



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
DE LOS MATERIALES

**SÍNTESIS DE TRIGLICÉRIDOS ESTRUCTURADOS
POR CATÁLISIS HETEROGÉNEA**

Ana Julia Avila

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2020

Prefacio

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Ciencia y Tecnología de los Materiales, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en la Planta Piloto de Ingeniería Química, dependiente del Departamento de Ingeniería Química y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, durante el período comprendido entre el 1 de Abril de 2009 y el 30 de Junio de 2014, bajo la dirección de la Dra. Gabriela M. Tonetto, Profesora Adjunta del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Sur e Investigadora Independiente del CONICET.

Ana Julia Avila



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

*La presente tesis ha sido aprobada el/...../.....,
mereciendo la calificación de (.....)*

Agradecimientos

Quería agradecer en primer lugar a mi directora, Gabriela Tonetto, porque sin su visión para guiarme en este largo camino no hubiese logrado alcanzar esta gran meta. Gracias Gabi por estar en el día a día, durante esos 5 años y por estar siempre presente en todos estos años posteriores. Gracias por alentarme con tus palabras, por ver siempre el medio vaso lleno, por apostar en mí y ayudarme a finalizar este trabajo....por todo esto, mil gracias!!

Quiero agradecer también a Daniel Damiani, quien, con sus consejos siempre certeros, me ayudo en una gran parte de esta tesis. Gracias Daniel por todo su apoyo!

Gracias a mis “amigos catalíticos” Vicky y Nacho. Vicky, gracias por estar incondicionalmente, en las buenas y en las malas. Estoy tan agradecida de tenerte como amiga! Siempre recuerdo los millones de mates compartidos, los almuerzos y posteriores caminatas, “el congreso de Salta” que viajecito!, las largas charlas con un cafecito... por todo esto y más...mil gracias!!. Y Nacho...que más decirte que gracias!! Gracias por tantos años compartidos!! Por tantos momentos vividos...desde el secundario! Por tu predisposición y continuo apoyo... A ambos gracias por ayudarme siempre en lo que necesité durante el desarrollo de este trabajo experimental.

También quiero agradecer a mi amiga Consuelo!!! Por toda una carrera juntas, y tantas cosas compartidas en este camino académico y de amistad.... infinitamente gracias!!!.

Gracias especialmente a Mati por su imprescindible colaboración, gracias por darme una mano con el cromatógrafo siempre que algo pasaba y por tus consejos de laboratorio!. Gracias Andre por tus charlas y recomendaciones, y por los momentos

compartidos. A mis compañeros de oficina (tan bien apodada “pecera”). Vicky, Agus, Pili, Dani, Naza, Paula, y Mariana, gracias por compartir la vida diaria de todos esos años y hacer de los viernes más alegres compartiendo mates, tortas y cosas ricas!!.

Además, quiero agradecer especialmente a distintas personas, por la ayuda que me han brindado. A Agus por difracción laser, a Daniel Sánchez por el diseño de experimentos, a Olivia y Mario por su ayuda en el uso del DSC, a Cristina Frova por su ayuda con en el TGA, a Elba García por “las recetas” de sus muestras y por la preparación para hacer la determinación de azufre. A Beto por la construcción de los sistemas de reacción que tanto utilicé y a Pepe por sus ideas en la fabricación del sistema de reuso del catalizador. A las chicas de administración: Adriana gracias por encargarte de las compras de los insumos que utilicé durante todo mi trabajo experimental. Gracias Elsa, por la organización de los eventos a los que asistí y tanto disfruté. Gracias Any y Nora por estar siempre atentas.

A mi familia, por darme el cariño y la fuerza necesaria para ir para adelante. Gracias por hacerme saber que con esfuerzo y dedicación TODO se puede!!

A Nicolás mi esposo, amigo y compañero de vida. Gracias por darme aliento en los momentos difíciles y contentarte con mis logros. Gracias amor por tanto amor!!

Y a mis dos soles Emma y Sara, son mi “cable a tierra”, con ellas aprendo día a día a ser mamá y profesional.



*Por muy alta que sea una colina
siempre hay un sendero
hacia su cima.*



Resumen

En la presente tesis se estudia la síntesis de triglicéridos estructurados (TE) por catálisis heterogénea, a través de la reacción de acidólisis entre un triglicérido de cadena larga saturada y ácidos grasos de cadena media y corta. Los productos obtenidos pueden ser clasificados como reducidos en calorías. La utilización de catalizadores heterogéneos permite su separación del medio de reacción de una forma simple y habilita su reutilización. Todo esto da lugar a un proceso más eficiente y amigable con el medio ambiente, si se los compara con la aplicación de catálisis homogénea.

Se sintetizaron catalizadores ácidos tales como niobia y circonia sulfatada. Para circonia se aplicaron diferentes metodologías de síntesis. Las muestras fueron caracterizadas mediante técnicas fisicoquímicas. Se estudió el contenido de azufre de los sólidos sulfatados por espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado por inducción, las fases cristalinas presentes mediante difracción de rayos x, la distribución de tamaños de partícula de los catalizadores por difracción laser y su morfología por microscopía electrónica de barrido. Respecto a la acidez, la técnica de titulación potenciométrica con n-butilamina se utilizó para conocer el número y la fuerza ácida del sitio, mientras que mediante espectroscopía infrarroja de piridina adsorbida se determinó la naturaleza (Lewis o Brönsted).

Se investigó la acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico bajo las siguientes condiciones operacionales: temperatura = 180°C, relación molar inicial C:PPP = 4:1 y concentración de catalizador = 4%. Mediante los criterios de Carberry y Weisz-Prater se verificó la ausencia de resistencias a la transferencia de masa externa e interna. Los catalizadores resultaron activos en la reacción investigada, con conversiones de tripalmitina entre 12 y 25% a 4 h, y los únicos productos generados fueron PPC y PCC.

Se encontró que existe una relación directa entre la densidad de sitios ácidos del sólido y su actividad catalítica. Tanto los sitios ácidos de Brønsted como los de Lewis participan en la reacción, sin distinción en la fuerza ácida.

Mediante un diseño de experimentos, se encontraron las condiciones de operación (temperatura = 200°C, relación molar inicial C:PPP = 2:1 y concentración de catalizador = 5%) que maximizaban la conversión de tripalmitina (40%) y la selectividad a PCC (15%) en el rango investigado. El estudio de estabilidad permitió determinar que uno de los catalizadores sintetizados puede ser usado, sin previo acondicionamiento, en 10 ensayos consecutivos manteniendo el 95,5% de su actividad inicial.

Por último, se investigaron las propiedades físicas de los TE sintetizados por combinación de tripalmitina con ácido cáprico y caproico. Los TE fueron caracterizados por DRX, RMN y DSC a fin de determinar las fases polimórficas y el contenido de grasa sólida e investigar los procesos de fusión y cristalización.

Abstract

In this thesis, the synthesis of structured triglycerides (ST) is studied by heterogeneous catalysis, through the acidolysis reaction between a saturated long-chain triglyceride and short- and medium-chain fatty acids. The reaction products can be classified as reduced-calorie triglycerides. The use of heterogeneous catalysts allows its separation from the reaction medium in a simple way and enables its reuse. All these issues result in a more efficient and environmentally friendly process, when compared to the conventional process employing homogeneous catalysts.

Acid catalysts such as sulfated niobia and zirconia were synthesized. For zirconia, different synthesis methodologies were applied. The samples were characterized by physicochemical techniques. The sulfur content of the solids was studied by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy, the crystalline phases by X-ray diffraction, the particle size distribution of the catalysts by laser diffraction, and their morphology by scanning electron microscopy. Regarding acidity, the potentiometric titration with n-butylamine was used to determine the number and acid strength of the site, while the nature (Lewis or Brönsted) was determined by infrared spectroscopy of adsorbed pyridine.

The acidolysis of tripalmitin (PPP) with capric acid (C) was investigated under the following operating condition: temperature = 180 °C, initial molar ratio C:PPP = 4:1, and catalyst concentration = 4%. Using the Carberry and Weisz-Prater criteria, the absence of external and internal mass transfer resistance was verified. The studied catalysts resulted active towards the intended reaction, with tripalmitin conversions between 12 and 25% at 4 h of reaction time, with PPC and PCC as the only products generated. It was found a direct relationship between the density of acid sites of the solid

and its catalytic activity. Both Brønsted and Lewis acid sites participate in the reaction, with no distinction in acid strength.

Using an experimental design, the operating conditions that maximized the conversion (40%) and the selectivity to PCC (15%) were found (temperature = 200 °C, initial molar ratio C: PPP = 2:1 and catalyst concentration = 5%). The stability study allowed determining that one of the synthesized catalysts can be used, without prior conditioning, in 10 consecutive tests, maintaining 95.5% of its initial activity.

Finally, the physical properties of the ST synthesized by combining tripalmitin with capric and caproic acids were investigated. They were characterized by XRD, NMR, and DSC in order to determine the polymorphic phases and the solid fat content and to investigate the melting and crystallization processes.

Índice

1. Capítulo 1: Introducción

1.1. Introducción.....	2
1.2. Lípidos en general.....	2
1.3. Lípidos estructurados.....	7
1.3.1. Adsorción y transporte de ácidos grasos en el organismo.....	9
1.3.2. Usos y aplicaciones.....	13
1.3.2.1. TE de cadena media y larga.....	14
1.3.2.2. TE para usos clínicos.....	14
1.3.2.3. TE usados como grasas alternativas de la manteca de cacao y grasas plásticas libres de trans.....	15
1.3.2.4. TE para la salud infantil.....	17
1.3.2.5. TE reducidos en calorías.....	18
1.3.3. Producción de triglicéridos estructurados.....	22
1.3.3.1. Síntesis enzimática.....	23
1.3.3.2. Síntesis química.....	27
1.4. Objetivos generales y específicos.....	31
1.5. Referencias.....	33

2. Capítulo 2: Materiales y métodos

2.1. Introducción.....	40
2.2. Materiales.....	40
2.3. Métodos.....	41
2.3.1. Preparación de los catalizadores.....	41
2.3.1.1. Óxido de Niobio.....	42
2.3.1.2. Niobia Sulfatada.....	43
2.3.1.3. Óxido de Circonio.....	44
2.3.1.4. Circonia Sulfatada.....	44
2.3.2. Sistema de reacción y condiciones de operación.....	47
2.3.3. Análisis cromatográficos.....	53
2.3.3.1. Condiciones cromatográficas.....	53
2.3.3.2. Determinación de triglicéridos y ácidos grasos.....	54

2.3.3.3.	<i>Curva de calibración</i>	56
2.3.4.	<i>Cálculo de Conversión y Selectividad</i>	60
2.3.5.	<i>Descripción de las técnicas de caracterización, equipamiento experimental y condiciones de operación utilizados</i>	61
2.3.5.1.	<i>Caracterización de los catalizadores</i>	61
2.3.5.1.1.	<i>Propiedades texturales</i>	61
2.3.5.1.2.	<i>Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado por inducción</i>	62
2.3.5.1.3.	<i>Difracción de rayos X</i>	63
2.3.5.1.4.	<i>Tamaño y morfología de partículas</i>	64
2.3.5.1.4.1.	<i>Difracción láser</i>	64
2.3.5.1.4.2.	<i>Microscopía electrónica de barrido</i>	65
2.3.5.1.5.	<i>Determinación de la acidez</i>	66
2.3.5.1.5.1.	<i>Titulación potenciométrica</i>	66
2.3.5.1.5.2.	<i>FT-IR de piridina adsorbida</i>	67
2.3.5.2.	<i>Caracterización de las grasas</i>	69
2.3.5.2.1.	<i>Difracción de rayos X</i>	69
2.3.5.2.2.	<i>Calorimetría diferencial de barrido</i>	71
2.3.5.2.3.	<i>Resonancia magnética nuclear</i>	73
2.3.5.2.4.	<i>Análisis termogravimétrico</i>	74
2.4.	<i>Referencias</i>	75

3. Capítulo 3: Caracterización de los catalizadores sintetizados

3.1.	<i>Introducción</i>	81
3.2.	<i>Propiedades texturales</i>	81
3.3.	<i>Determinación de azufre</i>	85
3.4.	<i>Difracción de rayos X</i>	88
3.5.	<i>Tamaños de partículas</i>	93
3.5.1.	<i>Difracción láser</i>	93
3.5.2.	<i>Microscopía electrónica de barrido</i>	96
3.6.	<i>Determinación de la acidez</i>	100
3.6.1.	<i>Titulación potenciométrica</i>	101
3.6.2.	<i>Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier</i>	108
3.7.	<i>Conclusiones</i>	119

3.8. Referencias.....	122
4. Capítulo 4: Actividad y selectividad de los catalizadores	
4.1. Introducción.....	129
4.2. Estabilidad térmica de los reactivos.....	129
4.3. Limitaciones difusionales.....	133
4.3.1. Transferencia de masa externa.....	135
4.3.2. Transferencia de masa interna.....	139
4.4. Ensayos en ausencia de catalizador.....	141
4.5. Ensayos de actividad catalítica.....	142
4.6. Determinación de la cinética de reacción.....	150
4.7. Efecto de la acidez del catalizador en la actividad catalítica.....	154
4.8. Consideraciones sobre el mecanismo de reacción.....	159
4.9. Ensayos de reúso.....	160
4.10. Conclusiones.....	165
4.11. Referencias.....	168
5. Capítulo 5: Estudio de las variables de operación a través de un diseño de experimentos	
5.1. Introducción.....	173
5.2. Diseño experimental.....	174
5.3. Resultados del diseño experimental y análisis estadístico.....	177
5.3.1. Conversión de PPP.....	177
5.3.2. Selectividad a PPC y PCC.....	183
5.3.3. Validación del modelo.....	187
5.4. Ensayos de actividad catalítica: Comparación en distintas condiciones.....	187
5.5. Optimización del reúso.....	190
5.6. Conclusiones.....	195
5.7. Referencias.....	197
6. Capítulo 6: Caracterización de los triglicéridos estructurados sintetizados	
6.1. Introducción.....	199
6.2. Acidólisis de tripalmitina con ácido caproico.....	200

6.3. Purificación de los triglicéridos estructurados	201
6.4. Determinación de las propiedades físicas de los triglicéridos	204
6.4.1. Caracterización de la estructura cristalina de los triglicéridos por DRX.....	206
6.4.1.1. Introducción.....	206
6.4.1.2. Resultados y discusión.....	214
6.4.2. Estudio de la cristalización y fusión de los triglicéridos por DSC.....	222
6.4.2.1. Introducción.....	222
6.4.2.2. Resultados y discusión.....	228
6.4.3. Determinación del contenido de grasa sólida por RMN.....	241
6.4.3.1. Introducción.....	241
6.4.3.2. Resultados y discusión.....	244
6.5. Conclusiones.....	248
6.6. Referencias.....	251
7. Capítulo 7: Conclusiones generales y trabajos a futuro	
7.1. Conclusiones generales	257
7.2. Trabajos a futuro.....	261
Anexos	
Anexo A: Materiales.....	263
Anexo B: Resultados de reacción obtenidos en el Capítulo 4.....	265
Anexo C: Reactivos y productos empleados en reacciones del Capítulo 6.....	268

Abreviaturas

AG	Ácido graso
ACN	Número de átomos de carbono de los grupos acilos (<i>acyl carbon numbers</i>)
APF	Fracción de alto punto de fusión
Br	Sitios Brönsted
BPF	Fracción de bajo punto de fusión
C	Ácido cáprico o ácido decanoico
∅	Ácido caproico o ácido hexanoico
Cat	Carga de catalizador
CCC	Tricaprina o tridecanoico
∅∅∅	Tricaprina o trihexanoico
DG	Diglicérido
DHA	Ácido docosahecanoico
DIPE	Di-iso-propil-eter
DPA	Ácido docosapentaenoico
DRX	Difracción de rayos x
DSC	Calorimetría diferencial de barrido (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
DTG	Derivada de la curva termogravimétrica

EPA	Ácido eicosapentaenoico
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (<i>Food and Agriculture Organization</i>)
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i>)
FR	Factor de respuesta
GAMC	Grasas alternativas de la manteca de cacao
GEMC	Grasas equivalentes de la manteca de cacao
GRAS	<i>Generally recognized as safe</i>
GRMC	Grasas reemplazantes de la manteca de cacao
GSMC	Grasas sustitutas de la manteca de cacao
h	Horas
LCFA	Ácidos grasos de cadena larga (<i>Long Chain Fatty Acids</i>)
Le	Sitios Lewis
LE	Lípidos estructurados
LLL	Trilaurina o tridodecanoína
LCT	Triglicéridos de cadena larga (<i>Long Chain Triglycerides</i>)
MCFA	Ácidos grasos de cadena media (<i>Medium Chain Fatty Acids</i>)
MCT	Triglicéridos de cadena media (<i>Medium Chain Triglycerides</i>)
meq	miliequivalentes

MFA	Máxima fuerza ácida
MG	Monoglicérido
min	minutos
MLL	Triglicéridos del tipo: <i>Medium-Long-Long</i>
MLM	Triglicéridos del tipo: <i>Medium-Long-Medium</i>
MMM	Trimiristina
MPF	Fracción de medio punto de fusión
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados (<i>Monounsaturated fatty acids</i>)
n-bta	n-butilamina
NTSA	Número Total de Sitios Ácidos
OOO	Tricaprilina o trioctanoín
P	Ácido Palmítico
PM	Peso molecular
PPP	Tripalmitina
[PPP]	Concentración de Tripalmitina
PUFA	Ácidos poliinsaturados (<i>Polyunsaturated fatty acids</i>)
RM	Relación molar
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
RSM	Metodologías de superficie de respuesta (<i>Response Surface Methodology</i>)
R ²	Coefficiente de determinación

R ² ajustado	Coeficiente de determinación ajustado
S	Azufre
SCFA	Ácidos grasos de cadena corta (<i>Short Chain Fatty Acids</i>)
SFC	Contenido de Grasa Sólida (<i>Solid Fat Content</i>)
S _{PPC}	Selectividad a PPC
S _{PCC}	Selectividad a PCC
S _{CCC}	Selectividad a CCC
S _{PCC}	Selectividad a PCC
S _{PPC}	Selectividad a PPC
T	Temperatura
TE	Triglicérido/s estructurado/s
TEA	Triglicéridos estructurados al azar
TEE	Triglicéridos estructurados específicos
TG	Curva termogravimétrica
TGA	Análisis termogravimétrico (<i>Thermogravimetric analysis</i>)
u.a.	Unidades Arbitrarias
X _{PPP}	Conversión de Tripalmitina

1. INTRODUCCIÓN

1.1. *Introducción*

Dentro de la alimentación, "las grasas y los aceites" son la fuente principal de energía procedente de los alimentos, entre otras funciones que cumplen en el organismo. Sin embargo, durante mucho tiempo se los ha asociado con algunas enfermedades, especialmente enfermedades coronarias. Es por eso que se han investigado y desarrollado procesos que permiten modificar su composición y estructura, para obtener componentes más apropiados para diferentes aplicaciones.

En este capítulo se introducirán conceptos básicos referidos a los lípidos en general, para ello se presentarán definiciones y diversas clasificaciones. Se hará referencia al consumo de triglicéridos en la dieta, a la luz del conocimiento actual sobre el tema. Se presentará el término triglicérido estructurado (TE), y se abordará sobre la importancia de su síntesis y las diferentes formas de producción. Se expondrá el proceso de absorción y transporte de los ácidos grasos (AG) en el organismo, para lograr entender las distintas aplicaciones que tienen los TE. Además, se proporcionará un panorama general acerca del estado actual de la industria de los TE y la perspectiva futura de estos productos. Por último, se expondrán los objetivos generales y específicos, que, en este trabajo experimental se han propuesto alcanzar.

1.2. *Lípidos en general*

Los lípidos consisten en un amplio grupo de compuestos, en general son solubles en disolventes orgánicos y escasamente solubles en agua. Son los principales componentes del tejido adiposo y junto con las proteínas y los carbohidratos constituyen el grueso de los componentes estructurales de todas las células vivientes [1].

Los triglicéridos de origen animal y vegetal (que representan el 93-95% de los lípidos ingeridos en la dieta) han sido llamados tradicionalmente grasas o aceites, dependiendo de si el material es sólido o líquido a temperatura ambiente. Los mismos están compuestos por tres AG unidos por enlace éster a una molécula de glicerol. Los ácidos grasos, que componen los triglicéridos, son ácidos carboxílicos con cadenas hidrocarbonadas que contienen comúnmente entre 2 y 24 átomos de carbono, pudiendo estar estas cadenas saturadas o insaturadas, dependiendo de la existencia o no de dobles enlaces. A su vez, la configuración geométrica del doble enlace puede presentarse como *cis* o *trans*, según la ubicación de los hidrógenos de los carbonos involucrados en los dobles enlaces. Los AG saturados no contienen dobles enlaces, de esta manera los enlaces simples generan una molécula lineal que se puede empaquetar fácilmente para formar un sólido a temperatura ambiente. En cambio, los AG insaturados al tener uno o más dobles enlaces, producen pliegues en la cadena carbonada, lo que da como resultado un empaquetamiento más flexible haciéndolos líquidos a temperatura ambiente. Los mismos pueden clasificarse en ácidos grasos monoinsaturados (MUFA, *monounsaturated fatty acids*) los cuales tienen un solo doble enlace y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA, *polyunsaturated fatty acids*) los que presentan más de un doble enlace.

Los ácidos grasos normalmente tienen un número par de átomos de carbono y estructuras no ramificadas. Su clasificación respecto al tamaño de cadena es muy variada según el autor que se consulte [2,3,4]. En general se clasifican en tres o en cuatro subgrupos según la longitud de su cadena. En esta tesis se considerará la clasificación adoptada por expertos de la FAO (por sus siglas en inglés: *Food and Agriculture Organization*, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) [4] en la cual se establecen cuatro subgrupos:

- Ácidos grasos de cadena corta (SCFA, *Short Chain Fatty Acids*): de 3 a 7 átomos de carbono.
- Ácidos grasos de cadena media (MCFA, *Medium Chain Fatty Acids*): de 8 a 13 átomos de carbono.
- Ácidos grasos de cadena larga (LCFA, *Long Chain Fatty Acids*): de 14 a 20 átomos de carbono.
- Ácidos grasos de cadena muy larga: con 21 o más átomos de carbono.

En la *Tabla 1.1* se citan algunos ejemplos de los ácidos grasos saturados e insaturados más comunes.

Tabla 1.1. Nombres químicos y triviales de los principales ácidos grasos saturados e insaturados.

Abreviatura	Nombre sistemático	Nombre común
C4:0	Butanoico	Butírico
C6:0	Hexanoico	Caproico
C8:0	Octanoico	Caprílico
C10:0	Decanoico	Cáprico
C12:0	Dodecanoico	Láurico
C14:0	Tetradecanoico	Mirístico
C16:0	Hexadecanoico	Palmítico
C18:0	Octadecanoico	Estearico
C20:0	Eicosanoico	Araquídico
C22:0	Docosanoico	Behénico
C18:1 n-9	9-Octadecanoico	Oleico
C18:2 n-6	9,12-Octadecadienoico	Linoleico
C18:3 n-3	9,12,15-Octadecatrienoico	α -Linolénico
C18:3 n-6	9,12,15-Octadecatrienoico	γ -Linolénico
C20:4 n-6	5,8,11,14-Eicosatetraenoico	Araquídónico
C20:5 n-3	5,8,11,14,17-Eicosapentaenoico	Eicosapentaenoico (EPA)
C22:5 n-3	4,7,10,13,16-Docosahexaenoico	Docosapentaenoico (DPA)
C22:6 n-3	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoico	Docosahexaenoico (DHA)

Otra consideración que se puede hacer, tiene que ver con la estructura de los triglicéridos. Cuando el carbono central de la estructura (© en la *Figura 1.1 (b)*) se encuentra enlazado a cuatro sustituyentes diferentes, se convierte en un carbono quiral o carbono asimétrico. Cada uno de los átomos de carbono en la molécula de glicerol es identificado usando un sistema de numeración estereoespecífica (*sn*) como el que se muestra en la *Figura 1.1*. Según esta numeración, si se sitúa el acilo esterificado en el

carbono central hacia la izquierda, se considera como carbono *sn*-1 al que queda arriba utilizando la proyección de Fischer.

