repaso de enzimas|Khan Academy.” [En línea] Disponible en: <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/cellular-energetics/environmental-impacts-on-enzyme-function/a/hs-enzymes-review>.
- [32] "Factores que afectan la velocidad de una reacción química”, “Universidad católica andrés bello-guayana Escuela de Ingeniería Industrial Manual de Prácticas Laboratorio Química.”
- [33] "Técnicas y operaciones avanzadas en el laboratorio químico (TALQ) ", Universidad de Barcelona, España. [En línea] Disponible en: “<http://www.ub.edu/talq/es/node/227> (accessed Dec. 08, 2021).
- [34] C. F. T. Olivares and G. J. R. Rada, "Procedimientos de obtención de lípidos portadores como sistemas de liberación de ingredientes alimentarios bioactivos Memoria”, Departamento de Química-Física Aplicada, Universidad Autónoma de Madrid Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación, España, Madrid pp. 1–147. [En línea] Disponible en: <https://library.co/document/yrkpxdoz-procedimientos-obtencion-lipidos-portadoresliberacion-ingredientes-alimentarios-bioactivos.html>
- [35] T. Lanuginosus, “Interesterificación enzimática para la producción de grasas especiales usando lipasa de thermomyces lanuginosus Enzymatic Interesterification for the Production of Special Fats Using Lipase from Introducción Materiales y métodos

- [36] Ministerio de salud y protección social, “Resolución 2508. Requisitos para los Alimentos con grasas trans y grasas saturadas.” p. 5, 2012.
- [37] G. Lafuente Aranda, “Glicerol: Síntesis Y Aplicaciones,” Máster universitario en ciencia y tecnología química, Universidad nacional de educación a distancia, España, Madrid, 2017. [En línea]. Disponible: http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQGLafuente/Lafuente_Aranda_Gustavo_TFM.pdf
- [38] A. Carbajal Azcona, "Manual de nutrición y dietética", Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España, Madrid, 2013. [En línea]. Disponible: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/22755/1/Manual-nutricion-dietetica-CARBAJAL.pdf>
- [39] M. G. Enig, "Aceites y grasas: funciones y propiedades de las grasas y aceites hidrogenados y su relación con los no hidrogenados", Revista Palma, vol. 12, n.º 4, pp. 61-67, ene. 1991.
- [40] “Capítulo 2 - Composición de las grasas alimentarias.” FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [En línea]. Disponible: <http://www.fao.org/3/v4700s/v4700s06.htm>
- [41] T. McKee and J. R. McKee, “Lípidos Y Membranas,” Bioquímica Las Bases Mol. La Vida, pp. 372–387, 2007, [En línea]. Disponible <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1960§ionid=148095989>
- [42] E.J.Dufoure, "Sterols and membrane dynamics”, Chemistry and Biology of membranes, 15 p.p. 2008. [En línea]. Disponible: DOI 10.1007/s12154-008-0010-6
- [43] “El proceso de refinación del aceite de palma” | La Palma es Vida., Fedepalma [En línea]. Disponible: <https://lapalmaesvida.com/naturalidad/el-proceso-de-refinacion-del-aceite-de-palma/>
- [44] M. Ballesteros-Vásquez, L. Valenzuela-Calvillo, E. Artalejo-Ochoa, and A. Robles-Sardin, “Ácidos Grasos Trans: Un Análisis Del Efecto De Su Consumo En La Saludhumana, Regulación Del Contenido En Alimentos Y Alternativas Para Disminuirlos,” *Nutr. Hosp.*, vol. 27, no. 1, pp. 54–64, 2012, [En línea] Disponible: doi: 10.3305/nh.2012.27.1.5420.

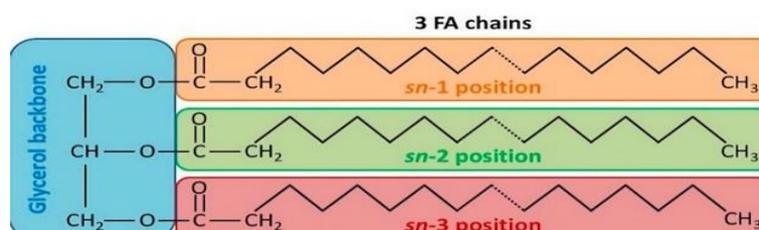
GLOSARIO

Glicerol: se trata de un compuesto líquido a temperatura ambiente, viscoso, incoloro, inodoro y ligeramente dulce. La presencia de los tres grupos hidroxilo le hace ser higroscópico, fácilmente soluble en agua y alcoholes, ligeramente soluble en disolventes orgánicos como éteres y dioxanos, e insoluble en hidrocarburo [37]. Se obtiene principalmente de la saponificación de las grasas o procesos de obtención de biodiesel.

Triglicérido: un triglicérido es una molécula que combina tres ácidos grasos con una molécula de glicerol (Figura 78) y según el tipo de ácidos grasos que este contenga, se divide en saturados e insaturados. Los aceites vegetales y las grasas (animales y vegetales) son mezclas de triglicéridos. Los triglicéridos poseen propiedades nutricionales únicas y constituyen los nutrientes energéticos por excelencia (la oxidación completa de los ácidos grasos provee 9 kcal/g, cifra que es mayor al doble del valor calórico de carbohidratos y proteínas (4 kcal/g) [38].

Figura 78.