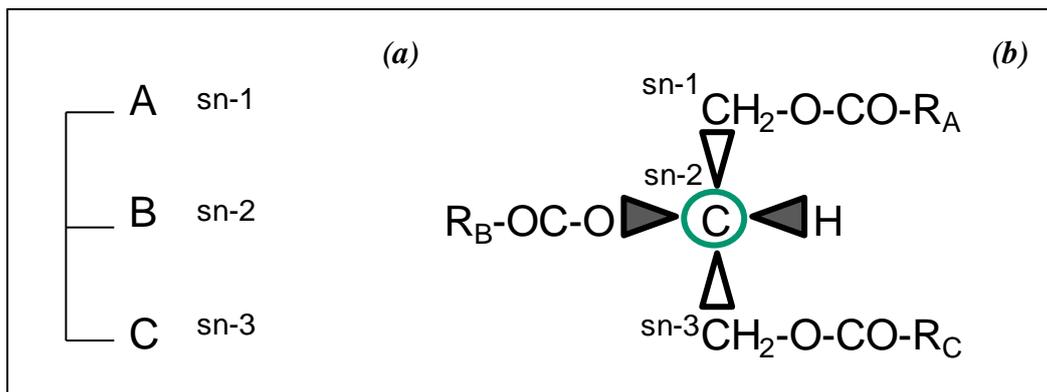


Figura 1.1. Esquema de la estructura de un triglicérido. (a) En este esquema A, B y C son ácidos grasos (b) en este caso © es el carbono asimétrico y R_A , R_B y R_C son las cadenas hidrocarbonadas.

Como componente de los alimentos, las grasas aportan beneficios sensoriales y fisiológicos. Contribuyen favorablemente con la consistencia, estabilidad y palatabilidad de los alimentos y aumentan la sensación de saciedad durante las comidas. El contenido de grasa también afecta la estructura y el color del alimento. Además, las grasas tienen un efecto importante sobre la textura, e influyen en las características como son el sabor y el aroma de los alimentos [5]. Los lípidos son necesarios en el requerimiento dietario ya que aportan calorías. Como se sabe, son la fuente más concentrada de energía en la dieta, ya que proporcionan 9 kcal/g comparado con las 4 kcal/g que aportan proteínas y carbohidratos [6]. Durante las últimas décadas, se ha puesto mucha atención sobre los efectos negativos causados sobre la salud asociados con el consumo excesivo de ciertas grasas y aceites. Cuando se consumen en exceso, los triglicéridos se depositan en el tejido adiposo y dentro de las células musculares, generando un aumento de peso corporal y el riesgo de sufrir ciertas enfermedades como obesidad, diabetes, hipertensión, aterosclerosis, además de enfermedades cardiovasculares. Pero en la actualidad, el

concepto de que “todas las grasas son malas y que la mejor dieta es la que no contiene grasas” debe ser revisado. Se ha verificado que el consumo de ciertos aceites y grasas tiene efectos positivos para la salud, debido a que los mismos contienen componentes esenciales para el crecimiento, para el buen mantenimiento de la salud y para la prevención de enfermedades en niños y adultos [7]. La incorporación de los AG araquidónico y DHA son importantes para el crecimiento y el desarrollo de los niños, mientras que otros PUFA están asociados con la disminución del riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en adultos [8]. Además, otra razón por la que las grasas son importantes en la dieta está relacionada con las vitaminas liposolubles. Ellas son las vitaminas A o retinol (esencial para la visión), D o calciferol (esencial para el metabolismo del calcio y la mineralización de los huesos), E (tocoferoles y tocotrienoles, actúan como antioxidantes) y K (importante para la coagulación de la sangre). Además, al consumir grasas y aceites se incorporan ácidos grasos esenciales (omega 3 y 6), los cuales no son producidos por el organismo, por lo que deben ser incorporados mediante una adecuada alimentación.

1.3. Lípidos estructurados

En la actualidad los cambios socioeconómicos, la mayor expectativa de vida, el aumento del costo de la atención médica y los avances en la ciencia y la tecnología de los lípidos, son responsables de cambiar las actitudes de los consumidores. Contrariamente a lo que ocurría en generaciones pasadas donde no se tomaba conciencia sobre las consecuencias de la dieta en la salud, en las últimas décadas los consumidores han mostrado un creciente interés en evaluar con más detalle la composición nutricional e ingredientes de un producto alimenticio. Se puede decir que en este momento existe un

gran cambio de tendencias y hábitos de consumo. Se encuentran en auge el desarrollo de nuevas tecnologías de procesos y conservación de alimentos, lo cual lleva al lanzamiento de nuevos productos para alcanzar nuevos consumidores [9].

Debido a que en la actualidad existe un mayor entendimiento de la estereoquímica de los triglicéridos alimentarios, en particular se conoce más sobre los efectos metabólicos asociados con su consumo (mecanismos de absorción y transporte de ácidos grasos en el organismo), se han logrado desarrollar nuevas tecnologías para la modificación de lípidos que buscan mejorar las propiedades nutricionales de grasas y aceites [10]. Una de esas tecnologías consiste en la estructuración de lípidos, particularmente la estructuración de triglicéridos. Los triglicéridos estructurados pueden definirse, como triglicéridos que han sido modificados, cambiando la composición y/o la posición de los ácidos grasos en el esqueleto del glicerol. Se puede elegir el tipo de ácido graso y que posición ocupará en el triglicérido a estructurar. Se suelen definir como moléculas “hechas a medida”, formuladas para una función nutricional o tecnológica específica. Ellos presentan características físicas, propiedades químicas y/o beneficios nutricionales específicamente buscados. La funcionalidad de los TE puede ser ajustada modificando la estabilidad oxidativa, las propiedades de fusión, el contenido de grasa sólida, el índice de yodo y la viscosidad [2,11].

Los TE difieren significativamente de las grasas y aceites naturales, y es posible sintetizarlos mediante diferentes procedimientos ya sean químicos o enzimáticos. Además, pueden sintetizarse de forma que los ácidos grasos en la cadena de glicerol presenten especificidad posicional o regioespecificidad (denominados triglicéridos estructurados específicos, TEE) o que se ubiquen en forma aleatoria (triglicéridos estructurados al azar, TEA). Los TEE se obtienen mediante reacciones catalizadas por

lipasas regioespecíficas, en cambio los TEA pueden obtenerse usando lipasas no específicas o por transesterificación química (con catalizadores homogéneos y heterogéneos).

En la síntesis de TE se utilizan una amplia variedad de ácidos grasos, con lo cual se deben considerar las ventajas que cada uno aporta respecto a sus propiedades y funcionalidad, para maximizar los beneficios que le brindan a los TE [2]. Es decir, a la hora de sintetizar un TE, los aspectos funcionales y metabólicos de cada ácido graso (si es saturado, insaturado, de cadena corta, media o larga) deben ser considerados.

Los TE forman parte de los alimentos funcionales o nutraceuticos por estar directamente asociados a la prevención o tratamiento de diversas enfermedades [12]. Los alimentos funcionales pueden definirse como alimentos a los que se han añadido uno o varios ingredientes, no contenidos de forma natural en el alimento en cuestión (o contenidos en baja cantidad). Además, son alimentos en los que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional. Dicho efecto consiste en mantener la salud y el bienestar, en la disminución del riesgo de enfermar, o ambas [13].

1.3.1. Absorción y transporte de ácidos grasos en el organismo

Aunque no es motivo de esta tesis analizar en detalle cuál es el destino metabólico de los distintos ácidos grasos que constituyen los triglicéridos alimentarios, se hace necesario conocer cómo se lleva a cabo el proceso de digestión de los lípidos, para lograr entender las distintas aplicaciones que tienen los TE. A continuación, se hará una muy breve descripción de dicho proceso tomando como referencia el trabajo de Valenzuela y

col. [10]. Como se verá, la digestión de los triglicéridos es un proceso complejo y estereoespecífico que requiere de la participación de lipasas altamente específicas.

El complejo proceso de la hidrólisis de los triglicéridos ocurre en la cavidad bucal, gástrica e intestinal del ser humano, y requiere de la participación de varias lipasas y cofactores (hormonas y sales biliares) que son necesarios para la actividad específica de cada una de ellas. Las *Figuras 1.2 y 1.3* muestran en detalle todo el proceso que se describe a continuación.

El proceso digestivo de los triglicéridos dietarios comienza en la boca y se inicia con la lipasa lingual. Esta actúa sobre el bolo alimenticio en su tránsito hacia el estómago y durante la permanencia del alimento en él. La lipasa lingual presenta alta especificidad, ya que reconoce casi específicamente la posición *sn-3* de los triglicéridos, siendo mucho menos efectiva para actuar en la posición *sn-1*, e inactiva sobre la *sn-2*. En el estómago, la lipasa gástrica es secretada por la mucosa de este órgano. Sus características estructurales y catalíticas son similares a las de la lipasa lingual. El destino metabólico de los ácidos grasos liberados por las lipasas lingual y gástrica va a depender del tamaño o extensión de la cadena hidrocarbonada. Los ácidos grasos de cadena corta (SCFA) y ácidos grasos de cadena media (MCFA) que sean solubles en el contenido gástrico, serán absorbidos en el estómago, y transportados a través de la sangre por las venas tributarias de la vena porta al hígado, donde serán utilizados principalmente con fines energéticos. Esto significa que los triglicéridos que contienen este tipo de ácido graso en la posición *sn-3*, constituirán un aporte energético de muy rápida disposición metabólica.

Los otros productos de la hidrólisis, tales como los ácidos grasos libres de 8 carbonos o más (MCFA y LCFA), los *sn-1* y *sn-2* diglicéridos (1,2-DG), y una pequeña proporción de *sn-2* monoglicéridos (2-MG), continuarán su tránsito hacia la primera

porción del intestino delgado (duodeno) donde se producirá un cambio del pH y enfrentarán la acción hidrolítica de la lipasa pancreática y de la carboxil éster hidrolasa, también de origen pancreático. La lipasa pancreática también presenta estereoespecificidad, ésta hidroliza específicamente las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 de los triglicéridos, siendo ligeramente más activa para la posición *sn*-1. La carboxil éster hidrolasa puede romper indistintamente las posiciones *sn*-1, *sn*-2 o *sn*-3, pero no actúa sobre los triglicéridos sino sobre los 1,2-DG o 2,3-DG. Como resultado de la acción conjunta de estas enzimas, se producen 2-MG y ácidos grasos libres de diferente longitud de cadena e insaturación provenientes de las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 de los triglicéridos dietarios. Los LCFA insaturados no pueden ser adsorbidos ni transportados por la sangre debido a su mayor carácter hidrofóbico. Los monoglicéridos junto con los ácidos grasos insaturados, son emulsionados por sales biliares y fosfolípidos de la secreción biliar, formando así micelas mixtas que favorecen su transferencia hacia las células del epitelio intestinal para su absorción. En estas células, los monoglicéridos son reesterificados a triglicéridos mediante la utilización de los ácidos grasos absorbidos o biosintetizados por las propias células intestinales. Posteriormente, son secretados en la forma de quilomicrones hacia la linfa y finalmente hacia la circulación sistémica llegando principalmente al músculo y al tejido adiposo. En el músculo, se utilizan para la producción de energía, y en el tejido adiposo forman triglicéridos de reserva. Los ácidos grasos saturados de cadena igual o superior a 14 carbonos (LCFA), provenientes de las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 de los triglicéridos dietarios no son fácilmente absorbidos, debido a que a la temperatura del lumen intestinal se encontrarán como sólidos o semisólidos por su alto punto de fusión (superior a 37°C en la mayoría de los casos). Estos ácidos grasos reaccionan con iones divalentes, como calcio, para formar jabones insolubles que son posteriormente eliminados en las deposiciones.

En resumen, los SCFA debido a su natural solubilidad en agua, su tamaño molecular y su corta longitud de cadena, son rápidamente absorbidos en el estómago en comparación con otros ácidos grasos. Estos pueden ser completamente hidrolizados por la acción de la lipasa gástrica, y ser adsorbidos en el estómago, para luego ser transportados al hígado, donde serán utilizados principalmente con fines energéticos. Por su parte, los MCFA son rápidamente hidrolizados en el intestino delgado y pueden ingresar al sistema circulatorio sin emulsionarse. Bypasean el sistema linfático e ingresan a la vena porta directamente, llegando rápidamente al hígado donde son oxidados para generar energía. Por último, los LCFA saturados tienen la particularidad de presentar una absorción gástrica reducida, lo que los hace útiles a la hora de obtener alimentos reducidos en calorías. En general, estos ácidos grasos saturados reaccionan con iones divalentes, para formar jabones insolubles que son posteriormente eliminados.

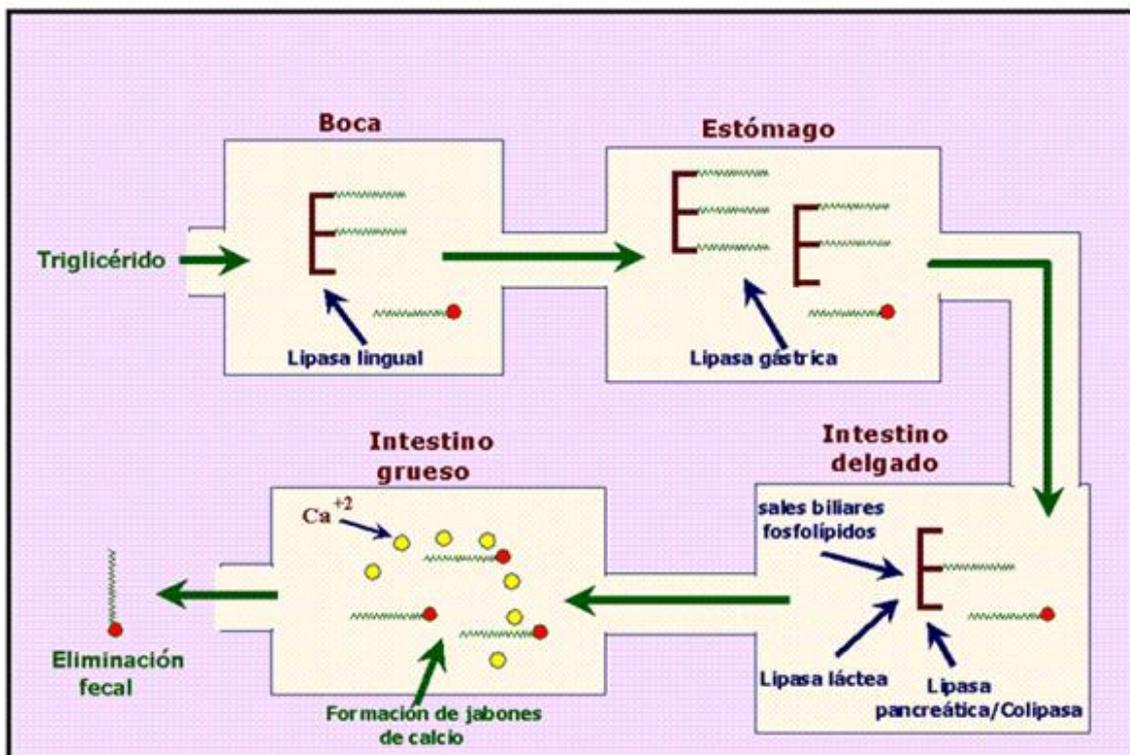


Figura 1.2. Proceso digestivo de los triglicéridos. Fuente: Adaptación trabajo de Valenzuela y col. [10].

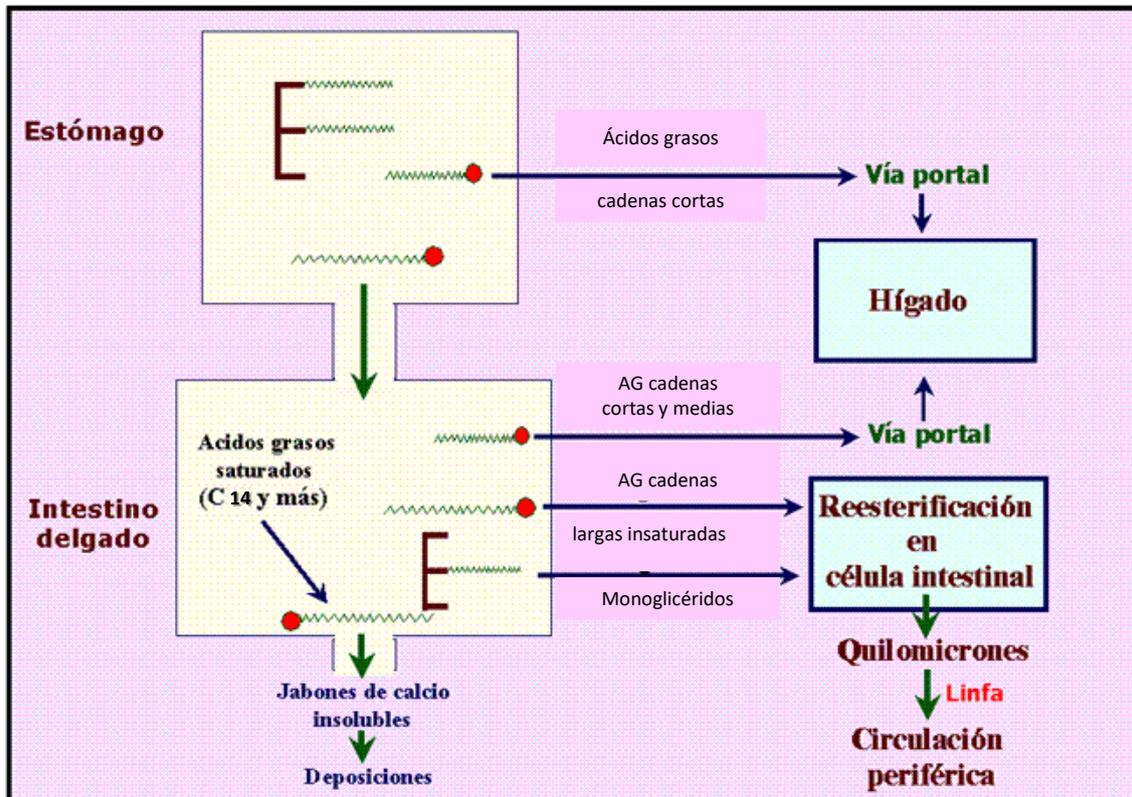


Figura 1.3. Destino metabólico de los triglicéridos y ácidos grasos en el tracto digestivo. Fuente: Adaptación trabajo de Valenzuela y col. [10].

1.3.2. Usos y aplicaciones

En base a los requerimientos dietarios de los diferentes grupos de la población (bebés, niños, adultos y pacientes), diferentes grasas pueden ser formuladas para satisfacer las necesidades de cada uno de ellos. Como ya se ha visto, la composición y la posición de los ácidos grasos en los triglicéridos pueden afectar dramáticamente la biodisponibilidad y digestibilidad de grasas y aceites. Por ende, un TE con una determinada composición y estructura tendrá una aplicación diferente.

Dentro de los usos y aplicaciones en alimentos, los TE incluyen equivalentes de manteca de cacao, sustitutos de grasa de leche materna, grasas reducidas en calorías, aceites enriquecidos con ácidos grasos esenciales (α -linolénico, γ -linolénico,

araquidónico, EPA, DHA, y otros PUFA), margarinas y otras grasas plásticas [14]. A continuación, se hará una breve descripción de cada caso.

1.3.2.1. TE de cadena media y larga

La producción de TE para propósitos clínicos y nutricionales ha sido de gran utilidad. La atención en este caso se centra en triglicéridos con MCFA localizados en las posiciones 1 y 3 del esqueleto de glicerol y LCFA, especialmente PUFA, en posición 2. Estructuralmente se obtiene un triglicérido de la forma MLM (siendo M un ácido graso de cadena media y L un ácido graso de cadena larga). De esta manera, la lipasa pancreática, que es 1,3 específica, hidroliza los triglicéridos de la dieta dando ácidos grasos libres y 2-MG. Los MCFA proveen rápida disposición de energía debido a que son ligeramente adsorbidos en las células intestinales, mientras que los *sn-2* monoglicéridos (especialmente con LCFA insaturados) son absorbidos a través de la vía linfática. De esta manera los TE pueden proporcionar una nutrición equilibrada. En la dieta es importante el consumo de ácidos grasos poliinsaturados, especialmente aquellos que contengan más de dos dobles enlaces. Los PUFA se encuentran en grasas y aceites naturales, pero en relativamente bajas concentraciones, por ello en aplicaciones nutricionales, es deseable maximizar la ingesta de este tipo de ácidos grasos con respecto al total de los consumidos. Existen muchos ejemplos de esta aplicación dados por Heird y col. [15], Lee y col. [16], Nieto y col. [17] e Hita y col. [18].

1.3.2.2. TE para usos clínicos

La alimentación asistida se suele utilizar en los casos en los que el paciente no puede tragar, tiene problemas relacionados con el apetito, no absorbe nutrientes a través

del sistema digestivo o tiene una grave desnutrición. La nutrición parenteral aporta al paciente, por vía intravenosa, los nutrientes básicos que necesita. Las sustancias suministradas deben proporcionar la energía requerida y la totalidad de los nutrientes esenciales (azúcares, sales, aminoácidos, vitaminas, etc.). Por su parte, la nutrición enteral consiste en administrar los nutrientes a través de una sonda directamente al estómago o intestino suprimiendo las etapas bucal y esofágica de la digestión. El uso clínico de emulsiones lipídicas para nutrición enteral o parenteral, a base de aceites vegetales, exclusivamente de soja y cártamo, ha sido utilizado por al menos 25 años [19]. Pero desde hace ya un tiempo, existen TE que también están siendo empleados en la formulación de productos para este tipo de nutrición.

El uso de triglicéridos de cadena media (MCT, *Medium Chain Triglycerides*) para ambos usos mostró ser una fuente de energía superior en comparación con triglicéridos de cadena larga (LCT, *Long Chain Triglycerides*). Esto es debido a su rápida y preferencial oxidación y su pobre capacidad de almacenamiento en el tejido adiposo [12,16].

A su vez, los MCT pueden ser mejor tolerados por individuos con malabsorción de lípidos, con enfermedades que impidan la secreción de bilis (por una obstrucción biliar o enfermedades del hígado) o por quienes tengan afectada la secreción de la lipasa del páncreas (fibrosis cística) [20].

1.3.2.3. TE usados como grasas alternativas de la manteca de cacao y grasas plásticas libres de ácidos grasos trans

Los TE son utilizados en la producción de equivalentes de la manteca de cacao [21]. La manteca de cacao es una grasa sólida obtenida a partir de los granos y el polvo

del cacao y es el constituyente principal de las formulaciones de chocolates. La creciente demanda de granos de cacao y la fluctuación en su abastecimiento, han llevado a la búsqueda de alternativas para reemplazar la manteca de cacao. El componente predominante (> 75%) de dicho producto son los triglicéridos con AG 16:0 y 18:0 en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3, y el AG 18:1 en la posición *sn*-2. La composición está dada básicamente por tres triglicéridos: POP, SOS, POS (P: ácido palmítico, O: ácido oleico y S: ácido esteárico, el orden de las letras indica la posición del AG en la molécula triglicérido). El alto punto de fusión de la manteca de cacao cerca de la temperatura corporal se debe a esa estructura específica [22].

Los TE obtenidos son grasas con propiedades físicas y químicas similares a las de la manteca de cacao, y pueden reemplazar en forma parcial o total a la manteca de cacao ya que son compatibles.

El uso de la transesterificación (ver *Sección 1.3.3*) hace posible la producción de grasas alternativas de la manteca de cacao (GAMC) a partir de aceites vegetales que imitan muy bien la composición y propiedades del producto [21,23]. A nivel comercial las GAMC se dividen en tres grupos. Las llamadas grasas equivalentes (GEMC) se consideran compatibles con la manteca de cacao. La cantidad que puede ser adicionada a la manteca de cacao es limitada solo por bases legales y no funcionales. Las grasas reemplazantes (GRMC) son parcialmente compatibles con la manteca de cacao. Los principales aceites que se utilizan son los de palma y soja, que presentan los tres ácidos grasos, característicos de la manteca de cacao. Por último, las grasas sustitutas (GSMC) pueden tener las mismas propiedades físicas que la manteca de cacao, pero tienen una marcada diferencia en la composición de ácidos grasos, por lo que su incompatibilidad puede comprometer la calidad del producto. Estas grasas se obtienen a partir de aceite de

coco o palmiste. El caso de las alternativas de la manteca de cacao es un ejemplo típico en el cual se busca alcanzar una propiedad funcional.

Existen investigaciones en el área de las grasas especiales que han llevado al desarrollo de TE sustitutos de las grasas plásticas. Las margarinas y spreads son preparadas mediante el mezclado de grasas y aceites con otros ingredientes como agua, productos lácteos, proteínas, sal, vitaminas, etc. Las margarinas son comercializadas como una manteca alternativa que contiene un 80% de grasa. Estas grasas plásticas son producidas por la hidrogenación parcial de aceites vegetales. En este proceso se logra incrementar el punto de fusión y la estabilidad, aunque también se genera la formación de grasas *trans* por isomerización de los dobles enlaces. La reacción de interesterificación se aplica en la producción de margarinas de alta estabilidad, ya que produce un producto libre de este tipo de problema. En dicha producción no es deseable una cristalización en la forma β , ya que la misma está asociada con un serio defecto por la formación de pequeños cristalitas que le brindan una consistencia no deseada. La interesterificación afecta la cristalización, evitando la formación de este tipo de cristales [24].

1.3.2.4. TE para la salud infantil

Los triglicéridos proporcionan alrededor del 98% de las grasas de la leche materna y proveen el 50% de la energía necesaria para el desarrollo y crecimiento de los recién nacidos [25]. El ácido palmítico (C16:0) es el AG saturado presente en mayor concentración en la leche humana y se encuentra en la posición *sn*-2 de los triglicéridos, mientras que el ácido oleico (C18:1) es el AG insaturado mayoritario ubicado en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 [26]. Por otro lado, en los aceites vegetales y en las fórmulas de

leche infantil que utilizan aceites vegetales como fuente de grasa, el ácido palmítico se encuentra en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3.

Betapol es el nombre comercial de un producto desarrollado como sustituto de la leche humana, producido por Loders-Croklaan (Dinamarca). El producto se basa en grasas vegetales que imitan la distribución de los ácidos grasos de la leche humana. Este producto se asemeja mucho a la leche materna, en términos de valores nutricionales y de altos contenidos de ácido palmítico en la posición *sn*-2. Mediante la adición de este triglicérido a fórmulas para infantes se mejora la absorción de minerales y grasas, y se favorece la formación de heces más blandas, disminuyendo el riesgo de constipación [27]. Este triglicérido es obtenido mediante un proceso enzimático y tiene una estructura OPO (1,3-dioleil-2-palmitoil glicérido), la cual es la estructura del triglicérido mayoritario de la leche materna [10]. Betapol tiene aprobación de la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de regular la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, *Food and Drug Administration*) y también está aprobado su uso en Europa, básicamente porque es un producto similar al natural.

1.3.2.5. TE reducidos en calorías

En la actualidad, los TE que han despertado gran interés son los que presentan reducción en calorías. En el caso particular de esta tesis, uno de los objetivos buscados tiene que ver con obtener este tipo de triglicéridos.

Las complicaciones de salud relacionadas con el sobrepeso se han convertido en un importante problema en todo el mundo. En 2014, la Organización Mundial de la Salud ha estimado que, más de 1.9 billones de adultos poseen sobrepeso [28]. En vista de dicho problema, los consumidores están empezando a tomar conciencia sobre la necesidad de

disminuir las calorías de la ingesta. Es por ello que en el mercado se han comenzado a comercializar una serie de sustitutos de las grasas. Los TE reducidos en calorías han sido diseñados para este fin.

Estos TE de bajo contenido calórico se obtienen mediante la combinación de SCFA o MCFA y LCFA saturados en misma molécula, indistintamente de su posición [5]. Las moléculas que contengan ácidos grasos de cadena corta y media brindan una reducción del contenido calórico, mientras que las que contengan ácidos grasos saturados de cadena larga brindarían una reducida absorción gástrica. Estas grasas y aceites deben también proporcionar las propiedades funcionales y físicas a los alimentos (como palatabilidad, cremosidad, textura, sabor, etc.) al igual que las grasas y aceites tradicionales. La *Figura 1.4* muestra la estructura general de un TE reducido en calorías. Allí S, M y L representan ácidos grasos de cadena corta, media y larga, respectivamente. La posición de dichos ácidos grasos es intercambiable, y los mismos pueden repetirse.

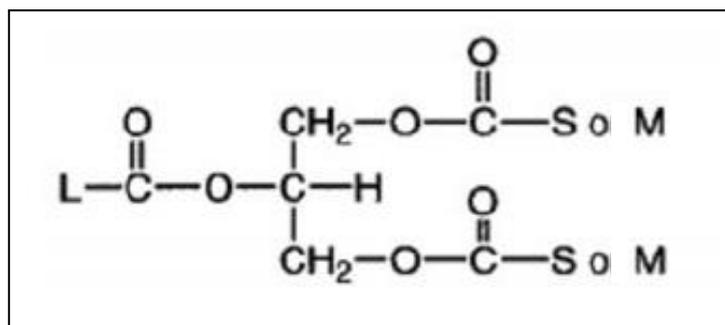


Figura 1.4. Estructura general de un TE reducido en calorías.

Desde hace ya varios años se cuenta con una gran variedad de TE reducidos en calorías disponibles en forma comercial. A continuación, se hará un resumen de los más reconocidos:

* *Caprenina*: fue uno de los primeros lípidos estructurados obtenido por una tecnología no enzimática. Este triglicérido es llamado caprocaprilobehénico pero es comúnmente conocido como Caprenina. Este producto era sintetizado a partir de la esterificación química del glicerol con una mezcla de ácido caprílico (C8:0), cáprico (C10:0) y behénico (C22:0). La Caprenina era un lípido reducido en calorías ya que solo proporciona 5 kcal/g. Fue utilizado en la preparación de helados, como cobertura en confitería y como sustituto de la manteca de cacao en Estados Unidos. La Caprenina era producida por Procter & Gamble (USA) y fue removida del mercado a mediados de los años 90 [5,29].

* *Salatrim (short and long acyl triglyceride molecule)*: es el nombre genérico de una familia de lípidos reducidos en calorías desarrollada por Nabisco Foods Group (USA). Al igual que la Caprenina es otro ejemplo de TE reducido en calorías, obtenido utilizando una tecnología no enzimática en su producción. Salatrim provee las propiedades físicas de una grasa, pero con aproximadamente la mitad de las calorías que una grasa comestible normal proporciona, ya que su valor calórico ronda las 5 kcal/g. Los AG que componen la mezcla son LCFA saturados (predominantemente esteárico, C18:0) y SCFA (acético C2:0, propiónico C3:0 y/o butírico C4:0), esterificados al esqueleto del glicerol. Se utiliza en helados, bocadillos, aderezos, como reemplazo de manteca de cacao, aunque no se recomienda en el proceso de fritura. Actualmente, se encuentra licenciado por Danisco Cultor bajo el nombre comercial de *Benefat*. Este producto tiene categoría GRAS (*Generally Recognized as Safe*) de la FDA desde 1994 y recientemente ha sido aprobado para su uso en las industrias de alimentos de Europa, por la Comisión de la Comunidad Europea [5,29,30].

* *Bohenin*: es un producto que contiene ácido behénico (C22:0) en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 y ácido oleico (C18:1) en la posición *sn*-2, y se obtiene mediante interesterificación enzimática. Es fabricado por Fuji Oil Co. (Japón) y en el año 2000 Bohenin recibió la certificación GRAS por parte de la FDA. Su principal aplicación es en chocolates y productos de confitería donde su función es promover el desarrollo de cristales estables. Se emplea en el proceso de templado de chocolate ya que posee un alto punto de fusión [5,29].

* *Triglicéridos de Cadena Media (MCT)*: contienen predominantemente ácidos grasos saturados de 8 a 13 carbonos esterificados al esqueleto de glicerol. Debido a su saturación, son estables a la oxidación, además poseen bajos valores de viscosidad y puntos de fusión y son generalmente líquidos a temperatura ambiente. Su pequeño tamaño molecular y su relativamente alta solubilidad en agua contribuyen en las propiedades de digestión y adsorción en comparación con los LCT [31]. Estos son fácilmente hidrolizados por las enzimas digestivas, y los ácidos grasos libres son rápidamente adsorbidos en el torrente sanguíneo. El valor neto de la energía calórica para los MCT es de 6,8 kcal/g. Originalmente fueron desarrollados para usos terapéuticos ya que proveen una fuente de energía para personas con sistemas gastrointestinal comprometidos y han sido extensivamente utilizados en la fabricación de formulaciones para nutrición enteral y parenteral. Su uso se ha ampliado, y actualmente los MCT tienen aplicaciones nutricionales específicas en fórmulas para infantes, barras y bebidas energéticas, preparaciones geriátricas y productos nutricionales para deportistas [5]. *Neobee*, *Captrin* y *Captex* son ejemplos de productos generados a partir de la interesterificación del glicerol con ácidos grasos de cadena media. Neobee se utiliza en el procesamiento de alimentos en barra y bebidas, Captrin se utiliza también en bebidas, mientras que Captex es empleado en alimentación parenteral.

1.3.3. Producción de triglicéridos estructurados

Las grasas han sido refinadas y sometidas a procesos de modificación con el fin de mejorar sus usos y estabilidad, desde hace ya mucho tiempo. Hidrogenación, fraccionamiento, mezclado y transesterificación son algunos procesos que se aplican sobre grasas y aceites para modificar sus propiedades químicas y físicas.

La hidrogenación es el proceso más ampliamente utilizado para cambiar las características físicas de las grasas. Este proceso consiste en adicionar hidrógeno, en presencia de un catalizador, a los dobles enlaces carbono-carbono presentes en las cadenas de los ácidos grasos. El objetivo que persigue este proceso tiene que ver con: (1) convertir un aceite líquido en una grasa semisólida o plástica para aplicaciones específicas en alimentos, y (2) mejorar la estabilidad oxidativa de los aceites para mantener la aceptabilidad organoléptica por un largo período de tiempo.

El fraccionamiento de grasas y aceites se ha vuelto un importante y versátil proceso de modificación. Mediante esta técnica se separan las grasas en fracciones con diferentes puntos de fusión. El principio del fraccionamiento de aceites se basa en la diferencia de solubilidad de los triglicéridos presentes en la mezcla.

En el proceso de blending o mezclado, después del proceso de refinado, las grasas y los aceites pueden mezclarse para producir un producto con una composición de ácidos grasos específicos o una consistencia o estabilidad requerida.

La transesterificación es el proceso por el cual se produce la reorganización de los ácidos grasos en la molécula triglicérido [24,32,33]. Las reacciones de transesterificación son ampliamente aplicadas en la síntesis de TE. Existen tres tipos de reacciones asociadas con la transesterificación: acidólisis, alcoholólisis e interesterificación (*Figura 1.5*). La

acidólisis involucra la transferencia de un grupo acilo entre un ácido graso y un éster (en este caso, el triglicérido). Por su parte, la alcoholólisis es una reacción de esterificación entre un alcohol y un triglicérido, y la interesterificación tiene que ver con el intercambio entre grupos acilo de dos ésteres, es decir, dos triglicéridos. También las reacciones de esterificación e hidrólisis (*Figura 1.5*) son de gran aplicación en oleoquímica y específicamente en la síntesis de TE.

Estas reacciones pueden involucrar el uso de catálisis química (homogénea o heterogénea) o enzimática. En las siguientes secciones se detallan ventajas y desventajas de cada proceso y se presentan ejemplos.

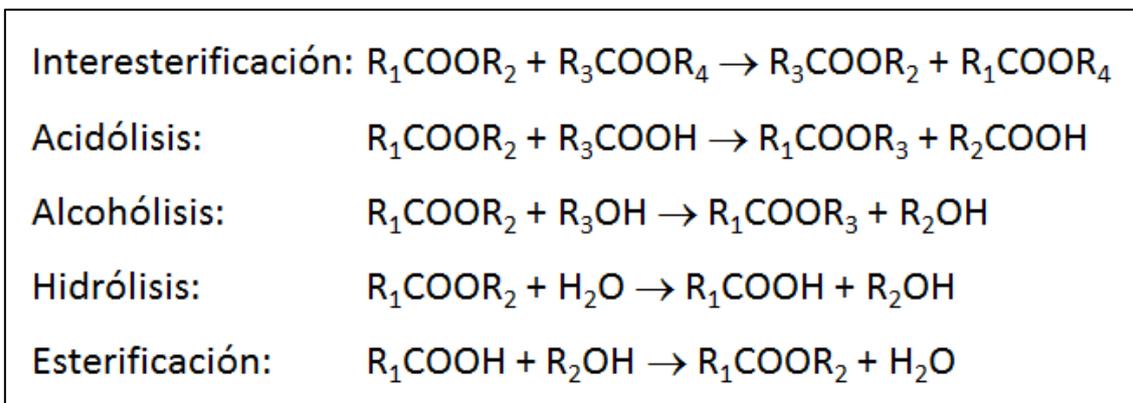


Figura 1.5. Esquema de las reacciones de transesterificación (interesterificación, acidólisis y alcoholólisis), hidrólisis y esterificación.

1.3.3.1. Síntesis enzimática

En la actualidad, una gran parte de los TE son obtenidos mediante el uso de catálisis enzimática. Las enzimas, especialmente las lipasas, suelen ser utilizadas como biocatalizadores en la reacción de transesterificación. Mediante el uso de las mismas se ha logrado modificar estructura y composición de grasas y aceites [34]. Comúnmente las lipasas suelen clasificarse en dos categorías: específicas y no específicas. Las que actúan

en forma específica lo hacen en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 o en la posición *sn*-2 de los triglicéridos. La interesterificación catalizada por enzimas no específicas (no presentan regioespecificidad) produce solo productos al azar, los cuales presentan pocas ventajas en comparación con los productos obtenidos por métodos químicos [35].

Las lipasas presentan selectividades elevadas a los productos deseados a bajas temperaturas. Entre los factores que se deben tener en cuenta para obtener la selectividad deseada es la presencia de agua. El agua es indispensable para la estructura tridimensional de proteínas y enzimas [36]. Pero también juega un rol importante en la distribución de productos. Por ejemplo, en la reacción de interesterificación, un exceso de agua contribuye a la hidrólisis excesiva del triglicérido, y en la reacción de esterificación, el equilibrio se puede desplazar hacia los productos mediante la separación continua del agua generada.

A nivel industrial, las propiedades de las enzimas se ven disminuidas debido a factores como la solubilidad, la agitación mecánica, el uso de disolventes, las altas temperaturas, pH extremos o debido a elevadas concentraciones de sustratos y productos [37]. Estos factores pueden causar disminución de la actividad catalítica, baja estabilidad y dificultad para su reutilización en sucesivos ciclos de reacción.

La acción de las lipasas en términos de eficiencia y estabilidad, suele mejorarse con técnicas de inmovilización de enzimas [10]. Una forma posible de clasificar los diferentes tipos de inmovilización puede ser: unión a soportes, atrapamiento o encapsulación y entrecruzamiento [38]. La inmovilización soporte-enzima puede establecerse mediante interacciones físicas o químicas [39]. Los soportes utilizados en biocatalizadores comerciales tales como Novozym 435 (lipasa de *Candida antarctica* B soportada) o Lipozyme RM IM (lipasa de *Rhizomucor miehei* soportada) son caros. Esto

último, junto a que los procesos de inmovilización son complejos, hacen que los biocatalizadores sean costosos y limitan su uso a la síntesis de productos de alto valor agregado.

La enzima inmovilizada se puede usar en diferentes tipos de reactores según varios criterios, tales como la velocidad de agitación utilizada durante la reacción, la transferencia de masa y calor, la escala de operación, los costos (del producto, sustratos, reactor, operación), la estabilidad (enzima, sustrato y/o producto), etc. [40,41]. Así, teniendo en cuenta esos factores, la transesterificación de grasas y aceites catalizada por lipasas puede llevarse a cabo utilizando procesos batch o continuo, usualmente en reactores de tanque agitado [42,43] o tubular de lecho empacado [24,44], respectivamente.

Hasta la fecha, la transesterificación catalizada por enzimas ha sido aplicada casi exclusivamente a la síntesis de productos de alto valor agregado. Existen numerosos ejemplos que avalan esta afirmación. Entre ellos se pueden citar la producción de TE mediante la reacción de interesterificación de aceite de soja y de palmiste utilizando como catalizador Lipozyme RM-IM (lipasa de *Rhizomucor miehei*). Los productos obtenidos pudieron ser aplicados en la formulación de emulsiones lipídicas para nutrición enteral y parenteral y en la industria de alimentos [45]. Otro ejemplo es la reacción de acidólisis de aceite de girasol con una mezcla de ácidos palmítico-esteárico empleando la misma enzima, para obtener un sustituto a los productos de hidrogenación [46].

Como ya se mencionó, los TE que contienen una mezcla de MCFA y LCFA insaturados en la misma molécula han sido diseñados para fines médicos, especialmente los de la forma MLM. El proceso más estudiado para la obtención de estos productos es mediante la acidólisis entre un triglicérido de cadena larga y uno de cadena media, en una

reacción de un solo paso. Sin embargo, si se emplean enzimas, este método requiere de una importante purificación después de la reacción, debido a que los triglicéridos deseados se obtienen con otros productos secundarios y no deseados, tales como MG, DG, AG y otros triglicéridos. La hidrólisis es una reacción secundaria muy difícil de evitar con el uso de lipasas comerciales. Lee y Akoh [16] reportaron la síntesis de TE por la acidólisis de tricaprilina con los ácidos grasos EPA y DHA (con hexano como solvente), empleando la lipasa B de *Candida antarctica* inmovilizada SP 435. Los TE fueron purificados por destilación molecular y los AG remanentes removidos por extracción alcalina. Nieto y col. [17] estudiaron la obtención de dos TE conteniendo también los ácidos grasos poliinsaturados EPA y DHA en la posición *sn*-2 y ácido láurico en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3. La síntesis se realizó a partir de la reacción de *sn*-2 eicosapentaenoil glicerol y *sn*-2 docosahexaenoil glicerol con laureato de metilo (disueltos en hexano) catalizado por la lipasa de *Mucor miehei*. Los TE fueron purificados por adsorción en una columna de óxido de aluminio. Por su parte Hita y col. [18] obtuvieron TE con ácido caprílico en las posiciones *sn*-1 y *sn*-3 de la molécula de glicerol y DHA en la posición *sn*-2, por acidólisis de aceite de atún y ácido caprílico, catalizada por las lipasa *Rhizopus oryzae* y *Rhizopus delemar* (Lipase Rd) inmovilizadas sobre Accurel MP1000.

Foresti y col. [47] utilizaron la lipasa comercial *Rhizomucor miehei* inmovilizada (Lipozyme RM IM) en la síntesis de TE por acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico para sintetizar MLL y MLM, los isómeros resultantes de reacción en la posición *sn*-1 y, en las posiciones *sn*-1 y 3, respectivamente. La conversión de tripalmitina (X_{PPP}) fue de 91% a 1 h de reacción, alcanzando el equilibrio en 5 h, con una conversión del 99% y un rendimiento máximo a MLM del 40%, cuando se utilizó n-heptano como solvente. En un trabajo posterior [48], el mismo grupo de investigación estudió la síntesis enzimática en

dos etapas de mezclas de acilglicéridos con alto valor nutricional. El producto obtenido consistía principalmente en TE, MCT y 1,3-DG. En la primera etapa se realizaba la síntesis enzimática de 1,3-dicaprina por esterificación de glicerol con ácido cáprico catalizada por Lipozyme RM IM, alcanzándose un rendimiento a DG del 55% en las condiciones óptimas. En la segunda etapa, se llevaba a cabo la esterificación de 1,3-dicaprina con ácido palmítico. Cuando se utilizó la lipasa de *Burkholderia cepacia* inmovilizada por adsorción física sobre quitosano, la conversión de DG fue cercana al 90%, obteniéndose una mezcla de acilglicéridos compuesta mayoritariamente por ácido cáprico en posiciones *sn*-1 y *sn*-3 y ácido palmítico en alta proporción en posición *sn*-2.

Debe señalarse que la temperatura, el disolvente orgánico y la actividad del agua son clave en la promoción de la migración de acilo. Esta reacción consiste en la migración del residuo acilo en posición *sn*-2 a alguna de las dos posiciones externas del glicerol, luego de la hidrólisis por parte de la enzima *sn*-1,3 específica. Estos parámetros afectan la actividad enzimática a través de diferentes cambios en la conformación de la lipasa que pueden afectar profundamente la distribución del producto final [3].

Como se ha visto, las lipasas son excelentes catalizadores para la síntesis de TE, especialmente cuando es necesario tener control sobre la distribución posicional de los ácidos grasos en el triglicérido. Si bien hay aspectos que requieren seguir siendo estudiados, básicamente, su mayor desventaja es el elevado costo de los biocatalizadores, especialmente las enzimas inmovilizadas (condición ineludible en procesos industriales).

1.3.3.2. Síntesis química

Este proceso es simple, de bajo costo y fácil de escalar, aunque no es capaz de modificar las posiciones específicas de los AG en el esqueleto del glicerol, es decir que

los triglicéridos producidos por esta vía presentan una distribución de los ácidos grasos al azar [7].

La producción de TE a escala industrial, generalmente se obtiene por transesterificación química, empleando catálisis homogénea. Esta presenta ventajas sobre la modificación enzimática, entre las cuales se incluyen los bajos costos de los catalizadores y la utilización de equipos industriales existentes [49,50]. Pero, como se dijo anteriormente, la principal desventaja de la transesterificación química es que ofrece poco o ningún control posicional de los ácidos grasos en el producto final.

Las reacciones de transesterificación en ausencia de catalizador requieren elevadas temperaturas (por encima de los 200°C) y largos períodos de tiempo, sin embargo, cuando la reacción se realiza en presencia de catalizadores las temperaturas disminuyen notoriamente [24]. El catalizador más ampliamente utilizado suele ser el metóxido de sodio (NaOCH_3), aunque existen otros ácidos, bases o sus correspondientes sales o metales (como aleaciones de sodio y potasio, NaK, NaOH o KOH, H_2SO_4 , etc.) que también suelen estar disponibles [51].