Estructura de un Triglicérido



Nota. La figura muestra las posiciones de los ácidos grasos del triglicérido unido a una molécula de glicerol. Tomado de Effects of Plant Oil Interesterified Triacylglycerols on Lipemia and Human Health

Aceites y grasas: las grasas y aceites vegetales están constituidos principalmente por mezclas de triglicéridos y hacen parte del grupo de los lípidos, que son biocompuestos que se caracterizan por ser insolubles en agua. La diferencia principal entre un aceite y una grasa es por su estado físico, característica que depende de su composición. Los aceites son sustancias líquidas a temperatura ambiente (20°C) debido a que presentan una mayor proporción de ácidos grasos insaturados mientras que las grasas son sólidas o semisólidas a temperatura ambiente (20°C) ya que tienden a ser saturadas [39].

Ácido graso: los ácidos grasos son ácidos orgánicos que se encuentran presentes en las grasas, en ocasiones libres debido a la alteración lipolítica y casi siempre esterificando al glicerol y eventualmente a otros alcoholes. Son generalmente de cadena lineal y tienen un número par de átomos de carbono. Estos son constituyentes fundamentales de la gran mayoría de los lípidos, hasta el punto de que su presencia es casi definitoria de esta clase de sustancias.

<<Los ácidos grasos se clasifican según su grado de saturación, en primer lugar están los ácidos grasos saturados, los cuales no presentan dobles enlaces en su cadena hidrocarbonada, por otro lado se encuentran los ácidos grasos insaturados los cuales presentan dobles enlaces en la cadena carbonada. En la naturaleza, los ácidos grasos insaturados presentes en los aceites y grasas vegetales se encuentran en configuración cis. Ésta se encuentra definida por la ubicación de los átomos de hidrógeno de los carbonos involucrados en los dobles enlaces, encontrándose ambos del mismo lado de la cadena carbonada. Esta configuración le confiere a la estructura de la molécula una cierta torsión, dificultando así que puedan ajustarse a una red cristalina, caracterizándose las mismas por poseer bajos puntos de fusión>> [40].

Fosfolípidos: “son moléculas formadas por un alcohol unido a dos ácidos grasos y un grupo fosfato, se caracterizan por ser anfipáticas debido a que poseen un dominio hidrofílico y otro hidrófobo, son agentes emulsionantes y agentes superficiales activos” [41].

Esteroles: los esteroides son una clase de esteroides, lípidos no saponificables que se caracterizan por tener como grupo funcional un alcohol OH, posee cuatro anillos, tres de los cuales son hexagonales y uno pentagonal, que en conjunto reciben el nombre específico de ciclopentanoperhidrofenantreno. Los esteroides ayudan a la síntesis de hormonas esteroideas y vitaminas las cuales son solubles en grasas [42].

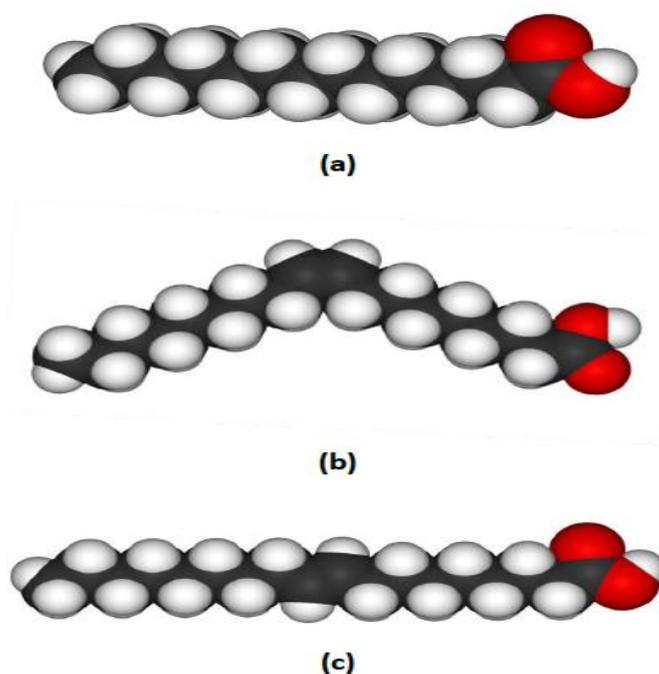
Aceite RBD: un aceite RBD, como lo indica sus siglas es un aceite crudo vegetal el cual ha sido sometido a un proceso de Refinado, Blanqueado y Desodorizado, con el fin de eliminar el contenido de ácidos grasos, humedad e impurezas y a su vez modificar el color del aceite, manteniendo la mayoría de las propiedades nutricionales y funcionales según el tipo de aceite vegetal [43].

Monoglicéridos y Diglicéridos: los monoglicéridos, diglicéridos, y triglicéridos se clasifican como ésteres —compuestos creados por la reacción entre un ácido orgánico y un alcohol que liberan agua (H₂O) como un subproducto. Los ácidos grasos están unidos al glicerol por el enlace éster [44].

Grasas Trans: las grasas trans son ácidos grasos insaturados que contienen uno o más enlaces dobles en una configuración trans, por lo general se producen por la hidrogenación parcial de aceites vegetales para la formación de grasas semisólidas que se emplean en la elaboración de margarinas. Aunque las grasas trans poseen características como mayor estabilidad oxidativa, mayor solidez y maleabilidad, estas poseen diversos efectos adversos a la salud humana sobre todo en la aparición de enfermedades cardiovasculares [7]. La figura 79 presenta las estructuras tridimensionales de los ácidos grasos, según su clasificación saturadas, insaturadas cis e insaturada trans.

Figura 79.