Los aceites con TE producidos por interesterificación química al azar poseen mayores beneficios que una simple mezcla física de dos aceites, la cual no produce ningún TE [8], debido a que al menos una parte de los AG deseados ocuparán ciertas posiciones, brindando beneficios nutricionales antes descriptos.

Hasta el momento, la principal aplicación de la interesterificación química está relacionada con la producción de margarinas y spreads. En la fabricación de margarinas *cero-trans*, la reacción entre el aceite de soja y una grasa saturada (palma, aceite completamente hidrogenado) utilizando metóxido de sodio como catalizador, resultó en la producción de una grasa con cristales β' y buenas propiedades organolépticas [52].

Otro ejemplo lo constituyen los TE obtenidos por interesterificación de las mezclas binarias y ternarias de las grasas de palma, semilla de palma y triglicéridos de cadena media, utilizando metóxido de sodio como catalizador. Aquí fueron estudiadas 10 muestras representadas por 3 muestras individuales, 3 muestras binarias y 4 muestras ternarias [53]. Por su parte, Díaz Gamboa y col. [54] obtuvieron TE por interesterificación química a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste utilizando el mismo catalizador.

La transesterificación química para producir TE también fue reportada por Klinkesorn y col. [49], quienes estudiaron el efecto de distintas condiciones de reacción sobre la transesterificación del aceite de atún con ésteres metílicos de PUFA, utilizando también metóxido de sodio como catalizador. En dicho estudio, la composición de los ácidos grasos del aceite de pescado fue químicamente enriquecido con PUFA (principalmente EPA y DHA).

La reacción de acidólisis ha sido menos investigada. Las reacciones de acidólisis no catalizadas generalmente requieren el uso de temperaturas elevadas (250-300°C), pero con un catalizador ácido (por ejemplo, ácido sulfúrico) se han llevado a cabo a temperaturas tan bajas como 150-170°C [55]. Dado que la reacción es reversible, requiere un exceso de ácido o la eliminación de uno de los productos durante la reacción si se desea una alta conversión. En 1924, Normann [56] reportó la sustitución parcial de ácido butírico en triglicéridos calentando una mezcla de los dos reactivos en ausencia de catalizador. Poco después, Schwartz [57] patentó un proceso en el que el aceite de coco se sometía a acidólisis con ácido acético calentando los reactivos en un recipiente cerrado a 180-200° C sin catalizador, o a 150-170°C con ácido sulfúrico como catalizador. El producto se aplicó como un plastificante estable de bajo punto de fusión para la piroxilina (barniz para madera).

La acidólisis del aceite de semilla de colza con ácidos grasos sintéticos (C9-13) fue investigada por Niewiadomski y col. [58] a escala de laboratorio a 250-300°C utilizando mezclas ácido:aceite de 3:1. El uso de 0,0032% de estaño o 0,0001% de zinc disuelto en ácido clorhídrico diluido permitió obtener los mismos resultados a menores temperaturas (200-240°C), evitando la descomposición térmica del aceite. Por su parte, Carlston [59] estudió la acidólisis de aceites vegetales y marinos con ácido ftálico a 280 y 300°C con el objetivo de fabricar resinas alquídicas (en ausencia de catalizador). A su vez, Meade y col. [60] estudiaron la cinética de la acidólisis de grasa vacuna con ácido acético catalizada por 1-2% de ácidos tales como sulfúrico, perclórico y p-toluenosulfónico.

Chakrabarty y col. [55] estudiaron, en 1968, la reacción de diversos aceites (algodón, palma y maní) con ácido láurico, en presencia de variados catalizadores, tales como H_2SO_4 , HgSO_4 , ZnO , CaO , MgO y Al_2O_3 . La reacción se llevó a cabo por calentamiento a 150°C durante 3 h, y se investigó la influencia del catalizador en la proporción de ácidos grasos intercambiados en el aceite. El mejor catalizador resultó ser el ácido sulfúrico, presentando los catalizadores heterogéneos el siguiente orden en cuanto a actividad catalítica: $\text{ZnO} = \text{CaO} > \text{Al}_2\text{O}_3 = \text{MgO} > \text{HgSO}_4$. Los resultados demostraron la viabilidad de introducir ácido láurico en aceites vegetales para la producción de aceites con diferentes propiedades físicas y químicas con catalizadores heterogéneos.

En conclusión, aunque la transesterificación química es un proceso efectivo en general, el uso de catalizadores homogéneos con características corrosivas lo hace un proceso que presenta desventajas tecnológicas y ambientales. Los inconvenientes tales como la dificultad de remover el catalizador, manipulación de ácidos y bases (que no son

reutilizados), la corrosión de equipos, la separación y purificación de los productos y la generación de grandes volúmenes de efluentes originados en las etapas de neutralización y lavado, se traduce en altos costos de producción y son motivadores de búsqueda de mejoras en los procesos.

Por lo visto anteriormente, se puede afirmar que el uso de catalizadores homogéneos presenta muchas limitaciones e inconvenientes. La aplicación de catalizadores heterogéneos en las reacciones de transesterificación aparece como una propuesta prometedora. En la actualidad, la reacción de transesterificación de aceites vegetales con un alcohol de cadena corta por catálisis heterogénea para la producción de biodiesel (reacción de alcoholólisis) ha sido motivo de interés para la investigación y tema de numerosas publicaciones [61,62,63,64]. Pero no ocurre lo mismo en el desarrollo de nuevos tipos de grasas y aceites, donde el mayor adelanto se ha dado por vía enzimática.

La utilización de catalizadores heterogéneos en la reacción de acidólisis para la síntesis de TE daría lugar a un proceso más amigable con el medio ambiente y posiblemente más eficiente, debido a la posibilidad de reutilizar el catalizador y a la eliminación de etapas de neutralización y lavado del catalizador homogéneo, y como consecuencia, con menores costos de producción.

1.4. Objetivos generales y específicos

De lo presentado antes, se concluye que el desarrollo de triglicéridos estructurados constituye sin lugar a dudas un desafío tecnológico y nutricional, para el cual existe un mercado expectante y de gran demanda potencial. En consecuencia, el desarrollo de la presente tesis tiene como objetivos:

Objetivo general:

Obtener TE por catálisis heterogénea a través de la reacción de acidólisis entre un triglicérido de cadena larga saturada y ácidos grasos de cadena media y corta. Estos TE pueden ser clasificados específicamente como reducidos en calorías.

Objetivos específicos:

- Desarrollar catalizadores heterogéneos ácidos, que sean activos, selectivos y estables en la reacción de acidólisis entre el triglicérido tripalmitina (LCT) y los ácidos grasos cáprico (MCFA) y caproico (SCFA).
- Caracterizar fisicoquímicamente los catalizadores sintetizados, a fin de correlacionar sus propiedades con la actividad catalítica.
- Investigar el comportamiento de los catalizadores estudiados en la reacción de interés. Encontrar las condiciones óptimas de reacción.
- Evaluar la estabilidad de los catalizadores en el medio de reacción, analizando su comportamiento en ciclos catalíticos consecutivos.
- Caracterizar fisicoquímicamente los triglicéridos estructurados sintetizados e investigar su comportamiento térmico.

1.5. Referencias

- [1] Nawar W.W. *Lípidos*. En: Química de los alimentos, Fennema O. Primera edición. Editorial Acribia. (1996) 157-275.
- [2] Osborn H.T., Akoh C.C., *Structured lipids-novel fats with medical, nutraceutical, and food applications*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 1 (2002) 93-103.
- [3] Ferreira M., Tonetto G., *Enzymatic synthesis of structured triglycerides: From Laboratory to Industry*. SpringerBriefs in Molecular Science (2017) ISBN 978-3-319-51574-8.
- [4] *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana*. Consulta de expertos. Estudio FAO alimentación y nutrición. <http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf> / último acceso 12/7/2020.
- [5] Senanayake N., Shahidi F. *Dietary Fat Substitutes*. En: Bailey's Industrial Oil and Fats Products, Fereidoon Shahidi Ed., John Wiley and Sons Inc., Sixth Edition Vol. 3 (2005) 503-534.
- [6] Drummond K.E., Brefere L.M. *Nutrition for food service and culinary professionals*. 8th Ed., John Wiley & Sons (2001).
- [7] Willis W.M., Marangoni A.G., *Assessment of Lipase and Chemically Catalyzed Lipid Modification Strategies for the Production of Structured Lipids*, Journal of the American Oil Chemists Society 76 (4) (1999) 443-450.
- [8] Willis W.M., Lencky R.W., Marangoni A.G., *Lipid Modification Strategies in the Production of Nutritionally Functional Fats and Oil*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 38 (8) (1998) 639-674.
- [9] Salgado Álvarez C., Restrepo Gallego M., *Aceites, grasas y margarinas saludables, una respuesta a las necesidades del mercado*. I Alimentos 6 (2008) 16-17.
- [10] Valenzuela A., Sanhueza J., Nieto S., *El uso de lípidos estructurados en la nutrición: una tecnología que abre nuevas perspectivas en el desarrollo de productos innovadores*. Revista Chilena de Nutrición 29 (2002) 106-115.

- [11] Akoh C.C., *Structured lipids*. En: Akoh C.C., Min DB (eds) *Food lipids* Marcel Dekker, New York (2002) 877-908.
- [12] Lai H., Chen W., *Effects of Medium-Chain and Long-Chain Triacylglycerols in Pediatric Surgical Patients*. *Nutrition* 16 (2000) 401- 406.
- [13] Olagnero G., Abad A., Bendersky S., Genevois C., Granzella L., Montonati M.; DIAETA 25 (121) (2007) 20-33.
- [14] Hoy, C. E., Xu, X. *Structured triacylglycerols*. En: *Structured and Modified Lipids*. F.D. Gunstone Ed., Marcel Dekker Inc., New York (2001) 209-240.
- [15] Heird W.C., Grundy SM., Hubbard VS., *Structured lipids and their use in clinical nutritional*. *American Journal of Clinical Nutrition* 43 (1986) 320-324.
- [16] Lee K., Akoh C. C., *Characterization of Enzymatically Synthesized Structured Lipids Containing Eicosapentaenoic, Docosahexaenoic, and Caprylic Acids*. *Journal of the American Oil Chemists Society* 75(4) (1998) 495-499.
- [17] Nieto S., Sanhueza J., Valenzuela A., *Synthesis of structured triacylglycerols containing medium-chain and long-chain fatty acids by interesterification with a stereospecific lipase from *Mucor miehei**. *Grasas y Aceites* 50 (3) (1999) 199-202.
- [18] Hita E., Robles A., Camacho B., Ramírez A., Esteban L., Jiménez M., Muñío M., González P., Molina E., *Production of structured triacylglycerols (STAG) rich in docosahexaenoic acid (DHA) in position 2 by acidolysis of tuna oil catalyzed by lipases*. *Process Biochemistry* 42 (2007) 415-422.
- [19] Mascioli E., Babayan V., Bistrrian B., Blackburn G., *Novel Triglycerides for Special Medical Purposes*. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 12 (6) (1988) 127S-132S.
- [20] Marten B., Pfeuffer M., Schrezenmeir J., *Review-medium-chain triglycerides*. *International Dairy Journal* 16 (2006) 1374-1382.
- [21] Kadivar S., De Clercq N., Van de Walle D., Dewettinck K., *Optimization of enzymatic synthesis of cocoa butter equivalent from high oleic sunflower oil*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94(7) (2014) 1325-13331.

- [22] Smith K.W. *Structured triacylglycerols: Properties and processing for use in food*. En: Talbot G (ed) *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition*, Woodhead Publishing, Cambridge, (2015) 207-218.
- [23] Macrae A.R., How P (1983) *Interesterification with lipase enzymes as interesterification catalyst*. Unilever PLC Unilever NV, International Patent Application WO83/03844.
- [24] Senanayake N., Shahidi F., *Modification of Fat and Oils via Chemical and Enzymatic Methods*. En: *Bailey's Industrial Oil and Fats Products*, Fereidoon Shahidi Ed., John Wiley and Sons Inc., Sixth Edition Vol. 3 (2005) 555-584.
- [25] Havlicekova Z., Jesenak M., Banovcin P., Kuchta M. *Beta-palmitate a natural component of human milk in supplemental milk formulas*. *Nutrition Journal* 15:28 (2016) 1-8.
- [26] Breckenridge W.C., Marai L., Kuksis A. *Triglyceride structure of human milk fat*. *Canadian Journal of Biochemistry* 47 (1969) 761-769.
- [27] Akoh C., Xu X., *Enzymatic Production of Betapol and other specialty fats*. En: *Lipid Biotechnology*. T. M. Kuo, H. Gardner. CRC Press, (2002) 461- 478.
- [28] WHO Fact Sheet No: 311 (2015). *Overweight and Obesity*. Updated January 2015.
- [29] Auerbach M., Klemann L., Heydinger J., *Reduced Energy lipids*. En: *Structured and Modified Lipids*. F.D. Gunstone Ed., Marcel Dekker Inc., New York (2001) 485-511.
- [30] Smith R.E., Finley J.W., Leveille G.A., *Overview of SALATRIM: A family of low-calorie fats*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42 (1994) 432-434.
- [31] Bach A.C., Babayan V.K., *Medium-Chain Triglycerides: An Update*. *The American Journal of Clinical Nutrition* 36 (1982) 950-961.
- [32] Shahidi F., Wanasundara P., Wanasundara U., *Changes in edible fats and oils during processing*. *Journal of Food Lipids* 4 (1997) 199-231.
- [33] Marangoni A., Rousseau D., *Engineering triacylglycerols: The role of interesterification*. *Trends in Food Science & Technology* 6 (1995) 329-335.
- [34] Valenzuela A., Nieto S., *Biotechnology of lipids: The use of lipase for the structural modification of fats and oils*. *Grasas y Aceites* 45 (5) (1994) 337-343.

- [35] Xu X., *Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review*. European Journal of Lipid Science and Technology 102 (2000) 287-303.
- [36] Camacho Páez B., Robles Medina A., Camacho Rubio F., González Moreno P., Molina Grima E., *Modeling the effect of free water on enzyme activity in immobilized lipase-catalyzed reactions in organic solvents* Enzyme and Microbial Technology 33 (2003) 845-853.
- [37] Zaks A., *Industrial biocatalysis*. Current Opinion in Chemical Biology 5(2) (2001) 130-136.
- [38] Sheldon R. A., *Enzyme immobilization: The quest for optimum performance*. Advanced Synthesis and Catalysis 349 (2007) 1289-1307.
- [39] Hartmeier W., *Immobilized biocatalysts - from simple to complex systems*. Trends in Biotechnology 3(6) (1985) 149-153.
- [40] Illanes A., Altamirano C. *Enzyme reactors*. En: Illanes A. (ed) Enzyme biocatalysis: Principles and applications. Springer Netherlands (2008) 205-251.
- [41] Poppe J., Fernandez-Lafuente R., Rodrigues R., Ayub M., *Enzymatic reactors for biodiesel synthesis: Present status and future prospects*. Biotechnology Advances 33 (2015) 511-525.
- [42] Paula A., Nunes G., de Castro H., Santos J. *Synthesis of structured lipids by enzymatic interesterification of milkfat and soybean oil in a basket-type stirred tank reactor*. Industrial & Engineering Chemistry Research 54 (2015) 1731-1737.
- [43] Ilyasoglu H., Gultekin-Ozguven M., Ozcelik B. *Production of human milk fat substitute with medium-chain fatty acids by lipase-catalyzed acidolysis: Optimization by response surface methodology*. LWT - Food Science and Technology 44 (2011) 999-1004.
- [44] da Silva R., Schaffer De Martini Soares F., Hazzan M., Capacla I., Almeida Goncalves M., Gioielli L. *Continuous enzymatic interesterification of lard and soybean oil blend: Effects of different flow rates on physical properties and acyl migration*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 76 (2012) 23-28.
- [45] Moreno Safra N., Perea Villamil A., *Producción de lípidos estructurados por transesterificación enzimática del aceite de soja y aceite de palmiste en reactor de lecho empacado*. Grasas y Aceites 59 (4) (2008) 337-345.

- [46] Carrín M.E., Crapiste G.H., *Enzymatic acidolysis of sunflower oil with a palmitic-stearic acid mixture*. Journal of Food Engineering 84 (2) (2008) 243-249.
- [47] Foresti M.L., Ferreira M.L., *Lipase-catalyzed acidolysis of tripalmitin with capric acid in organic solvent medium: Analysis of the effect of experimental conditions through factorial design and analysis of multiple responses*. Enzyme and Microbial Technology 46 (2010) 419-429.
- [48] Sánchez D., *Síntesis enzimática de acilglicéridos de alto valor nutricional*. Tesis doctoral en Ingeniería Química (2018), Universidad Nacional del Sur.
- [49] Klinkesorn U., H-Kittikun A., Chinachoti P., Sophanodora P., *Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids*. Food Chemistry 87 (2004) 415-421.
- [50] Konishi H., Neff W.E., Mounts T.L., *Chemical interesterification with regioselectivity for edible oils*. Journal of the American Oil Chemists Society 70 (4) (1993) 411-415.
- [51] Hurtová S., Schmidt S., Zemanovic J., Simon P., Skretar S., *Random interesterification of fat blends with alkali catalysts*. Fett / lipids 98 (1996) 60-65.
- [52] List G.R., Emken E.A., Kwolek W.F., Simpson T.D., Dutton H.J., *"Zero trans" Margarines: Preparation, Structure, and Properties of Interesterified Soybean Oil-Soy Trisaturate Blends*. Journal of the American Oil Chemists Society 54 (1977) 408-413.
- [53] D'Agostini D., Cima Ferraz R., Gioielli L., Sotero Solis V., *Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación de las mezclas binarias y ternarias de las grasas de palma, semilla de palma y triglicéridos de cadena media*. Grasas y Aceites 52 (3-4) (2001) 214-221.
- [54] Díaz Gamboa O., Gioielli L., *Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación química y enzimática a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste*. Grasas y Aceites 54 (2) (2003) 161-168.
- [55] Chakrabarty M., Talapatra K., *Studies in Interesterification. II. Acidolysis of some Vegetable Oils with Acid Lauric*. Journal of the American Oil Chemists Society 45 (1968) 172-175.
- [56] Normann, W. Verfahren zur Herstellung von gemischten Glyceriden, German Patent 407180 (1924).

- [57] Schwartz G.L., *Mixed esters of lower and higher fatty acids and process of making same*, U.S. Patent 1,558,299 (1925).
- [58] Niewiadomski, H. (1990). Primary processing. In H. Niewiadomski (Ed.), *Rapeseed Chemistry and Technology*: Elsevier, PWN-Polish Scientific Publishers.
- [59] Carlston E.F., *Acidolysis of vegetable and marine oils with phthalic acids*. *Journal of the American Oil Chemists Society* 37(7) (1960) 366-371.
- [60] Meade E.M., Walder D.M., *The acetolysis of glycerides. I. Preliminary investigation and approximate kinetics*. *Journal of the American Oil Chemists Society* 39(1) (1962) 1-3.
- [61] Antunes W., de Oliveira Veloso C., Henriques C., *Transesterification of soybean oil with methanol catalyzed by basic solids*. *Catalysis Today* 133-135 (2008) 548-554.
- [62] Kouzu M., Kasuno T., Tajika M., Sugimoto Y., Yamanaka S., Hidaka J., *Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and its application to biodiesel production*. *Fuel* 87 (2008) 2798-2806.
- [63] López D. E., Goodwin Jr. J.G., Bruce D.A., Lotero E., *Transesterification of triacetin with methanol on solid acid and base catalysts*. *Applied Catalysis A: General* 295 (2005) 97-105.
- [64] Suwannakarn K., Lotero E., Goodwin Jr J., Lu C., *Stability of sulfated zirconia and the nature of the catalytically active species in the transesterification of triglycerides*. *Journal of Catalysis* 255 2 (2008) 279-286.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Introducción

En este capítulo se presentará una descripción detallada de los materiales utilizados y los métodos de preparación empleados en la realización de los distintos ensayos, llevados a cabo para obtener los resultados experimentales que se mostrarán en los siguientes capítulos.

Aquí se describirá en detalle el proceso de síntesis de cada catalizador, además se presentará el sistema de reacción y las condiciones de operación usadas. Se describirán las condiciones cromatográficas empleadas en la determinación de triglicéridos y ácidos grasos mediante cromatografía gaseosa. Por último, se realizará una reseña de las técnicas, del equipamiento experimental y las condiciones de operación utilizados en la caracterización de los catalizadores y grasas empleadas y obtenidas.

2.2. Materiales

La descripción en detalle de los reactivos, solventes, drogas, gases y estándares cromatográficos utilizados en el desarrollo experimental de esta tesis, se puede consultar en el *Anexo A*.

En este trabajo se seleccionaron como reactivos para investigar la síntesis de TE por la reacción de acidólisis: tripalmitina (PPP), ácido cáprico (C) y ácido caproico (C). La elección de los ácidos grasos se realizó teniendo en cuenta las características funcionales que imparten al producto final. La tripalmitina es un triglicérido con ácidos grasos de cadena de 16 carbonos, que ha sido ampliamente estudiado en la reacción de acidólisis por interesterificación enzimática. Por ejemplo, Yang y col. [1] investigaron la reacción entre tripalmitina y ácido linoleico conjugado (CLA) o ácido caprílico para obtener sustitutos de grasas de la leche materna. Con el mismo objetivo, Sahin y col. [2]

estudiaron la acidólisis de tripalmitina con ácidos grasos provenientes del aceite de avellana y ácido esteárico, catalizada por Lipozyme RM IM. Por su parte, Guncheva y col. [3] reportaron resultados sobre la acidólisis de tripalmitina con ácido oleico catalizada por la lipasa termoestable MC7 (de *Bacillus stearothermophilus*).

Por su parte, uno de los ácidos grasos más investigado en la reacción de interés es el ácido cáprico, debido a las propiedades que le confiere al TE final. Es un ácido graso saturado de cadena media, cuya fórmula es $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$. Existen variados reportes de la utilización de este ácido, por ejemplo, en la acidólisis de manteca de cerdo en solventes orgánicos [4]. También se lo ha estudiado como modificador del aceite de pescado [5], y en la acidólisis de grasa de foca [6].

El ácido caproico o hexanoico es un ácido carboxílico con seis carbonos ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$). Este ácido de cadena corta ha sido aplicado en la síntesis de TE. Se pueden citar la reacción con aceite de colza catalizada por Lipozyme RM IM [7] y la modificación enzimática de trioleína catalizada por la lipasa de *Rhizomucor miehei* inmovilizada (IM 60) para producir TE reducidos en calorías [8].

Puede notarse que estos reactivos suscitan interés en la síntesis de TE, pero no hay reportes del uso de la aplicación de catálisis heterogénea.

2.3. Métodos

2.3.1. Preparación de los catalizadores

Los catalizadores sólidos ácidos empleados en esta tesis fueron preparados mediante distintos métodos como inmersión e impregnación a humedad incipiente. A continuación, se presentan los catalizadores investigados y se describen las metodologías

de síntesis. Como se hizo mención anteriormente, la implementación de catalizadores heterogéneos en la reacción de acidólisis para la obtención de triglicéridos estructurados es un aporte novedoso, ya que, hasta el momento la bibliografía disponible sólo reporta la aplicación de catálisis enzimática u homogénea por esta ruta de síntesis, excepto el trabajo de Chakrabarty y col. [9] descrito en el *Capítulo 1*.

2.3.1.1. Óxido de Niobio

El óxido de niobio o niobia (Nb_2O_5) ha sido ampliamente utilizado como catalizador en reacciones como, por ejemplo, la esterificación [10] y la transesterificación para la producción de biodiesel [11,12,13] y la reacción de inversión de azúcares [14].

Este catalizador ácido presenta como característica distintiva una alta fuerza ácida ($H_0 \leq -5,6$) aun cuando es calcinado a relativamente bajas temperaturas (100-300°C) [15]. Su área superficial disminuye al incrementarse la temperatura de calcinación (*Figura 2.1*) [16]. En este trabajo, con la finalidad de obtener un área relativamente alta y una estructura estable, la muestra fue sometida a un tratamiento térmico de 300°C durante un período de 2 h.

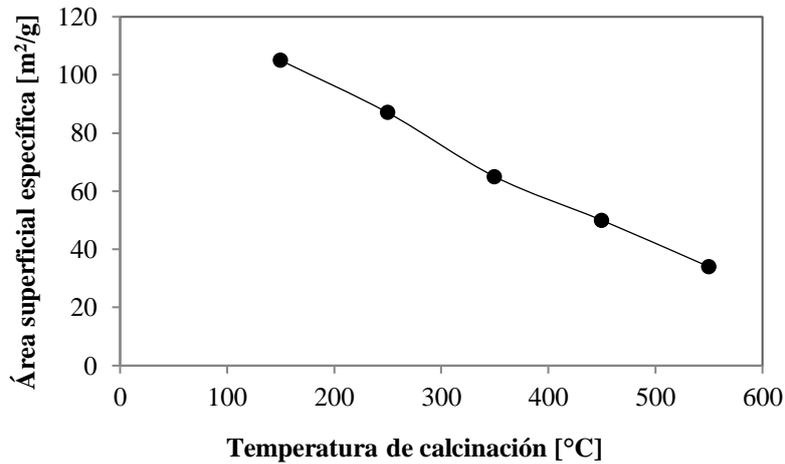


Figura 2.1. Efectos del tratamiento térmico sobre el área superficial de la Nb₂O₅ [16].

2.3.1.2. *Niobia Sulfatada*

Los sólidos obtenidos por tratamiento del óxido de niobio con ácidos inorgánicos, tales como los ácidos fosfórico y sulfúrico, son conocidos por tener una gran acidez, pero son poco utilizados como catalizadores ácidos en reacción. De hecho, solo se han encontrado referenciados en la producción de biocombustibles [13] y en esterificación de etanol con ácido acético [17].

El agregado de azufre a la muestra de Nb₂O₅ se realizó por el método de inmersión. El sólido se introdujo en una solución de H₂SO₄ 2N (15 ml de solución por gramo de catalizador) durante 3 h, bajo agitación y a temperatura ambiente. Luego fue filtrado, y sin lavar, se secó en estufa de vacío a 70°C durante 48 h y se calcinó en flujo de aire cromatográfico durante 4 h a 500°C. En la presente tesis, este catalizador será denominado S-Nb₂O₅.

2.3.1.3. Óxido de Zirconio

A fin de obtener el óxido de zirconio o zirconia (ZrO_2) se comenzó por sintetizar el hidróxido de zirconio ($Zr(OH)_4$), siguiendo la técnica descrita por Chen y col. [18]. Como sal precursora se empleó cloruro de zirconilo octahidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$). Para la obtención del hidróxido de zirconio, 32 g de la sal precursora fueron disueltos en 250 cm^3 de agua destilada (0,4 M) a temperatura ambiente. A dicha solución se le agregó gota a gota y agitando vigorosamente una solución de NH_4OH (28% en NH_3) hasta llegar a pH 10. Una vez obtenido el precipitado, sin envejecimiento previo, se filtró y luego se lavó con agua bidestilada hasta la eliminación total del ión cloruro. Para verificar la presencia de dicho ión se preparó una solución 0,1 M de $AgNO_3$. Este compuesto interacciona con el ión cloruro dando un precipitado con cierta turbidez ($AgCl$). La fase sólida resultante se dejó 24 h en estufa a 110°C. Luego, para obtener el óxido se calcinó a 600°C por 4 h bajo corriente de aire.

2.3.1.4. Zirconia Sulfatada

Las zirconias sulfatadas son reconocidas por su superacidez [18,19,20]. Se define como superácido a aquel sólido cuya acidez (o fuerza ácida) es mayor que la del H_2SO_4 al 100% [21], o sea aquella sustancia que presenta un $H_0 < -11,9$ de acuerdo a la valoración de Hammett. Las zirconias sulfatadas han sido ampliamente usadas como catalizadores en la reacción de esterificación de ácidos grasos con alcoholes de cadena corta para la producción de biodiesel [22,23,24].

La estructura cristalina y la actividad de las zirconias sulfatadas dependen significativamente del tipo de precursor y del agente sulfatante utilizado, del método de sulfatación y de la temperatura de calcinación, entre otras cosas [18]. Pequeñas

variaciones en cualquiera de estas condiciones pueden alterar drásticamente las propiedades catalíticas finales.

Varios métodos han sido reportados para la preparación de estos catalizadores en la literatura. Los mismos pueden clasificarse en dos categorías: (1) métodos en dos pasos, y (2) métodos en una etapa. El primero corresponde a la precipitación seguida por la impregnación, mientras que el otro método recibe el nombre de sol-gel. La técnica sol-gel permite un buen control del tamaño y la morfología de las partículas resultantes [25,26,27,28]. Por otra parte, la metodología en dos pasos se caracteriza por su sencillez y menor costo, y fue la aplicada en este trabajo. La *Figura 2.2* ilustra en forma esquemática el proceso de obtención del catalizador por dicho método. El mismo incluye una primera etapa de preparación de $Zr(OH)_4$ seguido por una segunda etapa de sulfatación del mismo.

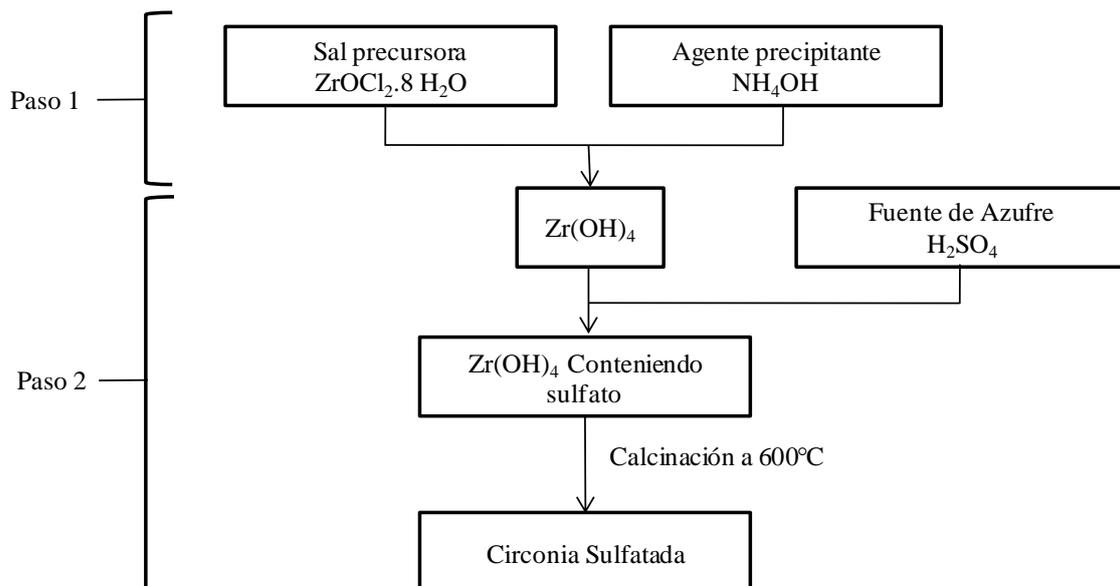


Figura 2.2. Procedimiento de preparación de las circonias sulfatadas por el método en dos pasos.

Para obtener las muestras de circonias sulfatadas, se emplearon distintos métodos de sulfatación y diferentes fuentes de azufre. Entre estas últimas, se reportan en la bibliografía una extensa variedad de compuestos, tales como SO_2 , SO_3 , CS_2 , H_2S , SO_2Cl_2 , H_2SO_4 y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [29,30,31]. En el caso particular de esta tesis se utilizó H_2SO_4 y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. En total se prepararon cuatro catalizadores sulfatados (denominados ZS-A, ZS-B, ZS-C y ZS-D) los cuales fueron clasificados en dos grupos:

* *Grupo 1:* Para obtener estos catalizadores se empleó un único método de sulfatación variándose la fuente de azufre.

El método de sulfatación empleado para obtener las muestras ZS-A y ZS-B, fue una modificación al método de inmersión con posterior evaporación seguido por Katada y col. [19]. Se puso en contacto el $\text{Zr}(\text{OH})_4$ (obtenido según se describió en la *Sección 2.3.1.3*) con la solución impregnante durante 1 h, bajo agitación. Luego se procedió a evaporación suave en placa calefactora hasta sequedad. Se dejó 2 h a temperatura ambiente y se llevó a estufa por 24 h a 110°C . En el caso de la ZS-A se empleó como solución impregnante una solución 0,25 M de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, mientras que para obtener la muestra ZS-B, la fuente de azufre fue H_2SO_4 en una concentración 0,5 N. Cabe aclarar que estas dos muestras fueron utilizadas por García [32] en su trabajo experimental.

* *Grupo 2:* Para obtener estas muestras se emplearon distintos métodos de sulfatación, pero la misma fuente de sulfato.

En el caso de la muestra ZS-C, el método aplicado fue la impregnación a humedad incipiente. Una determinada masa de $\text{Zr}(\text{OH})_4$ fue impregnada con un volumen de solución igual a su volumen de poro, más un 10% en exceso. La solución impregnante que se utilizó fue H_2SO_4 2 N. La misma se agregó gota a gota al soporte mientras se

homogeneizaba con espátula. La pasta húmeda obtenida se dejó secar a temperatura ambiente por 3 h y luego se llevó a estufa a 110°C durante toda la noche.

Para obtener la muestra ZS-D, el método de sulfatación empleado fue el de inmersión. El $\text{Zr}(\text{OH})_4$ seco se sulfató con H_2SO_4 0,5 N (se emplearon 15 ml de esta solución por gramo de catalizador). El soporte se dejó en contacto con el líquido con agitación durante 2 h. El precipitado fue separado por filtración y sin lavado posterior se secó a 110°C durante 24 h.

Las cuatro muestras de circonias sulfatadas se calcinaron en horno a 600°C por un período de 4 h bajo corriente de aire.

2.3.2. Sistema de reacción y condiciones de operación

Las reacciones de acidólisis se llevaron a cabo en viales de vidrio de 2 ml, con cierre a rosca, con agitación magnética y en ausencia de solvente. Cada vial se consideró como un reactor discontinuo.

Los reactivos y el catalizador, recibieron un tratamiento previo a la reacción. En el caso de los reactivos PPP y C, fueron llevados a estufa por 30 minutos a una temperatura de 40°C bajo presión reducida (30 pulgadas de Hg), proporcionada por una bomba de vacío, para la remoción de trazas de humedad. En caso de quedar agua remanente del pretratamiento, en forma paralela a la reacción de acidólisis, puede producirse la reacción de hidrólisis, que genera monoglicéridos, diglicéridos y glicerol, afectando negativamente la selectividad (*Figura 2.3*). Sobre el catalizador se realizaron dos pretratamientos distintos. En un caso (A), el sólido fue pesado junto con los reactivos en el mismo vial y pretratado de la misma manera que se describió anteriormente (a

40°C). En otro caso (B), el catalizador fue calentado en un horno a 400°C en corriente de nitrógeno por un período de 45 minutos.

Posteriormente al secado en estufa, el agitador magnético y el catalizador (en el caso (B)) fueron agregados a cada vial. Cabe aclarar que, el traspaso del catalizador al vial se realizó en corriente de nitrógeno. En forma seguida, los viales se transferían a una cámara de nitrógeno por 30 minutos para eliminar oxígeno, de manera de evitar la posible oxidación de las grasas. Como se sabe, existen ciertos factores como la composición de los ácidos grasos, la concentración de oxígeno y la temperatura, que influyen en la velocidad de oxidación de los lípidos. Los ácidos grasos libres son más susceptibles a la oxidación que los ácidos grasos que se encuentran esterificados al glicerol. Tanto los ácidos grasos saturados como los insaturados experimentan descomposición cuando son expuestos al calor en presencia de oxígeno. Aunque la oxidación de los ácidos grasos saturados es extremadamente lenta a temperatura ambiente, a altas temperaturas también pueden experimentar una descomposición significativa [33].

En el desarrollo de este trabajo experimental se han obtenido, mediante la reacción de acidólisis, TE reducidos en calorías por la combinación un triglicérido con ácidos grasos de cadena larga como la tripalmitina y un ácido graso de cadena media como el ácido cáprico. Los TE obtenidos en este caso fueron los resultantes del intercambio de uno o dos ácidos palmíticos por ácidos cápricos (PPC y PCC) junto a sus estereoisómeros (PCP + CPP y CPC + CCP). Como se indicó en el *Capítulo 1*, se obtiene una distribución aleatoria de los ácidos grasos incorporados en el esqueleto de glicerol. Se debe destacar que no se detectó la formación de tricaprina (CCC) en ninguna reacción estudiada.

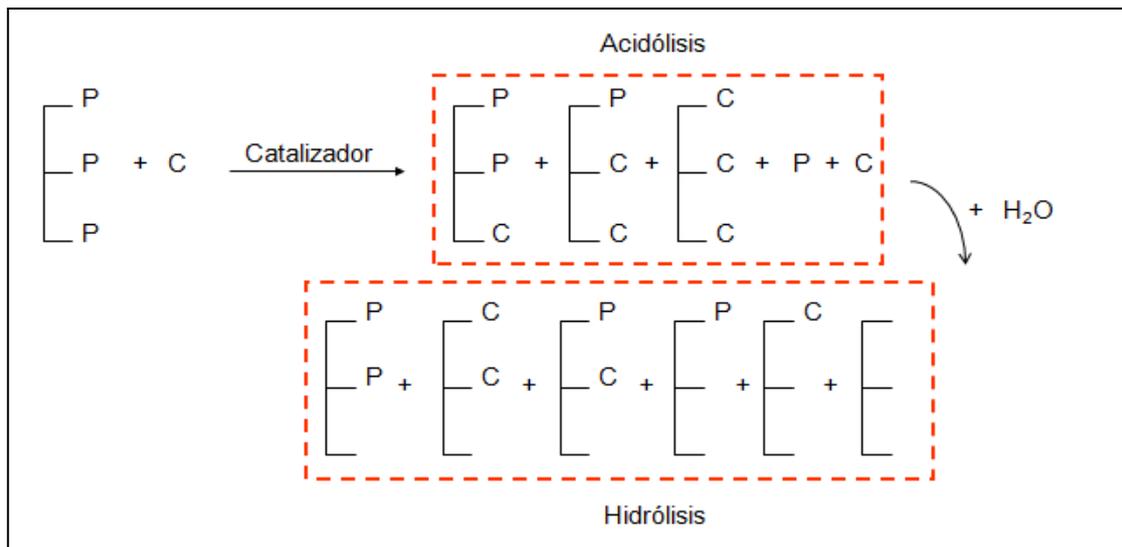


Figura 2.3. Posibles productos para la reacción de acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico e hidrólisis (no se muestran los isómeros estereoespecíficos).

También se investigó la acidólisis de tripalmitina con ácido caproico, un ácido graso de cadena corta. Previo a la reacción, el reactivo PPP y el catalizador, fueron llevados a estufa por 30 minutos a una temperatura de 40°C sobre presión reducida (30 pulgadas de Hg), proporcionada por una bomba de vacío, para la remoción de trazas de humedad. Posteriormente, el agitador magnético, y C fueron agregados al vial. El ácido graso fue agregado después debido a que es líquido a temperatura ambiente. En forma consecuente, el vial fue transferido a una cámara de nitrógeno por 30 minutos para eliminar oxígeno.

De manera análoga a la reacción presentada en la *Figura 2.3*, los productos de reacción obtenidos en ese caso fueron PPC y PCC junto a sus estereoisómeros (PCP + CPP y CPC + CCP). En este caso tampoco se detectó la formación la tricaproina (CCC), triglicérido formado por el intercambio de tres ácidos palmíticos por tres ácidos hexanoicos.

En la *Figura 2.4 (a)* puede observarse una fotografía del sistema de reacción utilizado. El mismo contaba de una base de bronce provista con 6 orificios en los que cabían perfectamente los viales de reacción. Esta base, que estaba provista de un cartucho calefactor de 100 W de potencia, era colocada sobre una placa agitadora que brindaba una agitación controlada. La temperatura del sistema fue medida por una termocupla tipo J y controlada por un controlador de temperatura. Es importante destacar que se verificó previamente la uniformidad térmica y el buen mezclado en todos viales del dispositivo de reacción. En la *Figura 2.4 (b)* se observa un esquema en el que se detalla la distribución de los seis viales sobre la base.

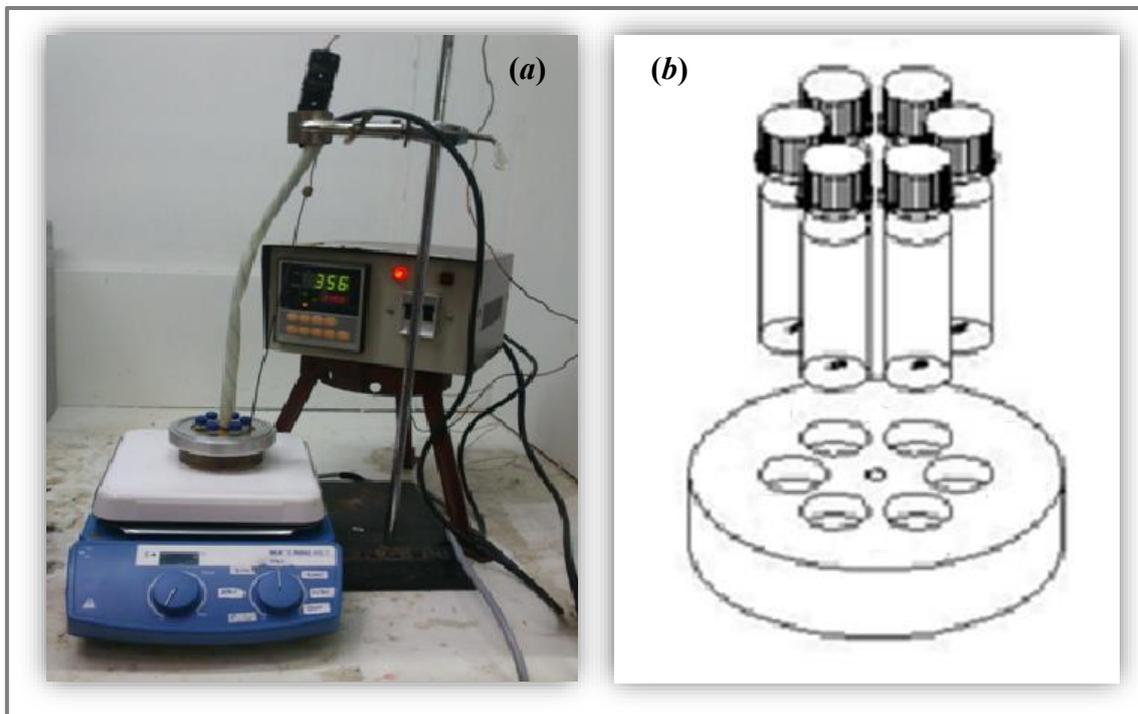


Figura 2.4. (a) Fotografía del sistema de reacción utilizado en los ensayos de actividad catalítica, (b) Esquema del dispositivo calefactor y viales de reacción.

La toma de muestra de cada vial se realizó mediante pipetas plásticas tipo Pasteur. Se debe tener en cuenta que la muestra a temperatura ambiente se presentaba en estado sólido, con lo cual se debe considerar que el fenómeno de fraccionamiento. Este

fenómeno se genera por la separación de los componentes de las grasas en función de su solubilidad y su punto de fusión, por lo que, la muestra debió ser derretida en estufa a 80°C y agitada vigorosamente a fin de obtener una muestra de reacción homogénea y representativa del sistema de reacción.

En la *Tabla 2.1* se muestran las variables de operación involucradas en la reacción, y el rango de valores usados.

Tabla 2.1. Condiciones de operación utilizadas en reacción.

Variable de operación	Rango de trabajo
Temperatura de reacción	160 - 200°C
Relación molar C:PPP	2:1 - 6:1
Porcentaje másico de catalizador*	3 - 5 %
Velocidad de agitación	750 rpm

*Respecto a la masa de PPP

A continuación, se presentará una breve explicación sobre la elección de los valores adoptados para cada variable involucrada en reacción:

* *Temperatura:* La temperatura de reacción fue elegida considerando que, en general, otras reacciones de esterificación y transesterificación (alcoholisis e interesterificación) catalizadas por sólidos inorgánicos se llevan a cabo entre 60 y 200°C [9,34,35]. Otro aspecto considerado fue el punto de ebullición de los reactivos. En el caso del ácido caproico es 203°C [36], para el ácido cáprico es 270°C [37], y para la tripalmitina el valor es de 315°C [38], según las hojas de especificación de los diferentes reactivos.

* *Relación molar:* El rango investigado para la relación molar C:PPP fue elegido considerando el estudio sobre la reacción de transesterificación química llevada a cabo por Klinkesorn y col. [39], quienes obtuvieron que la mayor incorporación de ácido EPA y DHA al aceite de atún ocurría con una relación molar de 4:1.

* *Porcentaje de catalizador:* Se tomó como base la masa de PPP. El rango de trabajo se eligió considerando resultados preliminares del grupo de trabajo [40]. Se debe destacar que, en dicho trabajo, el porcentaje másico de catalizador fue considerado respecto a la masa total de sustratos.

* *Velocidad de agitación:* El valor de 750 rpm fue elegido en base a resultados de ensayos realizados para determinar posibles problemas de transferencia de masa externa. Estos consistieron en variar la velocidad de agitación manteniendo el resto de las condiciones constantes (*Capítulo 4 Sección 4.3.1*).

* *Masas de reactivos:* Las cantidades utilizadas de PPP y C quedaron sujetas al tamaño del reactor (vial de 2 ml). Como ejemplo, para una relación molar 4:1, se utilizaron 250 mg de PPP y 213,4 mg de C. En algunos casos, como en los ensayos para evaluar el reuso del catalizador, las masas de reactivos se duplicaron.

* *Tiempo de reacción:* Para realizar el seguimiento de la reacción en el tiempo se realizaron experiencias a 4, 8, 12, 16, 20 y 24 h. Para determinar las composiciones de equilibrio, el tiempo de reacción fue de 48 y 72 h. Para cada tiempo se utilizó un vial distinto.

Las reacciones en todos los casos se realizaron por duplicado, por lo que, los resultados se informaron como un promedio de ambas. Se debe destacar que se encontró gran reproducibilidad en los resultados experimentales.

Además, se realizaron ensayos en ausencia de catalizador. Las condiciones operacionales fueron: temperatura = 180°C, relación molar C:PPP = 4:1. Los resultados serán presentados en el *Capítulo 4 Sección 4.4*.