Estructuras tridimensionales de los ácidos grasos

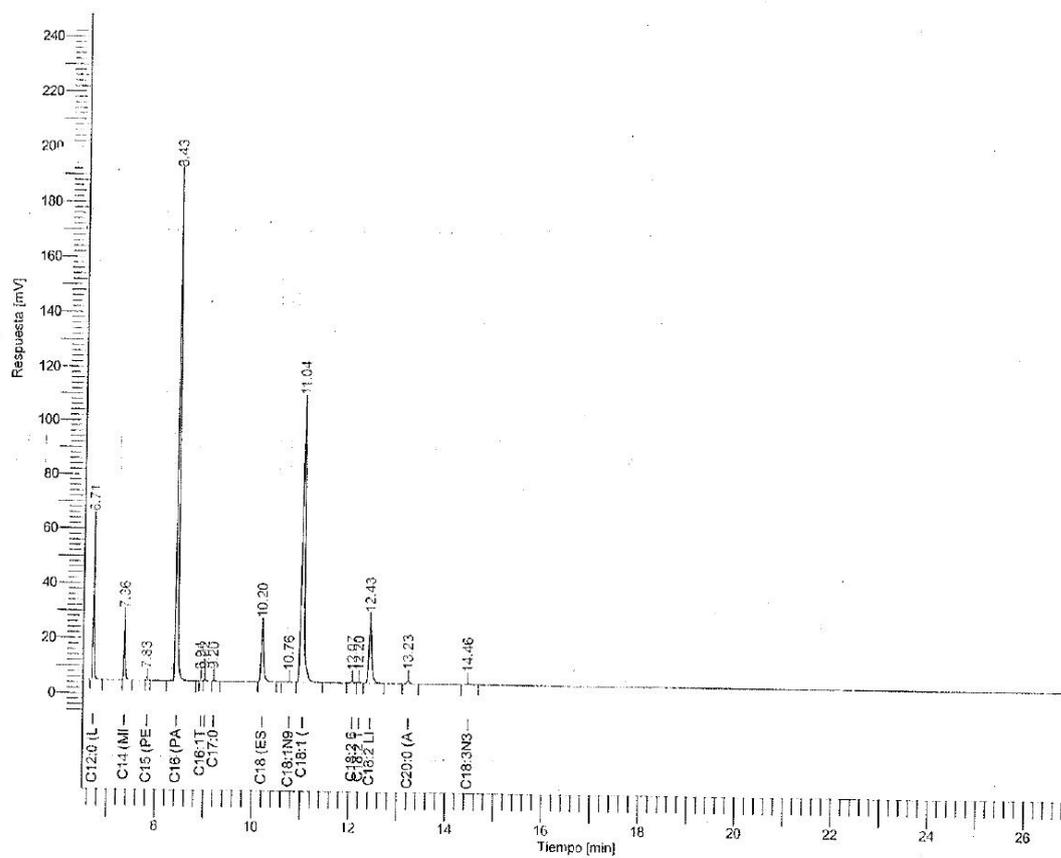


Nota. En la fig. 2 (a) se tiene el ácido graso saturado, en la fig. (b) se presenta el ácido graso insaturado en la posición cis y en la fig. (c) se presenta el ácido graso insaturado en la posición trans. Tomado de: C. Pacheco, Cinética de la Interesterificación Enzimática de Aceites Vegetales, Tesis De Doctor En Ingeniería Química. Universidad Nacional Del Sur, p.p. 4. 2012.

ANEXOS

ANEXO 1.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA MEZCLA GRASA SIN REACCIONAR



PERFIL DE ACIDOS GRASOS

C.I. SIGRA S.A.
Gestión de Calidad

Pico #	Tiempo [min]	Area [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Component Name	Norm. Area [%]
1	6.08	5403.52	C8 (CAPRILICO)	0.45
2	6.32	6238.63	C10 (CAPRICO)	0.52
3	6.71	93564.63	C12:0 (LAURICO)	7.75
4	7.36	42775.79	C14 (MIRISTICO)	3.54
5	7.83	675.86	C15 (PENTADECANOATO)	0.06
6	8.43	471115.65	C16 (PALMITICO)	39.02
8	9.02	1332.34	C16:1	0.11
9	9.20	1275.48	C17:0	0.11
10	10.20	70220.89	C18 (ESTEARICO)	5.82
12	11.04	407635.76	C18:1 (OLEICO)	33.76
	12.07	5770.45	TRANS DEFINIDOS	0.48
15	12.43	93497.53	C18:2 LINOLEICO	7.74
16	13.23	4748.65	C20:0 (ARAQUIDICO)	0.39
17	14.46	3156.03	C18:3N3 (LINOLENICO)	0.26
		1207411.20		100.00