2.3.3. Análisis cromatográficos

2.3.3.1. Condiciones cromatográficas

Para el análisis de productos y reactivos se utilizó un cromatógrafo gaseoso AutoSystem XL marca Perkin Elmer, equipado con un detector de ionización de llama (FID), un inyector on-column y una columna capilar de polaridad media modelo DB-17HT de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 0,15 µm de espesor de película (J&W Scientific de Agilent Technologies), con una precolumna de alta temperatura de 0,53 mm de diámetro interno y 11,8 m de longitud. Se trata de una columna especialmente probada para la separación de triglicéridos, los cuales son resueltos por el número de carbonos o peso molecular. Cabe aclarar que la misma no logra la separación de los isómeros de posición de los TE, por lo que en los resultados se informan la suma de ellos (PPC + PCP + CPP y PCC + CPC + CCP). Aunque la columna es utilizada principalmente para cuantificar triglicéridos, los ácidos grasos obtenidos de la reacción de acidólisis, ácido palmítico (ácido graso liberado) y ácido cáprico (ácido graso sin reaccionar) son separados por la misma.

Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron en 110°C y 380°C, respectivamente. La temperatura inicial del horno se mantuvo en 80°C por 1 min, luego se incrementó a 250°C con una velocidad de 40°C/min, manteniéndose así por 6 min, y por último se aumentó a 350°C a una velocidad de 10°C/min, manteniéndose durante 5 min. El gas carrier empleado fue H₂, la presión en la columna se mantuvo en 15 psi. La

adquisición y procesamiento de datos fueron realizados con el software de integración Total Chrom Navigator.

En la determinación de triglicéridos por cromatografía gas-líquido, la bibliografía recomienda el uso de la inyección on-column [41,42,43,44]. Se caracteriza por generar excelente precisión y exactitud en muestras que contienen compuestos poco volátiles de alto peso molecular.

2.3.3.2. *Determinación de triglicéridos y ácidos grasos*

La columna utilizada en este estudio, como se dijo, es específica para la separación de triglicéridos. Esta separación es por pesos moleculares en combinación con su polaridad. Esto se ejemplifica en la separación de triglicéridos de la manteca reportado por el proveedor de la columna [45]. En dicha separación se muestra que la elución de los triglicéridos sigue el orden de su peso molecular para los triglicéridos saturados, mientras que, para los triglicéridos insaturados de similar número de átomos de carbono, los más insaturados son los más retenidos.

En el caso de la presente tesis, las reacciones de acidólisis catalizadas por sólidos heterogéneos dieron lugar a los triglicéridos PPC y PCC en el caso de ácido cáprico, y PPÇ y PÇÇ para el ácido caproico.

Cuando se utilizó ácido cáprico, el orden en que se produjo la elución de los distintos triglicéridos, en términos de tiempos de retención en la columna, fue la siguiente:



Y en el caso de ácido caproico fue:



En las figuras que se presentan a continuación, se muestran dos cromatogramas típicos de reacción. En ellas se pueden ver picos identificados de productos y reactivos sin reaccionar para las reacciones de acidólisis de PPP con C (*Figura 2.5*) y PPP con \mathcal{C} (*Figura 2.6*).

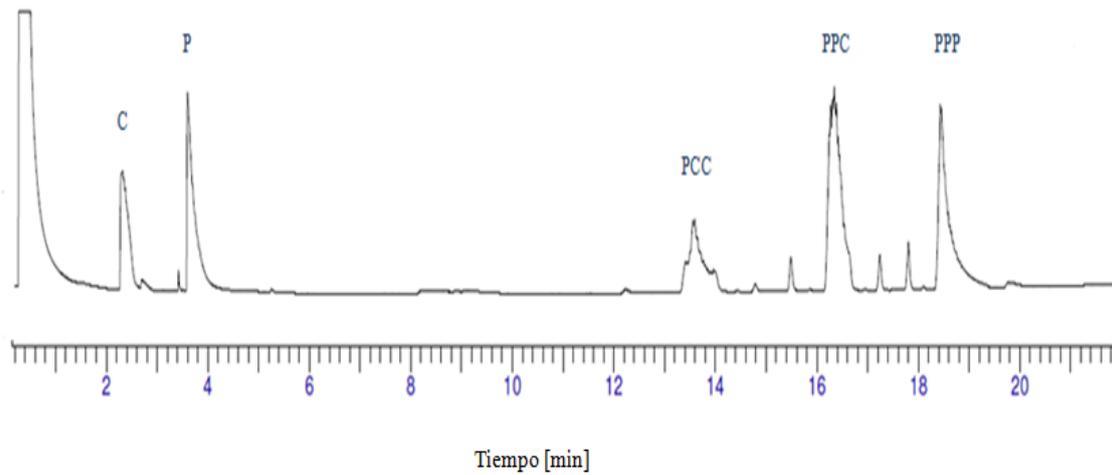


Figura 2.5. Cromatograma de productos y reactivos en la acidólisis de tripalmitina (PPP) con ácido cáprico (C).

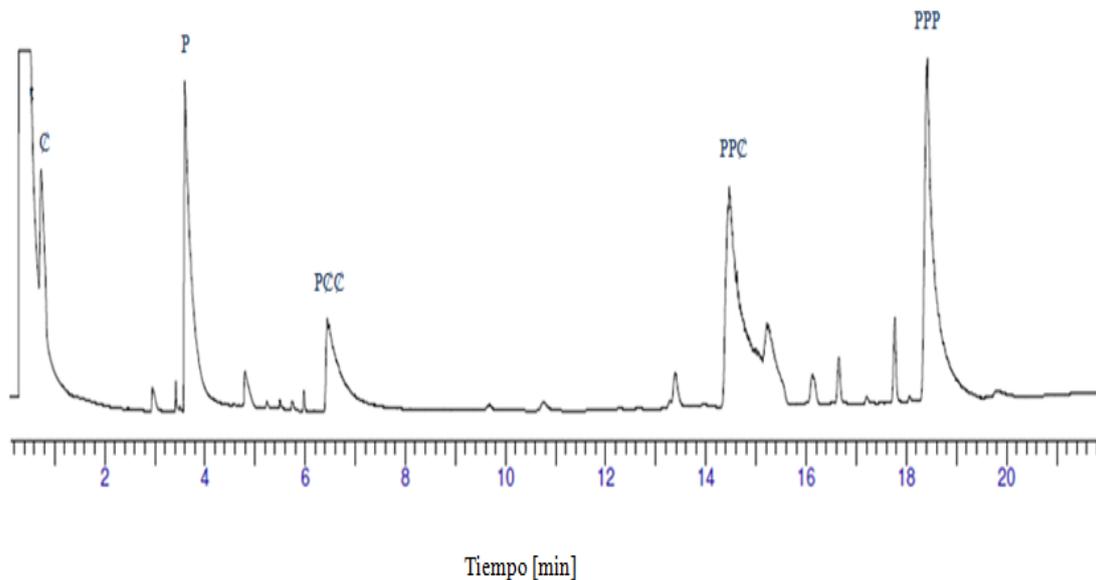


Figura 2.6. Cromatograma de productos y reactivos en la acidólisis de tripalmitina (PPP) con ácido caproico (\mathcal{C}).

Para complementar la información brindada por los cromatogramas anteriores, la *Tabla 2.2* presenta datos específicos en relación a cada especie.

Tabla 2.2. Datos complementarios para reactivos y productos.

Especie	n° de átomos			Peso Molecular	Tiempo retención [min]	Corresponde a
	C	H	O			
Ø	6	12	2	116,16	0,7	Reactivo
C	10	20	2	172,26	2,4	Reactivo
P	16	32	2	256,42	3,6	Subproducto
PØØ*	31	58	6	526,80	6,3	Producto
PCC*	39	74	6	639,0	13,7	Producto
PPØ*	41	78	6	667,07	14,3	Producto
PPC*	45	86	6	723,16	16,4	Producto
PPP	51	98	6	807,35	18,6	Reactivo

* Considerar sus isómeros estereoespecíficos.

2.3.3.3. Curva de calibración

Existen distintos métodos para realizar una calibración, en este caso en particular se utilizó el método del estándar externo, el cual consistió en inyectar en el equipo volúmenes constantes de disoluciones conocidas y crecientes de los compuestos que se deseaban cuantificar.

Se emplearon los estándares cromatográficos OOO (tricaprilina), CCC, LLL (trilaurina), MMM (trimiristina) y PPP. Para preparar la solución patrón necesaria para realizar la curva de calibración, se pesaron 10 mg de cada estándar y se llevó a volumen en matraces aforados de 10 ml. Como solvente se utilizó di-iso-propil-éter (DIPE). De

cada matraz se tomaron 5 ml, que fueron mezclados y guardados en un vial con una válvula especial que evitaba su evaporación. Para obtener los puntos de la curva de calibración se inyectaron distintos volúmenes (0,3; 0,4; 0,5; 0,8; 1; 2; 3 y 4 μ l) de la solución patrón. En todos los casos, las inyecciones se hicieron por duplicado. Se tomaron las debidas precauciones para lograr la reproducibilidad de las inyecciones, considerando un estricto control de las cantidades inyectadas, con lo cual se alcanzó una exactitud notablemente alta. La calibración debió ser repetida periódicamente para verificar la factibilidad de la cuantificación. En la *Figura 2.7* se pueden observar los cromatogramas con los picos correspondientes a los estándares utilizados. En la *Tabla 2.3* se muestran los datos más destacados para los estándares citados.

Tabla 2.3. Datos complementarios para los distintos estándares.

Estándar	n° de átomos			Peso Molecular	Tiempo retención [min]
	C	H	O		
OOO	27	50	6	470,68	5,3
CCC	33	62	6	554,84	7,7
LLL	39	74	6	639,0	13,6
MMM	45	86	6	723,16	16,3
PPP	51	98	6	807,35	18,6

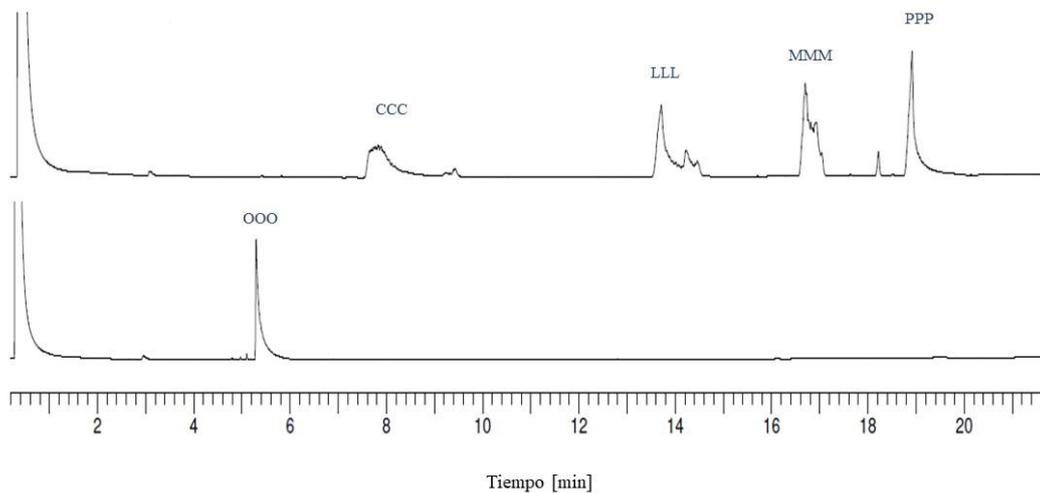


Figura 2.7. Cromatograma de los estándares utilizados en la calibración.

Para cada estándar se representó gráficamente, la masa del compuesto inyectado vs. el área promedio del pico cromatográfico, obteniéndose como resultado una línea recta. El factor de respuesta (FR) del compuesto i se calculó según la siguiente expresión:

$$FR_i = \frac{A_i}{M_i} \quad (\text{Ec. 2.1})$$

donde A_i es el área del pico cromatográfico y M_i es la masa, ambos correspondientes al compuesto i .

Para los TE sintetizados PCC y PPC, al no encontrarse disponibles los correspondientes estándares comerciales, se utilizaron estándares de alta pureza con el mismo peso molecular. De esta manera, el estándar LLL, que posee un peso molecular de 639 g/mol, fue elegido para cuantificar al pico correspondiente a PCC (639 g/mol). A su vez, el estándar MMM fue el elegido por tener el mismo peso molecular (723,16 g/mol) que PPC.

La cuantificación de PCC y PPC fue más compleja porque no se hallaban disponibles patrones comerciales que coincidan con los pesos moleculares. Del cromatograma de reacción se determinó que PCC eluye a los 6,3 minutos y PPC a los 14,3 minutos. Para la cuantificación se aplicó el método desarrollado por Jasper [46], para el particionamiento cuantitativo de mezclas complejas de triglicéridos. Se graficó el FR en función del número de átomos de carbono de los grupos acilos (ACN) de cada estándar. La *Figura 2.8 (a)* muestra la curva obtenida experimentalmente. Puede observarse que se encuentra una curva, y no una relación lineal. Este comportamiento, si bien es particular, fue observado también por Jasper (*Figura 2.8 (b)*).

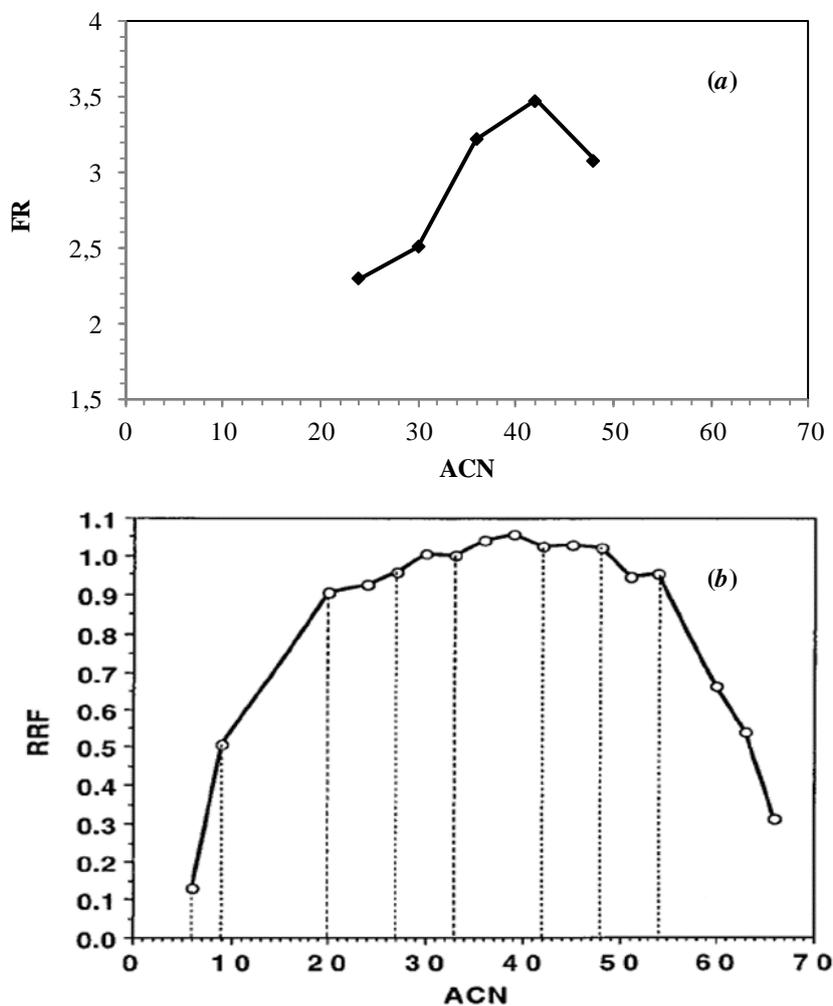


Figura 2.8. Factor de respuesta en función del número de átomos de carbonos de los grupos acilos. *(a)* curva experimental obtenida en este trabajo (FRx10⁶), *(b)* datos correspondientes a Jasper (RRF: Factor de respuesta relativo) [46].

A partir de la curva de calibración presentada en la *Figura 2.8.(a)* fue posible estimar el FR de PCC y PPC, y determinar la masa (o concentración) de estos TG en las muestras de reacción.

2.3.4. Cálculo de conversión y selectividad

En términos generales la conversión (X) del reactivo limitante A se define de la siguiente manera [47]:

$$X_A = \frac{\text{moles de A convertidos}}{\text{moles de A alimentados}} \quad (\text{Ec. 2.2})$$

En el marco de esta tesis, para un reactor discontinuo, la conversión se define respecto a la PPP (reactivo limitante) mediante de la siguiente ecuación:

$$X_{PPP} = \frac{\text{moles iniciales PPP} - \text{moles finales PPP}}{\text{moles iniciales PPP}} * 100 \quad (\text{Ec. 2.3})$$

Por otra parte, la selectividad (S) en términos generales puede definirse:

$$S = \frac{\text{moles de producto formado}}{\text{moles de PPP convertidos}} * 100 \quad (\text{Ec. 2.4})$$

Para los productos PPC, PCC y CCC la selectividad fue calculada con las siguientes expresiones:

$$S_{PPC} = \frac{\text{moles formados PPC}}{\text{moles iniciales PPP} - \text{moles finales PPP}} * 100 \quad (\text{Ec. 2.5})$$

$$S_{PCC} = \frac{\text{moles formados PCC}}{\text{moles iniciales PPP} - \text{moles finales PPP}} * 100 \quad (\text{Ec. 2.6})$$

$$S_{ccc} = \frac{\text{moles formados CCC}}{\text{moles iniciales PPP} - \text{moles finales PPP}} * 100 \quad (\text{Ec. 2.7})$$

2.3.5. Descripción de las técnicas de caracterización, equipamiento experimental y condiciones de operación utilizados

A continuación, se hará una breve descripción de las principales técnicas utilizadas, así como también, de los equipos y condiciones de operación en los que fueron empleados, para obtener los resultados experimentales de caracterización que serán presentados en el siguiente capítulo. Las técnicas utilizadas fueron clasificadas en dos grandes grupos según se aplicaron para la caracterización de los catalizadores o de los reactivos y productos de reacción.

2.3.5.1. Caracterización de los catalizadores

Se debe considerar que las propiedades estructurales y térmicas de un sólido son determinantes en las propiedades catalíticas que éstos posean, ya que éstas se ven afectadas al variar parámetros como área específica, temperatura de cristalización, estructura porosa y naturaleza ácido-base de la superficie [48].

2.3.5.1.1. Propiedades texturales

El estudio de las propiedades texturales de los sólidos proporciona información sobre el área superficial específica, el volumen de poros y la distribución de tamaño de poros, determinados a partir de isothermas de adsorción y desorción de nitrógeno. Estas propiedades son importantes debido a que las reacciones catalíticas son fenómenos

superficiales, que se ven favorecidos por catalizadores de área elevada. A su vez, se debe tener en cuenta que el tamaño de los poros debe permitir la libre difusión de los reactivos hacia el sitio activo y la posterior salida del producto.

Las mediciones de isothermas de adsorción de nitrógeno a -196°C se realizaron en un sistema Nova 1200e Quantachrome. Previo al análisis, y con el fin de limpiar la superficie del sólido, todas las muestras se desgasificaron en vacío a 120°C durante 20 h.

Debido a la naturaleza de los sólidos investigados, para la determinación del área superficial se aplicó el método de Brunauer-Emmett-Teller (BET) y para el tamaño de poro el método de Barrer-Joyner-Halenda (BJH). El volumen de poro se estimó considerando la cantidad de gas adsorbido para una presión relativa próxima a la unidad ($0,995 P/P_0$), suponiendo que los poros están llenos del adsorbato líquido.

2.3.5.1.2. Espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado por inducción

La espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado por inducción (conocida como ICP-AES por su acrónimo en inglés, *inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy*) se basa en la radiación emitida cuando un átomo o ión excitado por absorción de energía de una fuente caliente, se relaja a su estado fundamental. La cantidad de energía emitida dependerá de la cantidad de átomos presentes del metal correspondiente.

El contenido de azufre de los catalizadores analizados se determinó mediante el uso de esta técnica. Puesto que el material debía estar en disolución para poder ser cuantificado, el sólido fue solubilizado en una matriz inorgánica de HF.

Dicho análisis fue realizado en el Laboratorio de Análisis Químicos (LANAQUI) empleando un espectrómetro Shimadzu 9000 Simultáneo de Alta Resolución.

2.3.5.1.3. Difracción de rayos X

Las aplicaciones que la difracción de rayos X (DRX) tiene en el área del estudio de catalizadores son muy variadas, ya que se utiliza para identificar compuestos o especies cristalinas, determinar el tamaño de cristal e inferir el grado de cristalinidad.

Los sólidos fueron caracterizados por esta técnica en un difractómetro Philips PW 1710, con ánodo de cobre y monocromador curvo de grafito, operado a 45 Kv y 30 mA, las intensidades de las líneas de difracción se obtuvieron en un intervalo de 10-70° en la escala 2θ , con intervalo de 0,035°.

La muestra finamente molida, fue colocada en un portamuestra circular. Los difractogramas obtenidos proporcionaron datos como posición, intensidad, forma y tamaño de las líneas de difracción. Para lograr la correcta identificación de las especies cristalinas se emplearon las fichas de compuestos obtenidas de la base de datos internacional (tarjetas ASTM).

Otro parámetro determinado también mediante esta técnica fue el tamaño de cristal, calculado mediante la ecuación de Scherrer (*Ecuación 2.8*). Mediante esta fórmula se puede estimar el tamaño promedio del cristal, si la red cristalina está libre de deformación y los cristales predominan de manera general en la muestra. Se debe tener en cuenta que el ensanchamiento del pico de difracción es originado por el tamaño del cristal de la muestra y por la óptica del instrumento de rayos X.

$$D = \frac{K * \lambda}{\beta * \cos\theta} \quad (\text{Ec. 2.8})$$

donde D representa el tamaño aparente del cristal, K es un factor de forma adimensional (0,9 suponiendo forma esférica para los cristales), β es el ancho del pico de máxima reflexión (en radianes), θ es la mitad de 2θ correspondiente a la señal más intensa y λ es la longitud de onda utilizada en la difracción (1,5406 Å).

2.3.5.1.4. Tamaño y morfología de partículas

2.3.5.1.4.1. Difracción láser

El tamaño y la distribución de tamaño de partículas fue determinada en un equipo de difracción de luz láser Partica LA-950 V2 (Horiba), utilizado en modo húmedo.

Para realizar la determinación, se pesaron 100 mg de catalizador y, con agua destilada, se llevó a volumen en un matraz de 10 ml. Seguidamente se incorporó un agitador con el objetivo de que el catalizador quedase en suspensión y no sedimente. Luego se procedió al llenado de la cámara del equipo con agua destilada, donde posteriormente se colocó gota a gota la suspensión con el sólido a analizar. Se realizaron varias mediciones, cuidando la circulación y la agitación, y eliminando las posibles burbujas presentes en el sistema.

Esta técnica es utilizada por varias razones, entre ellas, porque las determinaciones son rápidas, los resultados presentan reproducibilidad y además no requiere calibración. Las mediciones, por difracción láser, se obtienen a partir de la variación angular de la intensidad de la luz dispersada cuando un rayo láser pasa a través de una muestra de partículas dispersas en un líquido.

Mediante el uso de este instrumento se mide el tamaño medio aritmético en volumen. Este parámetro recibe el nombre de $D_{4,3}$. La ecuación para definirlo se muestra a continuación:

$$D_{4,3} = \frac{\sum V_i^* x_i}{\sum V_i^*} \quad (\text{Ec. 2.9})$$

donde es V_i^* es la fracción del total de partículas que tienen un determinado volumen en un cierto intervalo y x_i es el diámetro medio en ese intervalo.

2.3.5.1.4.2. Microscopía electrónica de barrido

La microscopía electrónica de barrido o SEM, como más comúnmente se le conoce por su acrónimo en inglés (*scanning electron microscopy*) es una técnica muy amplia ya que ofrece información sobre la estructura, morfología, topografía y composición de un material.