Group Report For : TRANS DEFINIDOS

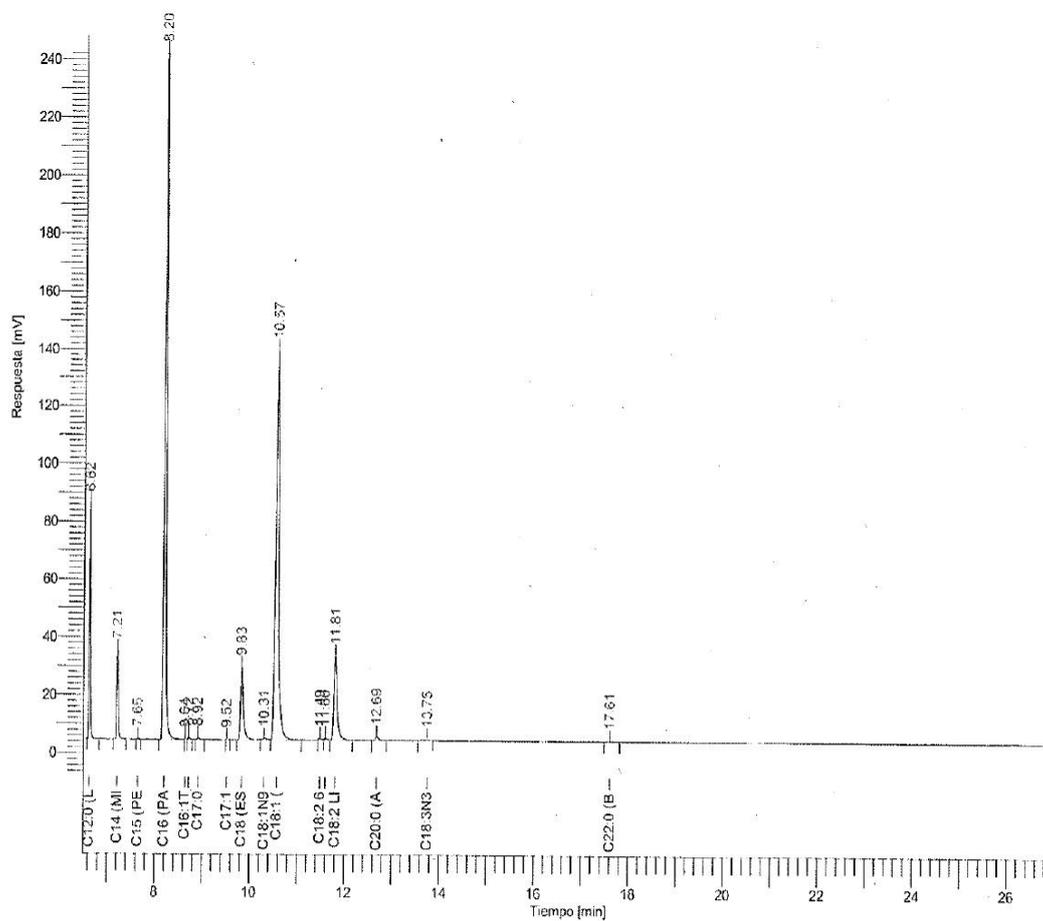
Pico #	Tiempo [min]	Area [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Component Name	Norm. Area [%]
7	8.94	282.10	C16:1T	4.89
11	10.76	1424.15	C18:1N9T (ELAIDICO)	24.68
13	12.07	2108.29	C18:2 6T (LINOELAIDICO)	36.54
14	12.20	1955.91	C18:2 11T (LINOELAIDICO)	33.90
		5770.45		100.00

ELABORADO POR: _____

FIRMA: _____

ANEXO 2.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LA RÉPLICA DEL EXP 4



PERFIL DE ACIDOS GRASOS

C.I. SIGRA S.A.
Gestión de Calidad

PERFIL DE ACIDOS GRASOS

Pico #	Tiempo [min]	Area [μ V·s]	Component Name	Norm. Area [%]
1	6.05	7747.68	C8 (CAPRILICO)	0.43
2	6.27	9536.42	C10 (CAPRICO)	0.53
3	6.62	143002.63	C12:0 (LAURICO)	7.97
4	7.21	64329.99	C14 (MIRISTICO)	3.58
5	7.65	952.75	C15 (PENTADECANOATO)	0.05
6	8.20	695571.59	C16 (PALMITICO)	38.74
8	8.72	1512.29	C16:1	0.08
9	8.92	1870.88	C17:0	0.10
10	9.52	241.63	C17:1	0.01
11	9.83	104400.72	C18 (ESTEARICO)	5.82
13	10.57	611733.57	C18:1 (OLEICO)	34.07
	11.49	6636.58	TRANS DEFINIDOS	0.37
16	11.81	135570.12	C18:2 LINOLEICO	7.55
17	12.69	6862.07	C20:0 (ARAQUIDICO)	0.38
18	13.75	3554.25	C18:3N3 (LINOLENICO)	0.20
19	17.61	1787.47	C22:0 (BEHENICO)	0.10
1795310.65				100.00

Group Report For : TRANS DEFINIDOS

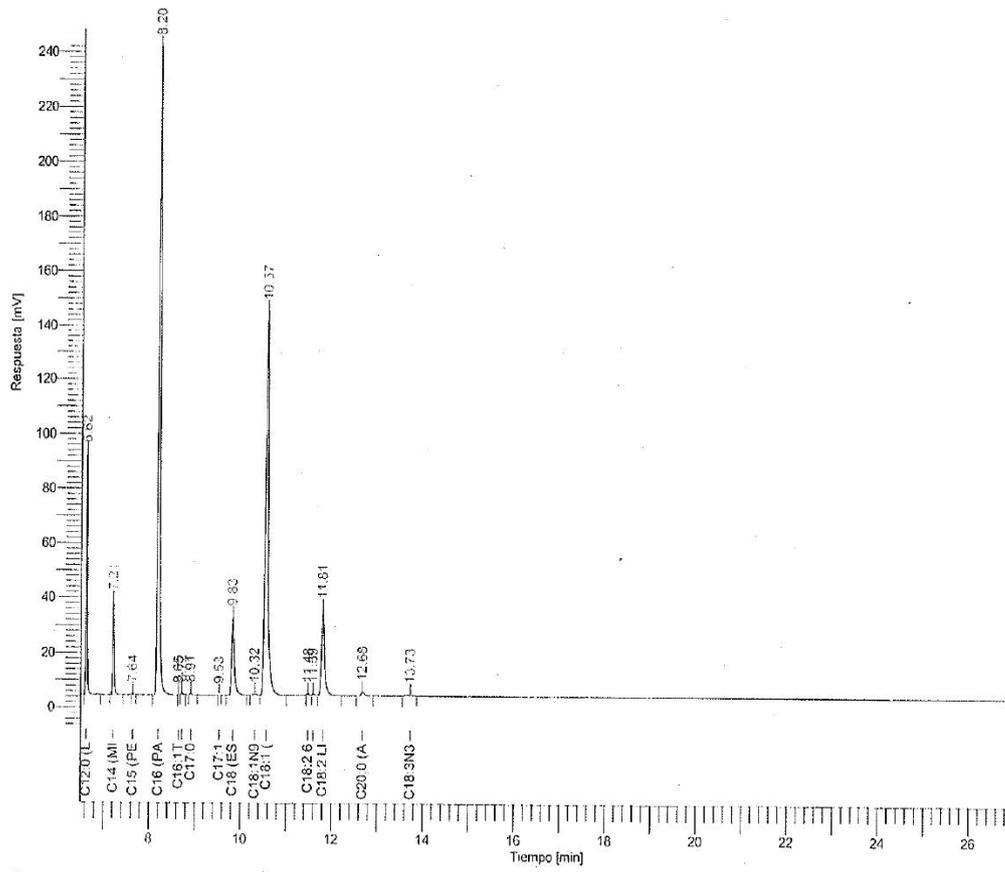
Pico #	Tiempo [min]	Area [μ V·s]	Component Name	Norm. Area [%]
7	8.64	135.46	C16:1T	2.04
12	10.31	3339.60	C18:1N9T (ELAIDICO)	50.32
14	11.49	1630.12	C18:2 6T (LINOELAIDICO)	24.56
15	11.60	1531.41	C18:2 11T (LINOELAIDICO)	23.08
6636.58				100.00

ELABORADO POR: _____

FIRMA: _____

ANEXO 3.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL EXP 7



PERFIL DE ACIDOS GRASOS

C.I. SIGRA S.A.
Gestión de Calidad

PERFIL DE ACIDOS GRASOS

Pico #	Tiempo [min]	Area [μ V-s]	Component Name	Norm. Area [%]	
1	6.05	8234.14	C8 (CAPRILICO)	0.43	
2	6.27	10256.18	C10 (CAPRICO)	0.53	
3	6.62	155290.46	C12:0 (LAURICO)	8.05	
4	7.21	71050.38	C14 (MIRISTICO)	3.68	
5	7.64	746.48	C15 (PENTADECANOATO)	0.04	
6	8.20	773830.00	C16 (PALMITICO)	40.11	
8	8.72	1666.48	C16:1	0.09	
9	8.91	1884.29	C17:0	0.10	
11	9.83	116601.43	C18 (ESTEARICO)	6.04	
	10.32	5937.16	TRANS DEFINIDOS	0.31	
13	10.57	626763.98	C18:1 (OLEICO)	32.49	
16	11.81	144734.14	C18:2 LINOLEICO	7.50	
17	12.68	8003.60	C20:0 (ARAQUIDICO)	0.41	
18	13.73	4212.68	C18:3N3 (LINOLENICO)	0.22	
				1929211.41	100.00

Group Report For : TRANS DEFINIDOS

Pico #	Tiempo [min]	Area [μ V-s]	Component Name	Norm. Area [%]	
7	8.65	163.79	C16:1T	2.76	
12	10.32	3254.08	C18:1N9T (ELAIDICO)	54.81	
14	11.48	1244.45	C18:2 6T (LINOELAIDICO)	20.96	
15	11.59	1274.85	C18:2 11T (LINOELAIDICO)	21.47	
				5937.16	100.00

ELABORADO POR: _____

FIRMA: _____

ANEXO 4.

FICHA TÉCNICA ENZIMA LIPOZYME TL IM



Page 1/7

Safety Data Sheet according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

1 Identification

- **Product name**
- **Trade name:** Lipozyme® TL IM
- **Item number:** 06-3155
- **Details of the supplier of the safety data sheet**
- **Manufacturer/Supplier:**
Strem Chemicals, Inc.
7 Mulliken Way
NEWBURYPORT, MA 01950
USA
info@strem.com
- **Information department:** Technical Department
- **Emergency telephone number:**
EMERGENCY: CHEMTREC: + 1 (800) 424-9300
During normal opening times: +1 (978) 499-1600

2 Hazard(s) identification

- **Classification of the substance or mixture**
The product is not classified according to the Globally Harmonized System (GHS).
- **Label elements**
- **GHS label elements not applicable**
- **Hazard pictograms not applicable**
- **Signal word not applicable**
- **Hazard statements not applicable**
- **Precautionary statements**
P235 Keep cool.
P262 Do not get in eyes, on skin, or on clothing.
P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P305+P351+P338 If in eyes: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P403+P233 Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.
P501 Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.
- **Classification system:**
- **NFPA ratings (scale 0 - 4)**
 Health = 0
Fire = 0
Reactivity = 0
- **HMIS-ratings (scale 0 - 4)**
 HEALTH 0 Health = 0
FIRE 0 Fire = 0
REACTIVITY 0 Reactivity = 0
- **Other hazards**
- **Results of PBT and vPvB assessment**
- **PBT:** Not applicable.
- **vPvB:** Not applicable.

(Contd. on page 2)

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: **Lipozyme® TL IM**

(Contd. of page 1)

3 Composition/information on ingredients

- **Chemical characterization: Mixtures**
- **Description:** Mixture of the substances listed below with nonhazardous additions.
- **Dangerous components:** not applicable

4 First-aid measures

- **Description of first aid measures**
- **General information:** No special measures required.
- **After inhalation:** Supply fresh air; consult doctor in case of complaints.
- **After skin contact:** Generally the product does not irritate the skin.
- **After eye contact:** Rinse opened eye for several minutes under running water. Then consult a doctor.
- **After swallowing:** If symptoms persist consult doctor.
- **Information for doctor:**
- **Most important symptoms and effects, both acute and delayed** No further relevant information available.
- **Indication of any immediate medical attention and special treatment needed**
No further relevant information available.