La caracterización mediante SEM se efectuó empleando un microscopio electrónico marca LEO EVO 40-XVP, con detector de electrones secundarios. Las condiciones de operación fueron las siguientes: distancia de trabajo de 5 mm, voltaje de aceleración de 10 kV. Se trabajó con distintas magnificaciones 1000x, 5000x, 15000x y 25000x. Con las dos magnificaciones más pequeñas se logró obtener una vista panorámica, mientras que las otras sirvieron para el estudio en detalle de cada muestra. Las muestras en polvo fueron previamente dispersadas sobre una cinta adhesiva conductora de aluminio adherida a un portamuestra metálico. Un flujo de aire comprimido fue aplicado sobre ellas para retirar el exceso de material particulado. Solo en el caso de las circonias sulfatadas y con la finalidad de ver si las partículas lograban diseminarse mejor, las muestras fueron dispersadas en agua y en etanol. Para lograr que las muestras

catalíticas sean conductoras las mismas fueron metalizadas, mediante un recubrimiento de una delgada capa de oro.

2.3.5.1.5. Determinación de la acidez

2.3.5.1.5.1. Titulación potenciométrica

El número total de sitios ácidos de los catalizadores (NTSA) fue determinado por titulación potenciométrica con n-butilamina de acuerdo con el procedimiento reportado por Cid y Pecchi [49]. Además, esta técnica permitió determinar la máxima fuerza ácida (MFA) de los sitios superficiales presente en los sólidos.

El sólido ácido se dispersó en un disolvente y fue titulado con una solución de una base en el mismo disolvente. Se midió el potencial (voltaje) en la suspensión por medio de un electrodo, como función de volumen de agente titulante. El equipo utilizado para esta determinación fue un titulador potenciométrico automático KEM AT-500N. Este equipo pudo ser operado en forma fácil y rápida logrando resultados de medición de alta precisión.

La solución titulante utilizada en todos los casos fue 0,1 N n-butilamina en acetonitrilo. En un recipiente fueron colocados 90 ml de acetonitrilo puro, junto con 50 µl de la solución titulante. A dicha mezcla se adicionaron 50 mg del sólido catalítico previamente tratado a la temperatura seleccionada (40 o 400°C). El sistema se mantuvo en agitación por un período de 3 h. Una vez finalizado el tiempo, la neutralización de los sitios ácidos se realizó adicionando un volumen de la solución titulante. Se tomó lectura del potencial cada vez que se adicionaba dicha solución hasta que se alcanzó un volumen de 2 ml, en cuyo caso se pudo observar que las lecturas no variaban apreciablemente lo cual indicaba el final de la neutralización.

La MFA de los sitios superficiales se estimó a partir del valor del potencial inicial E_0 (en mV) correspondiente al primer punto de titulación. El número total de sitios ácidos se calculó a partir del total de base adicionada hasta alcanzar un valor de potencial constante. Este valor fue determinado mediante el cálculo de la primera derivada de la curva del potencial medido vs. el volumen de base adicionada. La *Tabla 2.4* muestra la clasificación de la naturaleza de la fuerza de los sitios, dependiendo de los rangos característicos del valor de potencial E_0 .

Tabla 2.4. Clasificación de la fuerza de los sitios ácidos como función del valor del potencial inicial (E_0).

E_0	Tipos de Sitios ácidos
$E_0 < -100$ mV	Muy débiles
$-100 < E_0 < 0$ mV	Débiles
$0 < E_0 < 100$ mV	Fuertes
$E_0 > 100$ mV	Muy fuertes

2.3.5.1.5.2. *FT-IR de piridina adsorbida*

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) es empleada por ser una técnica no destructiva. Esta técnica representa, sin duda, una de las herramientas más destacadas en la investigación de la catálisis, ya que siempre ha jugado un papel importante en la caracterización de los catalizadores heterogéneos, debido a que permite monitorear directamente la interacción entre moléculas adsorbidas y el catalizador [50]. El principio del funcionamiento de esta técnica se basa en la excitación de los modos de vibración y rotación de los enlaces entre los átomos al ser irradiados con

un haz de luz infrarroja. Cada especie, según las características de sus enlaces, absorberá radiación de una o varias longitudes de onda específicas, por lo que podrá ser identificada.

En el caso de los sólidos ácidos, determinada la acidez total y la fuerza de los sitios ácidos, resulta fundamental conocer la naturaleza de los sitios, esto es, conocer si el catalizador posee sitios tipo Lewis o Brönsted. Esto es posible analizando el tipo de enlace que se establece entre una molécula sonda, como por ejemplo piridina o amoníaco, y la superficie del sólido, mediante el análisis por espectroscopía infrarroja.

En este trabajo se utilizó piridina como molécula sonda. Los espectros DRIFTS de piridina adsorbida fueron obtenidos con un espectrómetro marca Nicolet 6700 FT-IR, equipado con una ventana divisora de KBr y un detector piroeléctrico de sulfato de triglicina deuterado (DTGS) con una resolución de 4 cm^{-1} y 64 scans. La región de estudio fue de 4000 a 400 cm^{-1} , aunque la zona de mayor interés fue la comprendida entre 1800 a 1400 cm^{-1} .

Se pesaron aproximadamente 13 mg de muestra, la cual fue finamente molida en mortero de ágata y mezclada con 250 mg de KBr. Posteriormente, las muestras fueron pretratadas por 45 min en flujo de nitrógeno a las dos temperaturas (40 y 400°C), para remover contaminantes superficiales y estudiar el efecto del tratamiento térmico sobre la acidez. La adsorción de piridina se realizó a 100°C , exponiendo los catalizadores a un flujo de nitrógeno (20 ml/min) saturado con piridina por 30 min. Luego los sólidos se purgaron con nitrógeno a 100°C por 45 min (a fin de remover la piridina débilmente adsorbida) y se obtuvieron los espectros.

2.3.5.2. *Caracterización de las grasas*

La caracterización de las grasas puede resultar una tarea compleja y extensa. En este trabajo se emplearon técnicas como: resonancia magnética nuclear, calorimetría diferencial de barrido y difracción de rayos X.

La resonancia magnética nuclear permitió determinar el contenido de grasa sólida como función de la temperatura. La calorimetría diferencial de barrido fue empleada para detectar cambios endotérmicos o exotérmicos durante el análisis dinámico de las grasas en función de la temperatura. Por su parte, el análisis por difracción de rayos X permitió determinar las formas cristalinas. Los resultados de dicha caracterización serán presentados en el *Capítulo 6*.

Además, también se utilizó el análisis termogravimétrico para verificar la estabilidad térmica de los reactivos. Estos resultados serán presentados en el *Capítulo 4*.

2.3.5.2.1. *Difracción de rayos X*

Gran parte del conocimiento actual respecto a la estructura cristalina y comportamiento de las grasas deriva de estudios de DRX. En los sólidos cristalinos, los átomos adoptan posiciones rígidas formando una estructura tridimensional, altamente ordenada y repetitiva. En la red cristalina las distancias entre las unidades individuales se encuentran bien definidas y son constantes.

Los triglicéridos generalmente cristalizan en tres formas cristalinas (α , β' y β), con lo cual se dice que presentan polimorfismo. Las formas polimórficas son fases sólidas de la misma composición química que difieren en su estructura cristalina.

Las muestras grasas fueron caracterizadas por DRX en el equipo descrito en la *Sección 2.3.5.1.3*, operado a 45 Kv y 30 mA, las intensidades de las líneas de difracción se obtuvieron en un intervalo de 1,7-60° en la escala 2θ , con intervalo de 0,035°. La determinación se realizó a temperatura ambiente.

La Ley de Bragg (*Ecuación 2.10*) se utilizó para interpretar los difractogramas obtenidos. Dicha ecuación relaciona la longitud de onda del rayo X incidente (λ), con la separación entre planos paralelos (d), y el ángulo de incidencia (θ). Conocido el valor del ángulo (en grados) se pudo calcular el valor de d (en Å), asumiendo que el valor de n (número entero positivo) era igual a 1, y que como fuente de radiación para el equipo se utilizó el elemento cobre, cuya longitud de onda es de 1,542 Å.

$$n * \lambda = 2 * d * \text{sen}\theta \quad (\text{Ec. 2.10})$$

Se aplicaron sobre las muestras grasas diferentes velocidades de enfriamiento con la finalidad de ver qué forma polimórfica se expresaba. Los cuatro tratamientos empleados se describen a continuación:

* *Caso A*: El tratamiento consistió en fundir completamente la muestra a 100°C y dejarla enfriar a temperatura ambiente. Este tratamiento recibirá el nombre de *Enfriamiento Suave* ya que la velocidad promedio alcanzada fue de 4°C/min.

* *Caso B*: Este consistió en fundir completamente la muestra a 100°C y realizar el enfriamiento en heladera (velocidad media de 8°C/min). Este tratamiento será llamado *Enfriamiento Intermedio*.

* *Caso C*: El tratamiento consistió en fundir la muestra a 100°C y enfriarla, para lograr su cristalización, en freezer, con una velocidad media de 12°C/min. Este procedimiento será denominado *Enfriamiento Rápido*.

* *Caso D*: Este análisis se realizó sobre las muestras comerciales CCC y PPP sin tratamiento previo, las cuales se presentaban en forma de polvo y en escamas, respectivamente.

2.3.5.2.2. Calorimetría diferencial de barrido

El análisis térmico puede definirse como un grupo de técnicas en las cuales cierta propiedad física de una sustancia es medida como función de la temperatura, cuando la sustancia está sujeta a un programa de temperatura controlado. De todas estas técnicas, la calorimetría diferencial de barrido (en inglés, *differential scanning calorimetry* o DSC) es una de las más versátiles.

Esta técnica es empleada para monitorear cambios en las propiedades físicas o químicas de los materiales, ya que detecta cambios de calor asociados. El principio de la medición consiste en comparar el flujo de calor aplicado a una muestra y a un material inerte, que se calienta o enfría a la misma velocidad. Los cambios en la muestra asociados con la absorción o eliminación de calor, causan un cambio en el flujo de calor que se registra como un pico [51]. Es decir, los eventos térmicos en la muestra aparecen como desviaciones de la línea de base, en la dirección endotérmica o exotérmica, dependiendo si se suministra o se libera energía en relación a la referencia. Los picos endotérmicos se representarán como picos positivos (por encima de la línea de base), y corresponderán a un aumento en la transferencia de calor a la muestra en comparación con la referencia. Caso contrario, cuando el pico se representa por debajo de la línea de base esto indicará un pico exotérmico. Mediante la calorimetría diferencial de barrido se determina el comportamiento de cristalización y fusión de una grasa. La etapa de cristalización puede

verse como picos exotérmicos, mientras que la etapa de fusión corresponde a picos endotérmicos.

Los estudios de calorimetría diferencial de barrido se realizaron en un equipo Pyris I marca Perkin Elmer. Para llevar a cabo la caracterización, de 12 mg de muestra fueron pesados en una cápsula, la cual fue herméticamente cerrada. Se verificó que la cápsula de referencia se encontraba vacía y limpia, luego ambas cápsulas se colocaron dentro de la cámara del equipo. El programa de temperatura que se aplicó consistió en:

- ✓ Temperatura constante a 15°C por 2 min.
- ✓ Calentamiento de 15 a 100°C a una velocidad de 10°C/min. Este calentamiento se realizó con la finalidad de lograr obtener la muestra líquida relativamente rápido. Esta velocidad se mantuvo constante en todas las corridas.
- ✓ Temperatura constante a 100°C por 5 min, para asegurar que la muestra se encontrara completamente fundida, sin presencia de núcleos en el líquido.
- ✓ Enfriamiento de 100 a 15°C para estudiar la etapa de cristalización. En este caso se aplicaron velocidades de enfriamiento de 4, 8 y 12°C/min.
- ✓ Temperatura constante a 15°C por 2 min.
- ✓ Finalmente, un segundo calentamiento de 15 a 100°C, a una velocidad fija para todas las corridas de 8°C/min. En esta etapa es donde se pueden observar los picos de fusión ya que es necesario borrar la historia térmica de la muestra para ver como funde. Se consideró 8°C/min como velocidad de calentamiento ya que era una velocidad intermedia entre las tres de trabajo.

2.3.5.2.3. *Resonancia magnética nuclear*

Como se dijo anteriormente, el contenido de grasa sólida (en inglés *solid fat content*, SFC) de las muestras en estudio se determinó por resonancia magnética nuclear (RMN) de baja resolución según el Método Oficial AOCS Cd 16b-93 (método directo), utilizando un equipo de RMN Minispec pc 120 marca Bruker.

El valor del SFC describe qué porcentaje de una muestra grasa es sólida a una determinada temperatura. En la técnica se aplica una corta e intensa señal de energía de radiofrecuencia a una muestra para causar la excitación del hidrógeno de la grasa. El protón genera una señal perceptible al perder energía y alcanzar nuevamente su estado de equilibrio. Esta señal decae debido a la pérdida de energía. En la materia sólida, las oscilaciones se amortiguan, y la señal decae relativamente rápido. Sin embargo, en el líquido se observa un decaimiento más lento de la señal, debido a una menor amortiguación.

Antes de determinar el contenido de grasa sólida, la muestra debe ser expuesta a un tratamiento térmico prescrito: en primer lugar, tiene que ser derretida por completo para destruir todo rastro de cristales, luego enfriada hasta que alcance la cristalización prácticamente completa, y finalmente, tiene que ser mantenida a la temperatura de medición para llegar al equilibrio.

Las muestras se homogenizaron y se colocaron en los tubos de medición. Inicialmente para fundir la muestra, ésta se calentó a 100°C, y se mantuvo 15 min a esa temperatura. A continuación, para lograr la estabilización y atemperado de las grasas, los tubos se sumergieron en un baño a 60°C por 5 min. Luego, las muestras se llevaron a 0°C por 60 min, y por último se las dejó 30 min a la temperatura de medición seleccionada.

En este estudio, las determinaciones del SFC fueron realizadas a temperaturas entre 20 y 70°C.

2.3.5.2.4. Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico (*thermogravimetric analysis*, TGA) es un método de análisis térmico en el cual la masa de una muestra se mide cuando se la somete a un determinado tratamiento térmico en una atmósfera en particular (en este caso, nitrógeno).

A partir de la representación de la variación de la masa en función de la temperatura (TG) se pueden identificar las diferentes etapas que tienen lugar durante la descomposición, pudiéndose representar sobre la gráfica la derivada de la función (DTG) que permite diferenciar con más claridad dichas etapas.

La estabilidad térmica de reactivos fue analizada mediante termogravimetría en atmósfera de nitrógeno en un equipo TGA Discovery (TA Instruments) con flujos de 40 ml/min a una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Los cambios de masa fueron monitoreados en un intervalo de temperatura de 30 a 500°C.

2.4. Referencias

- [1] Yang T., Fruekilde M.B., Xu X., *Suppression of acyl migration in enzymatic production of structured lipids through temperature programming*. Food Chemistry 92 (2005) 101-107.
- [2] Sahin N., Akoh C.C., Karaali A., *Lipase-Catalyzed Acidolysis of Tripalmitin with Hazelnut Oil Fatty Acids and Stearic Acid to Produce Human Milk Fat Substitute*. Journal of Agricultural Food Chemistry 53 (2005) 5779-5783.
- [3] Guncheva M., Zhiryakova D., Radchenkova N., Kambourova M., *Acidolysis of Tripalmitin with Oleic Acid Catalyzed by a Newly Isolated Thermostable Lipase*. Journal of the American Oil Chemists Society 85 (2008) 129-132.
- [4] Zhao H., Lu Z., Bie X., Lu F., Liu Z., *Lipase catalyzed acidolysis of lard with capric acid in organic solvent*. Journal of Food Engineering 78 (2007) 41-46.
- [5] Jennings B., Akoh C. *Lipase catalyzed modification of fish oil to incorporate capric acid*. Food Chemistry 72 (2001) 273-278.
- [6] Senanayake N., Shahidi F., *Enzyme-catalyzed synthesis of structured lipids via acidolysis of seal (*Phoca groenlandica*) blubber oil with capric acid*. Food Research International 35 (2002) 745-752.
- [7] Zhou D., Xu X, Mu H., Høy C., Adler-Nissen J., *Synthesis of Structured Triacylglycerols Containing Caproic Acid by Lipase-Catalyzed Acidolysis: Optimization by Response Surface Methodology*. Journal of Agricultural Food Chemistry 49 (2001) 5771-5777.
- [8] Fomuso L.B., Akoh C.C., *Enzymatic Modification of Triolein: Incorporation of Caproic and Butyric Acids to Produce Reduced-Calorie Structured Lipids*. Journal of the American Oil Chemists Society 74 (1997) 269-272.
- [9] Chakrabarty M. M., Talapatra K., *Studies in Interesterification. II. Acidolysis of some Vegetable Oils with Acid Lauric*. Journal of the American Oil Chemists Society 45 (1968) 172-175.

- [10] Rocha A., Costa G. C., Tamiasso-Martinhon P., Sousa C., Rocha A. B., *Acidity enhancement of niobia by sulfation: An experimental and DFT study*. *Materials Chemistry and Physics* 186 (2017) 138-145.
- [11] Aranda D.A., de Araújo Goncalves J., Sotolongo Peres J., Dantas Ramos A.L., Ribeiro de Melo C.A., Antunes O. A., Furtado N.C., Taft C.A., *The use of acids, niobium oxide, and zeolite catalysts for esterification reactions*. *Journal of Physical Organic Chemistry* 22 (2009) 709-716.
- [12] Srilatha K., Lingaiah N., Sai Prasad P., Prabhavathi Devi B., Prasad R., Venkateswar S., *Influence of Carbon Chain Length and Unsaturation on the Esterification Activity of Fatty Acids on Nb₂O₅ Catalyst*. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 48 (2009) 10816-10819.
- [13] Brandão R.F., Quirino R.L., Mello V.M., Tavares A.P., Peres A.C., Guinhos F., Rubim J.C., Suarez P.A.Z., *Synthesis, Characterization and use of Nb₂O₅ based Catalysts in Producing Biofuels by Transesterification, Esterification and Pyrolysis*. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 20 (5) (2009) 954-966.
- [14] Rojas H., Serrano C., Vivas L., *Inversión de sacarosa sobre Zirconia sulfatada y Oxido de Niobio*. *Ingeniería y Competitividad* 14 (1) (2012) 121-135.
- [15] Chen Z., Iizuka T., Tanabe K., *Niobic acid as an efficient catalyst for vapor phase esterification of ethyl alcohol with acetic acid*. *Chemistry Letters* (1984) 1085-1088.
- [16] Santos D.P., Silva C.T., de Albuquerque R.V., *Preparation and Characterization of Niobium Oxide Obtained from Niobium Acid (Nb₂O₅nH₂O) by using Thermal Decomposition*. *Exatas Online* 8 (2017) 1-8.
- [17] Guo C., Qian Z., *Acidic and catalytic properties of niobic acid crystallized at low temperature*. *Catalysis Today* 16 (1993) 379-385.
- [18] Chen F.R., Coudurier G., Joly J.F., Védrine J.C., *Superacid and catalytic properties of sulfated zirconia*. *Journal of Catalysis* 143 (1993) 616-626.
- [19] Katada N., Endo J., Notsu K., Yasunobu N., Naito M., Niwa M., *Superacidity and Catalytic Activity of Sulfated Zirconia*. *Journal of Physical Chemistry B* 104 (2000) 10321-10328.
- [20] Hino M., Arata K., *Synthesis of solid superacid catalyst with acid strength of H₀ ≤ -16.04*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications* (1980) 851-852.

- [21] Conant J. B., Hall N. F., *A Study of superacid solutions. II. A chemical investigation of the hydrogen-ion activity of acetic acid solutions.* Journal of the American Oil Chemical Society 49 (1927) 3062-3070.
- [22] Turapan S., Yotkamchornkun C., Nuithitikul K., *Esterification of Free Fatty Acids in Crude Palm Oil with Sulfated Zirconia: Effect of Calcination Temperature.* World Academy of Science, Engineering and Technology 4 (2010) 520-524.
- [23] Ni J., Meunier F.C., *Esterification of free fatty acids in sunflower oil over solid acid catalysts using batch and fixed bed-reactors.* Applied Catalysis A: General 333 (2007) 122-130.
- [24] Patel A., Brahmkhatri V., Singh N., *Biodiesel production by esterification of free fatty acid over sulfated zirconia.* Renewable Energy 51 (2013) 227-233.
- [25] Reddy B.M., Patil M.K., *Organic Syntheses and Transformations Catalyzed by Sulfated Zirconia.* Chemical Reviews 109 (6) (2009) 2185-2208.
- [26] Song X., Sayari A., *Sulfated Zirconia-Based Strong Solid-Acid Catalysts: Recent Progress.* Catalysis Reviews: Science and Engineering 38 (1996) 329-412.
- [27] Mishra M.K., Tyagi B., Jasra R.V., *Effect of Synthetic Parameters on Structural, Textural, and Catalytic Properties of Nanocrystalline Sulfated Zirconia Prepared by Sol-Gel Technique.* Industrial & Engineering Chemistry Research 42 (2003) 5727-5736.
- [28] Li B., Gonzalez R.D., *Sol-Gel Synthesis and Catalytic Properties of Sulfated Zirconia Catalysts.* Industrial & Engineering Chemistry Research 35 (1996) 3141-3148.
- [29] Sohn J.R., Kim H. W., *Catalytic and surface properties of zro₂ modified with sulfur compounds.* Journal of Molecular Catalysis 52 (1989) 361-374.
- [30] Jin T., Yamaguchi T., Tanabe K., *Mechanism of Acidity Generation on Sulfur-Promoted Metal Oxides.* The Journal of Physical Chemistry 90 (1986) 4794-4796.
- [31] Fărcașiu D., Li J., Cameron S., *Preparation of sulfated zirconia catalysts with improved control of sulfur content II. Effect of sulfur content on physical properties and catalytic activity.* Applied Catalysis A: General 154 (1997) 173-184.
- [32] García E.A., *Caracterización de circonia sulfatada promovida con distintos metales de transición.* Tesis de Magister en Química (2003), Universidad Nacional del Sur, Argentina.

- [33] Nawar W.W. *Lípidos*. En: Química de los alimentos, Fennema O. Primera edición. Editorial Acribia. (1996) 157-275.
- [34] López D., Suwannakarn K., Bruce D., Goodwin Jr. J., *Esterification and transesterification on tungstate zirconia: Effect of calcination temperature*. Journal of Catalysis 247 (2007) 43-50.
- [35] Morales W., Sequeira A., Chamorro E., Braga M., Sobral A., De Sousa H., Herrero E., *Catálisis heterogénea en la obtención de biodiesel*. Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente 16 (2012) 15-22.
- [36]<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AR&language=es&productNumber=153745&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=%2Fsafety-center.html>/ último acceso 12/7/2020.
- [37]<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AR&language=es&productNumber=21410&brand=SIAL&PageToGoToURL=%2Fsafety-center.html/> último acceso 12/7/2020.
- [38]<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AR&language=es&productNumber=92903&brand=SIAL&PageToGoToURL=%2Fsafety-center.html/> último acceso 12/7/2020.
- [39] Klinkesorn U., H-Kittikun A., Chinachoti P., Sophanodora P., *Chemical transesterification of tuna oil to enriched omega-3 polyunsaturated fatty acids*. Food Chemistry 87 (2004) 415-421.
- [40] Avila A.J., Tonetto G.M., Damiani D.E, *Acidolysis of tripalmitin with acid capric using Nb₂O₅ and MgO as heterogeneous catalysis*. Catalysis Communications 12 (2011) 362-367.
- [41] Buchgraber M., Ulberth F., Anklam E., *Interlaboratory evaluation of injection techniques for triglyceride analysis of cocoa butter by capillary gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 1036 (2004) 197-203.
- [42] Grob Jr. K., *Evaluation of injection techniques for triglycerides in capillary gas chromatography*. Journal of Chromatography 178 (1979) 387-393.
- [43] Geeraert E., Sandra P., de Schepper D., *On-column injection in the capillary gas chromatographic analysis of fats and oil*. Journal of Chromatography 279 (1983) 287-295.