5 Fire-fighting measures

- **Extinguishing media**
- **Suitable extinguishing agents:** Use fire fighting measures that suit the environment.
- **Special hazards arising from the substance or mixture** No further relevant information available.
- **Advice for firefighters**
- **Protective equipment:** No special measures required.

6 Accidental release measures

- **Personal precautions, protective equipment and emergency procedures** Not required.
- **Environmental precautions:** Do not allow to enter sewers/ surface or ground water.
- **Methods and material for containment and cleaning up:**
Dispose contaminated material as waste according to item 13.
- **Reference to other sections**
See Section 7 for information on safe handling.
See Section 8 for information on personal protection equipment.
See Section 13 for disposal information.
- **Protective Action Criteria for Chemicals**

· PAC-1: None of the ingredients is listed.
· PAC-2: None of the ingredients is listed.
· PAC-3: None of the ingredients is listed.

(Contd. on page 3)

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: **Lipozyme® TL IM**

(Contd. of page 2)

7 Handling and storage

- **Handling:**
- **Precautions for safe handling** No special measures required.
- **Information about protection against explosions and fires:** No special measures required.
- **Conditions for safe storage, including any incompatibilities**
- **Storage:** Keep cool.
- **Requirements to be met by storerooms and receptacles:** No special requirements.
- **Information about storage in one common storage facility:** Not required.
- **Further information about storage conditions:** DO NOT FREEZE
- **Recommended storage temperature:** Store at temperatures not exceeding 4 °C. Keep cool.
- **Specific end use(s)** No further relevant information available.

8 Exposure controls/personal protection

- **Additional information about design of technical systems:** No further data; see item 7.
- **Control parameters**
- **Components with limit values that require monitoring at the workplace:**
The product does not contain any relevant quantities of materials with critical values that have to be monitored at the workplace.
- **Additional information:** The lists that were valid during the creation were used as basis.
- **Exposure controls**
- **Personal protective equipment:**
- **General protective and hygienic measures:**
The usual precautionary measures for handling chemicals should be followed.
- **Breathing equipment:** Not required.
- **Protection of hands:**



Protective gloves

- The glove material has to be impermeable and resistant to the product/ the substance/ the preparation.
Due to missing tests no recommendation to the glove material can be given for the product/ the preparation/ the chemical mixture.
Selection of the glove material on consideration of the penetration times, rates of diffusion and the degradation
- **Material of gloves**
The selection of the suitable gloves does not only depend on the material, but also on further marks of quality and varies from manufacturer to manufacturer. As the product is a preparation of several substances, the resistance of the glove material can not be calculated in advance and has therefore to be checked prior to the application.
- **Penetration time of glove material**
The exact break through time has to be found out by the manufacturer of the protective gloves and has to be observed.
- **Eye protection:** Safety glasses

(Contd. on page 4)

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: *Lipozyme® TL IM*

(Contd. of page 3)

9 Physical and chemical properties

· **Information on basic physical and chemical properties**

· **General Information**

· **Appearance:**

· Form:	Granulate
· Color:	Whitish
· Odor:	Characteristic
· Odor threshold:	Not determined.

· **pH-value:** Not applicable.

· **Change in condition**

· Melting point/Melting range:	Undetermined.
· Boiling point/Boiling range:	Undetermined.

· **Flash point:** Not applicable.

· **Flammability (solid, gaseous):** Product is not flammable

· **Ignition temperature:**

· **Decomposition temperature:** Not determined.

· **Auto igniting:** Product is not selfigniting.

· **Danger of explosion:** Product does not present an explosion hazard.

· **Explosion limits:**

· Lower:	Not determined.
· Upper:	Not determined.

· **Vapor pressure:** Not applicable.

· **Density:** Not determined.

· **Relative density** Not determined.

· **Vapor density** Not applicable.

· **Evaporation rate** Not applicable.

· **Solubility in / Miscibility with**

· **Water:** Insoluble.

· **Partition coefficient (n-octanol/water):** Not determined.

· **Viscosity:**

· Dynamic:	Not applicable.
· Kinematic:	Not applicable.

· **Solvent content:**

· Organic solvents:	0.0 %
· VOC content:	0.0 g/l / 0.00 lb/gal

· **Other information** No further relevant information available.

10 Stability and reactivity

· **Reactivity** No further relevant information available.

· **Chemical stability**

· **Thermal decomposition / conditions to be avoided:** No decomposition if used according to specifications.

· **Possibility of hazardous reactions** No dangerous reactions known.

· **Conditions to avoid** No further relevant information available.

(Contd. on page 5)

US

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: Lipozyme® TL IM

(Contd. of page 4)

- **Incompatible materials:** No further relevant information available.
- **Hazardous decomposition products:** No dangerous decomposition products known.

11 Toxicological information

- **Information on toxicological effects**
- **Acute toxicity:**
- **Primary irritant effect:**
- **on the skin:** No irritant effect.
- **on the eye:** No irritating effect.
- **Sensitization:** No sensitizing effects known.
- **Additional toxicological information:**
The product is not subject to classification according to internally approved calculation methods for preparations:
When used and handled according to specifications, the product does not have any harmful effects according to our experience and the information provided to us.

· **Carcinogenic categories**

· **IARC (International Agency for Research on Cancer)**

None of the ingredients is listed.

· **NTP (National Toxicology Program)**

None of the ingredients is listed.

· **OSHA-Ca (Occupational Safety & Health Administration)**

None of the ingredients is listed.

12 Ecological information

- **Toxicity**
- **Aquatic toxicity:** No further relevant information available.
- **Persistence and degradability:** No further relevant information available.
- **Behavior in environmental systems:**
- **Bioaccumulative potential:** No further relevant information available.
- **Mobility in soil:** No further relevant information available.
- **Additional ecological information:**
- **General notes:**
Water hazard class 1 (Self-assessment): slightly hazardous for water
Do not allow undiluted product or large quantities of it to reach ground water, water course or sewage system.
- **Results of PBT and vPvB assessment**
- **PBT:** Not applicable.
- **vPvB:** Not applicable.
- **Other adverse effects:** No further relevant information available.

13 Disposal considerations

- **Waste treatment methods**
- **Recommendation:** Disposal must be made according to official regulations.

(Contd. on page 6)

US

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: **Lipozyme® TL IM**

(Contd. of page 5)

- **Uncleaned packagings:**
- **Recommendation:** Disposal must be made according to official regulations.

14 Transport information

- **UN-Number**
- **DOT, ADN, IMDG, IATA** not regulated
- **UN proper shipping name**
- **DOT, ADN, IMDG, IATA** not regulated
- **Transport hazard class(es)**
- **DOT, ADN, IMDG, IATA**
- **Class** not regulated
- **Packing group**
- **DOT, IMDG, IATA** not regulated
- **Environmental hazards:** Not applicable.
- **Special precautions for user** Not applicable.
- **Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and the IBC Code** Not applicable.
- **UN "Model Regulation":** not regulated

15 Regulatory information

- **Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture**
- **Sara**

· **Section 355 (extremely hazardous substances):**

None of the ingredients is listed.

· **Section 313 (Specific toxic chemical listings):**

None of the ingredients is listed.

· **TSCA (Toxic Substances Control Act):**

All ingredients are listed.

· **Proposition 65**

· **Chemicals known to cause cancer:**

None of the ingredients is listed.

· **Chemicals known to cause reproductive toxicity for females:**

None of the ingredients is listed.

· **Chemicals known to cause reproductive toxicity for males:**

None of the ingredients is listed.

· **Chemicals known to cause developmental toxicity:**

None of the ingredients is listed.

(Contd. on page 7)

US

Safety Data Sheet
according to OSHA HCS

Printing date 07/18/2021

Reviewed on 07/14/2021

Trade name: Lipozyme® TL IM

(Contd. of page 6)

· **Carcinogenic categories**

· **EPA (Environmental Protection Agency)**

None of the ingredients is listed.

· **TLV (Threshold Limit Value established by ACGIH)**

None of the ingredients is listed.

· **NIOSH-Ca (National Institute for Occupational Safety and Health)**

None of the ingredients is listed.

· **GHS label elements not applicable**

· **Hazard pictograms not applicable**

· **Signal word not applicable**

· **Hazard statements not applicable**

· **Precautionary statements**

P235 Keep cool.

P262 Do not get in eyes, on skin, or on clothing.

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305+P351+P338 If in eyes: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P403+P233 Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.

P501 Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

· **National regulations:**

· **Water hazard class: Water hazard class 1 (Self-assessment): slightly hazardous for water.**

· **Chemical safety assessment: A Chemical Safety Assessment has not been carried out.**

16 Other information

This information is based on our present knowledge. However, this shall not constitute a guarantee for any specific product features and shall not establish a legally valid contractual relationship.

· **Department issuing SDS:** Technical Department.

· **Contact:** Technical Director

· **Date of preparation / last revision** 07/18/2021 / -

· **Abbreviations and acronyms:**

ADR: Accord européen sur le transport des marchandises dangereuses par Route (European Agreement concerning the International Carriage of Dangerous Goods by Road)

IMDG: International Maritime Code for Dangerous Goods

DOT: US Department of Transportation

IATA: International Air Transport Association

ACGIH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists

EINECS: European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances

ELINCS: European List of Notified Chemical Substances

CAS: Chemical Abstracts Service (division of the American Chemical Society)

NFPA: National Fire Protection Association (USA)

HMS: Hazardous Materials Identification System (USA)

VOC: Volatile Organic Compounds (USA, EU)

PBT: Persistent, Bioaccumulative and Toxic

vPvB: very Persistent and very Bioaccumulative

NIOSH: National Institute for Occupational Safety

OSHA: Occupational Safety & Health

TLV: Threshold Limit Value

PEL: Permissible Exposure Limit

REL: Recommended Exposure Limit

US

ANEXO 5.

FUNCIONAMIENTO PLANTA PILOTO SEGÚN INSTRUCTIVO EN SIGRA S.A

Comprobación Del Panel De Control De La Planta Piloto

Antes de realizar los ensayos, es de suma importancia verificar el correcto funcionamiento del panel de control de la planta piloto para ello se deben seguir los siguientes pasos:

- Encender el panel de control colocando el switch en “ON”, seguido a esto se debe encender la pantalla del control de temperatura.
- Verificar que el variador de rpm del agitador del reactor, encienda su pantalla.
- Encender el agitador de la planta piloto, colocando el switch del mismo en posición “ON”, seguido a esto, el agitador del reactor se debe activar.
- Colocar el switch del agitador en posición “OFF”, seguidamente el agitador del reactor debe apagarse.
- Colocar el switch del panel de control en posición “OFF”, posteriormente la pantalla del control de temperatura y la pantalla del variador de rpm, deben apagarse.

Comprobación De Las Líneas De Servicio De La Planta Piloto

Para realizar los ensayos en la planta piloto, esta debe contar con servicios como vapor, agua fría y sistema de vacío, para verificar la disponibilidad de los mismos se deben realizar los siguientes pasos:

- Encender el panel de control, siguiendo el proceso descrito en el numeral 4.1.1
- En la pantalla donde se verifica la temperatura del reactor, con el botón de aumentar temperatura colocar un set point de 60°C.
- Abrir manualmente, las válvulas de suministro de vapor y retorno de condensados.
- Ubicar el switch de enfriar/calentar en posición “Calentar”, seguidamente se debe observar en el panel de control que la temperatura del reactor aumenta.
- Una vez se compruebe el correcto funcionamiento del sistema de calentamiento, cerrar las válvulas del suministro de vapor y retorno de condensados.
- En la pantalla donde se verifica la temperatura del reactor, con el botón de disminuir temperatura colocar un set point de 30°C.
- Abrir manualmente, las válvulas de suministro de agua fría y retorno de agua.

- Ubicar el switch de enfriar/calentar en posición “Enfriar”, seguidamente se debe observar en el panel de control que la temperatura del reactor disminuye.
- Una vez se compruebe el correcto funcionamiento del sistema de enfriamiento, cerrar las válvulas del suministro de agua fría y retorno de la misma.
- Abrir la válvula de vacío muy lentamente, evitando una subida repentina de la presión indicada en el vacuómetro.
- El sistema se considerará como presurizado una vez que el vacuómetro indique una presión de vacío mínima de 520 mmHg.

Comprobación Del Estado Del Reactor De A Planta Piloto

Es de suma importancia comprobar el estado interior del reactor de la planta piloto siguiendo los pasos que se describen a continuación:

- Abrir la válvula de descarga de producto para comprobar que el reactor se encuentre vacío, en caso que no fluya producto, cerrar la válvula.
- En caso de no tener seguridad del estado de limpieza del reactor, se debe realizar un lavado, agregando 3 kg de agua caliente a través de la entrada de materia prima, colocar una temperatura de 90 °C y agitación constante por 15 minutos.
- Una vez transcurrido el tiempo, abrir la válvula de descarga del producto y colocar un recipiente para recibir el agua de salida.
- Someter el reactor a presión de vacío como se presenta en el numeral 4.1.2.
- Abrir la válvula de adición de materias primas.
- Se debe evidenciar la succión que ejerce el sistema por medio de la entrada de las materias primas, esto comprueba que el sistema de vacío está funcionando correctamente.
- Cerrar la válvula del sistema de vacío.
- Cerrar la válvula de entrada de materias primas.

Limpieza De La Planta Una Vez Finalizado El Ensayo

Una vez se finaliza un ensayo en la planta piloto, se debe realizar inmediatamente una limpieza del reactor, esto con el fin de evitar que la grasa dentro del mismo se empaste y provoque taponamiento de las entradas y salidas del reactor.

- Cargar el reactor con 3 kg de agua por medio de la entrada de materia prima.
- Conectar la manguera del sistema de vacío a la entrada de materia prima del reactor.
- Colocar un setpoint de temperatura de 90 °C, siguiendo el proceso descrito anteriormente
- Encender el agitador y dejar el sistema con agitación constante.
- Dejar el reactor en estas condiciones por 15 minutos.
- Colocar un recipiente a la salida de la válvula de salida del reactor.
- Colocar el switch del agitador del reactor en posición “OFF”
- Abrir la válvula de salida del reactor y recoger la cantidad de agua que sale del reactor.
- Realizar tres lavados siguiendo los pasos anteriores.
- En la entrada del sistema de vacío, agregar un poco de agua.
- Cerrar la entrada del sistema de vacío con la manguera de la misma.
- Dejar el reactor con calentamiento a 60 °C, agitación y vacío, por 15 minutos.
- Colocar un recipiente a la salida de la válvula de salida del reactor.
- Colocar el switch del agitador del reactor en posición “OFF”.
- Cerrar la válvula de vacío y abrir la válvula de adición de entrada de materia prima, una vez se observe la despreurización del reactor, cerrar la válvula de adición de materia prima.
- Abrir la válvula de salida del reactor y recoger la cantidad de agua que sale del reactor
- Cerrar la válvula de salida del reactor.
- Cerrar todas las válvulas de las líneas de servicio.
- Desconectar la manguera del sistema de vacío para descargar el agua que se encuentra dentro de la misma.

ANEXO 6.

RECOMENDACIONES

Para futuras investigaciones se recomienda variar la velocidad de agitación en el sistema, puesto que, de esta depende la interacción entre el sustrato y sitio activo de la enzima, además, verificar que el sistema de agitación del reactor sea tipo axial, para garantizar el contacto enzima-sustrato por la turbulencia del aceite.

Se recomienda evaluar el uso de tamices moleculares para disminuir la cantidad de agua del sistema, y así mismo la presencia de ácidos grasos libres de la mezcla grasa.

Se propone evaluar un proceso de pre-tratamiento de la enzima, para garantizar su activación completa, y disminuir la cantidad de agua de la misma, la cual puede favorecer la hidrólisis del aceite, afectando la vida útil del producto.

Se recomienda evaluar el proceso de post-tratamiento de la enzima, garantizando que no se retenga aceite en el medio enzimático, ya que este factor influye en la eficiencia de la misma al ser reutilizada en diferentes ciclos de reacción y de igual modo de la reutilización de la enzima depende los costos operativos del proceso.

Estudiar el proceso de interesterificación enzimática en otros tipos de reactores, como de lecho fijo o de flujo continuo, bien sea en el diseño o en la parte operativa del proceso.