- [44] Bicking M., *Integration Errors in Chromatographic Analysis, Part I: Peaks of Approximately Equal Size*. LCGC North America 24 (4) (2006) 402-414.
- [45] www.chem.agilent.com/cag/cabu/pdf/c212.pdf / último acceso 12/7/2020.
- [46] Jasper J.P., *GC-FID- and Acyl Carbon Number-Based Determination of Characteristic Groupings of Complex Triglyceride (Benefat S and Other) Mixtures*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48 (2000) 785-791.
- [47] Fogler H.S., *Conversión y tamaño del reactor. Capítulo 2*. En: Elementos de ingeniería de las reacciones químicas, Cuarta edición, Pearson Educación, Mexico (2008) 37-78.
- [48] Hernández Enríquez J.M., García Serrano L.A., García Alamilla R., Cortez Lajas L.A., Cueto Hernández A., *Síntesis, caracterización y evaluación catalítica de un ZrO₂ con fase monoclinica*. Síntesis y vacío 22 (2) (2009) 1-9.
- [49] Cid R., Pecchi G., *Potentiometric method for determining the number and strength of acid sites in colored catalysts*. Applied Catalysts 14 (1985) 15-21.
- [50] Ryczkowski J., *IR spectroscopy in catalysis*, Catalysis Today 68 (2001) 263-381.
- [51] Biliaderis C.G., *Differential Scanning Calorimetry in Food Research. A Review*. Food Chemistry 10 (1983) 239-265.

3. CARACTERIZACIÓN DE LOS CATALIZADORES SINTETIZADOS

3.1. *Introducción*

El conocimiento detallado del catalizador, resultante de las técnicas de caracterización, permite interpretar con precisión los fenómenos catalíticos. La investigación del sólido catalítico suministra información tanto sobre su composición másica como superficial, su morfología y fases cristalinas y qué tipo de transformaciones se dan producto de tratamientos térmicos.

Este capítulo se focalizará en la caracterización fisicoquímica de los catalizadores sintetizados. Se estudiará en forma especial el efecto de la variación de la temperatura de pretratamiento del catalizador sobre las propiedades superficiales del mismo. Por tal motivo, la caracterización de los sólidos se llevó a cabo en concordancia con las temperaturas de los pretratamientos realizados previos a los test catalíticos (40 y 400°C), las cuales fueron descritas en el *Capítulo 2 Sección 2.3.2*.

3.2. *Propiedades texturales*

La caracterización textural de los catalizadores se realizó a partir de los datos de las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno a -196°C. El área superficial específica se determinó por BET multipunto, mientras que para obtener la distribución de tamaño de poro se empleó el método BJH.

La *Figura 3.1* presenta las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno para los óxidos puros y sus correspondientes óxidos sulfatados. En todos los casos, a excepción de la muestra S-Nb₂O₅, las muestras presentaron isothermas del Tipo IV en la clasificación Brunauer-Deming-Teller, con diferencias en los ciclos de histéresis. Generalmente este tipo de isoterma se presenta para sólidos mesoporosos [1,2]. La

muestra S-Nb₂O₅ presentó una isoterma Tipo III, la cual se caracteriza por ser convexa a P/P₀ en todo su intervalo. Esta isoterma indica la naturaleza poco porosa del material, la cual también se ve reflejada en los bajos valores del área superficial y de volumen de poro. En el caso de las muestras Nb₂O₅, ZrO₂ y circonias sulfatadas, la forma de la histéresis sugiere que los poros presentan forma de frasco de tinta [3].

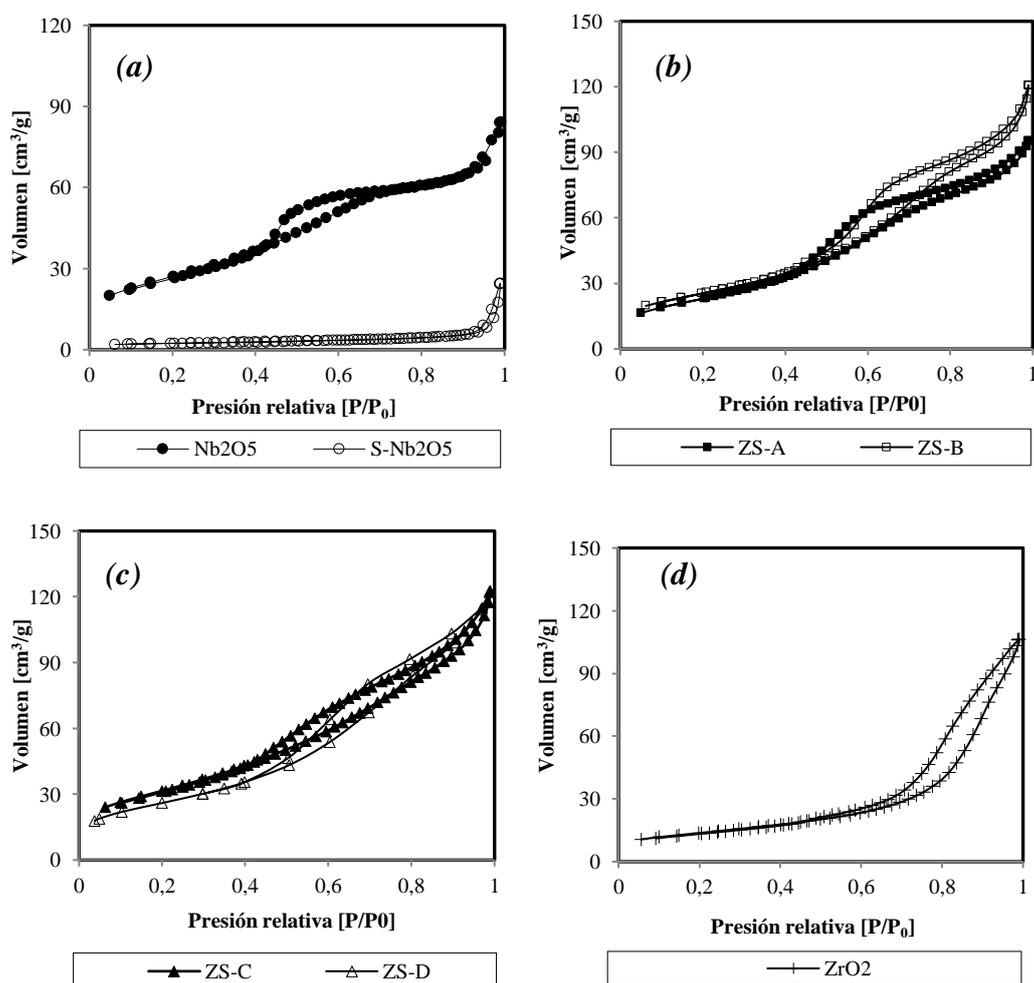


Figura 3.1. Isotherma de adsorción-desorción de nitrógeno para los catalizadores (a) Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅, (b) ZS-A y ZS-B, (c) ZS-C y ZS-D, (d) ZrO₂.

En la *Tabla 3.1* se reportan los datos de área, radio y volumen de poro para la serie de sólidos ácidos estudiados. Si se comparan los datos para Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅, se

puede notar que la sulfatación del óxido ocasionó una notoria disminución del área superficial (75,3 a 8,0 m²/g) y del volumen de poro (0,108 a 0,013 cm³/g), además de un aumento del radio de poro (18,0 a 20,1 Å), originando un material menos poroso.

En el caso de la sulfatación del óxido de circonia, estos fenómenos no se vieron registrados. Por el contrario, en este caso se observa que las áreas de los catalizadores con presencia de sulfato fueron mayores (85,5 a 115,7 m²/g) comparadas con el correspondiente valor para el óxido puro (48,3 m²/g). En numerosos trabajos se han comparado áreas superficiales de óxidos sulfatados con las de los no sulfatados [1,4,5,6,7]. Según Davis y col. [4], las áreas de los catalizadores con presencia de sulfato son mucho mayores que aquellas correspondientes a los óxidos puros, cuando son sometidos a la misma temperatura de calcinación. La presencia del sulfato tiene la propiedad de retardar la cristalización y dividir el óxido en finas partículas, estos efectos serían la causa de un área mayor en las muestras sulfatadas acorde a lo reportado por Arata y col. [8]. Además, si se comparan las áreas obtenidas para las circonias sulfatadas se puede notar que las mismas presentan valores similares (85,5; 91,7; 115,7 y 111,6 m²/g para ZS-A, ZS-B, ZS-C y ZS-D, respectivamente), indicando que los distintos métodos de preparación empleados no afectaron en gran medida este parámetro.

Una característica común a todas las muestras es que presentan mesoporos, ya que sus radios se encuentran entre 10 y 250 Å [9]. Al analizar los valores de tamaño de poro, se puede notar que, al realizarse la sulfatación de la circonia, el tamaño de poro cae considerablemente, con lo cual las circonias sulfatadas presentan áreas más grandes con pequeños poros en comparación con la circonia pura.

Tabla 3.1. Propiedades texturales de los catalizadores.

Catalizador	Área superficial específica [m ² /g]	Radio de poro [Å]	Volumen de poro [cm ³ /g]
Nb ₂ O ₅	75,3	18,0	0,108
S-Nb ₂ O ₅	8,0	20,1 y 260,2	0,013
ZrO ₂	48,3	47,8	0,139
ZS-A	85,5	18,4	0,131
ZS-B	91,7	26,7	0,157
ZS-C	115,7	18,4	0,162
ZS-D	111,6	19,1	0,161

Con respecto al volumen de poro, las muestras sulfatadas ZS-B, ZS-C y ZS-D, presentan mayor valor que el sólido ZrO₂. Contrario es el caso de la muestra ZS-A, la cual fue preparada con otro precursor, en este caso (NH₄)₂SO₄.

La distribución de tamaño de poro para todos los catalizadores estudiados puede observarse en la *Figura 3.2*. La muestra S-Nb₂O₅, presentó una marcada distribución bimodal. Para las circonias sulfatadas, la distribución de tamaño de poro muestra perfiles similares, con máximos en la región que va entre los 15 y los 25 Å de radio.

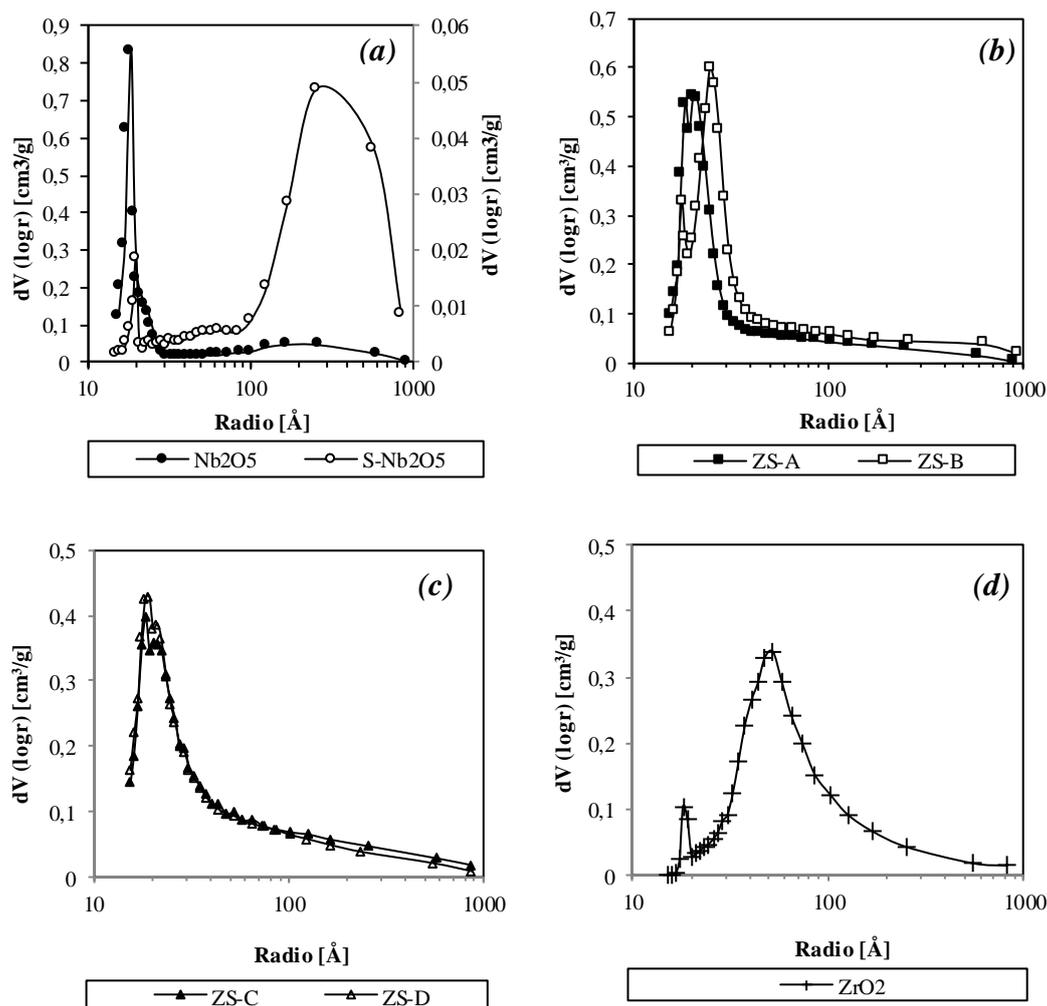


Figura 3.2. Distribución de tamaño de poro para los catalizadores (a) Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅, (b) ZS-A y ZS-B, (c) ZS-C y ZS-D, (d) ZrO₂.

3.3. Determinación de azufre

El contenido de azufre de las muestras sulfatadas se determinó por espectroscopía de emisión atómica de plasma acoplado por inducción. La determinación de este parámetro es importante ya que está asociada con la variación en la acidez superficial de los catalizadores y el número de sitios activos.

El contenido de azufre de un catalizador sulfatado depende fuertemente de su temperatura de calcinación. El aumento de temperatura de calcinación da lugar,

generalmente, a la eliminación gradual de azufre desde la superficie del catalizador. La temperatura de calcinación más comúnmente usada en catalizadores de circonia oscila entre 550 y 650°C [10], es por ello que la temperatura elegida en este trabajo fue 600°C. Cabe aclarar que independientemente de la fuente de sulfato utilizada, todas las especies conteniendo azufre se transforman en la forma de ión sulfato (SO_4^{2-}) durante la calcinación del catalizador [10].

En la *Tabla 3.2* se muestran los valores del contenido de S teórico y S real (determinado experimentalmente), además se muestran algunos datos adicionales como el método de sulfatación, la fuente de azufre y la concentración utilizada en cada caso. Se debe aclarar que los valores teóricos para los catalizadores S-Nb₂O₅ y ZS-D no pudieron ser calculados ya que por el método de sulfatación empleado (inmersión), se retiene sólo el S que el soporte puede adsorber hasta alcanzar el equilibrio. El valor real corresponde al porcentaje de S presente en las muestras, retenido luego de la calcinación.

Tabla 3.2. Resumen del análisis de contenido de azufre de los catalizadores sulfatados.

Catalizador	Método de sulfatación	Fuente de S	Concentración	S teórico [%]	S real [%]
S-Nb ₂ O ₅	Inmersión	H ₂ SO ₄	2 N	-	4,58
ZS-A	Inmersión con evaporación	(NH ₄) ₂ SO ₄	0,25 M	6,67	1,17
ZB-B	Inmersión con evaporación	H ₂ SO ₄	0,5 N	2,00	1,53
ZS-C	Impregnación	H ₂ SO ₄	2 N	3,50	1,75
ZB-D	Inmersión	H ₂ SO ₄	0,5 N	-	1,86

Tal como puede observarse, la muestra Nb_2O_5 exhibe una apreciable capacidad por retener azufre, ya que es el catalizador sulfatado que mayor cantidad de este elemento presenta.

En el caso de circonia, los contenidos de S varían con la concentración del precursor, la fuente de S y el método de sulfatación empleado. En todas las muestras la cantidad de azufre retenido fue similar (entre 1,17 y 1,86%). Si se analiza la fuente de S, las muestras tratadas con H_2SO_4 retuvieron mayor cantidad de azufre que la sulfatada con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, coincidiendo con lo reportado por Guevara Franco y col. [11]. Si se considera el método de sulfatación, se puede observar que a igual precursor de S y concentración (H_2SO_4 0,5 N), el método de inmersión (ZS-D) generó un mayor contenido de S (1,86%) que el método de inmersión con evaporación (ZS-B, 1,53%).

Las muestras ZS-C y ZS-D presentaron contenidos de S muy similares, siendo que se emplearon en su síntesis dos técnicas muy distintas de sulfatación. Para ambos casos pareciera que la capacidad de retención de sulfato es limitada y constante. Similar observación hizo García [12] en su trabajo experimental.

El contenido de S real en circonia sulfatada no superó el 2% para ninguna de las muestras, a pesar de las diferencias en agente sulfatante y técnica. Estos resultados están en correspondencia con lo reportado por Babou y col. [13], quienes indican que la superficie de circonia está cubierta por una monocapa de especies de S cuando la carga de S es de 2 wt%.

3.4. Difracción de rayos X

Mediante esta técnica se identificaron y caracterizaron las fases cristalinas presentes en los catalizadores empleados en esta tesis.

Los difractogramas obtenidos para las muestras Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ se muestran en la *Figura 3.3*. En ambos casos los sólidos presentaron estructura amorfa. Como se sabe, el sólido Nb_2O_5 presenta distintas estructuras cristalinas dependiendo de la temperatura de calcinación a la que es sometido, aunque por debajo de los 450°C solo presenta estructura amorfa [14].

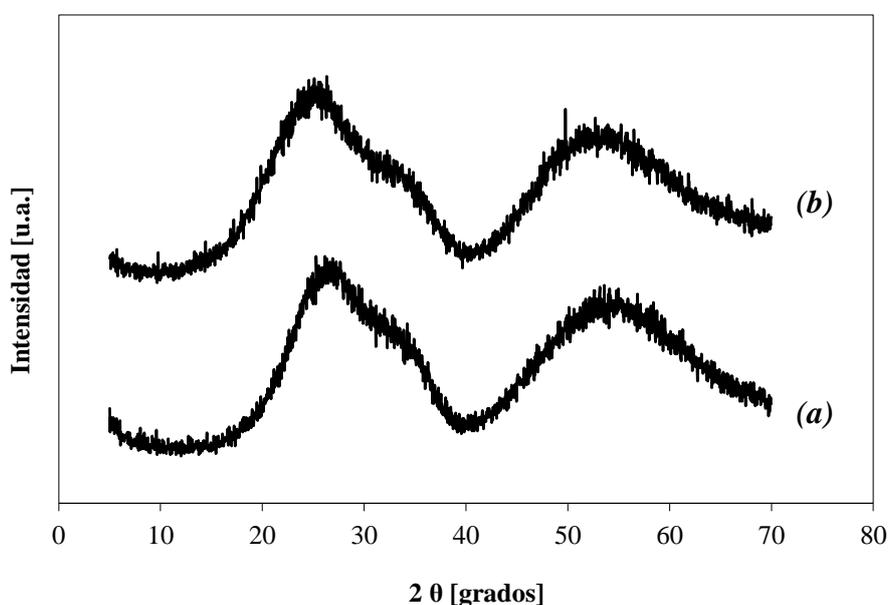


Figura 3.3. Difractogramas de rayos X para los catalizadores (a) Nb_2O_5 y (b) $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$.

Las propiedades físicas y químicas de los óxidos de circonia están fuertemente relacionadas con las distintas fases cristalinas. La circonia puede cristalizar en tres fases estables: monoclinica, tetragonal y cúbica [15,16,17], también existe una fase ortorrómbica inestable adicional [18]. Existen diversos factores que determinan cuál de

estas fases se obtendrá, entre ellos, la sal precursora utilizada, el pH de la reacción, las condiciones de síntesis y sobre todo la temperatura a la cual se trate térmicamente.

Como se mencionó, para obtener el óxido de circonio se comenzó por sintetizar el hidróxido de circonio ($Zr(OH)_4$). La *Figura 3.4* confirma la naturaleza amorfa de dicho compuesto, tal como se describe en la bibliografía [1,19,20].

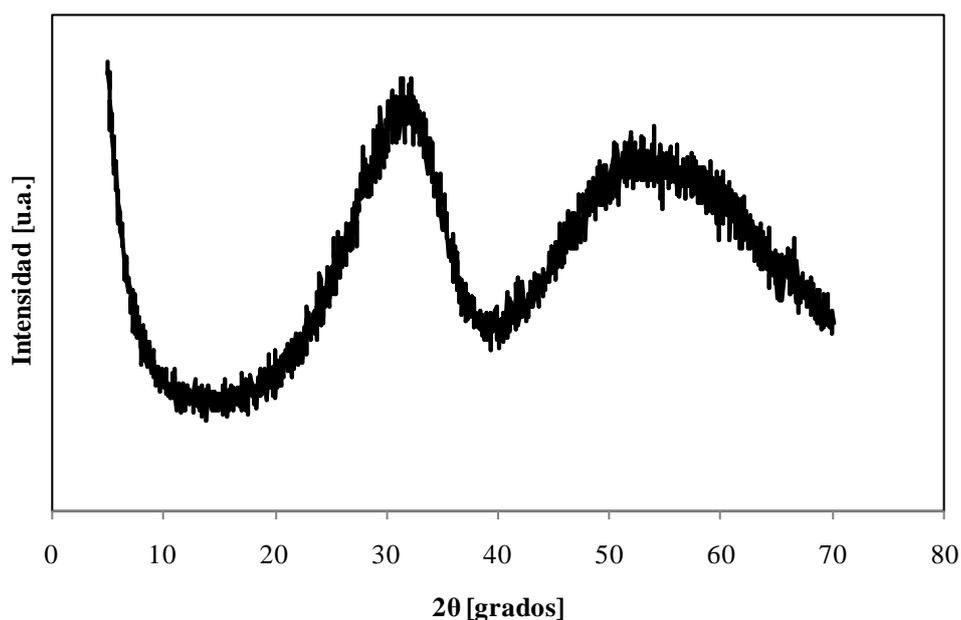


Figura 3.4. Diffractograma de rayos X correspondiente a $Zr(OH)_4$.

En la *Figura 3.5* se muestran los diffractogramas para el óxido de circonio y la totalidad de las circonias sulfatadas. Las circonias sulfatadas ZS-A, ZS-C y ZS-D exhiben picos de difracción que son característicos de la fase tetragonal. Esta fase cristalina se identificó por sus líneas de difracción localizadas en $2\theta = 30, 35, 50$ y 60° , las cuales coinciden con las reportadas en literatura para estos materiales [21,22,23]. Por el contrario, la circonia pura presenta una estructura mayoritariamente monoclinica, al igual que la muestra ZS-B, con picos característicos principales en 28 y 31° .

La cuantificación de las fases monoclinica y tetragonal en las muestras sintetizadas fue realizada por comparación de los picos característicos de la fase tetragonal (en $2\theta=30^\circ$) y de la fase monoclinica (en $2\theta=28$ y 31°). Las mismas fueron calculadas mediante las siguientes ecuaciones:

$$\% \text{ Fase tetragonal} = \frac{(h * w)_{tetragonal}}{\sum (h * w)_{tetragonal \text{ y monoclinica}}} * 100 \quad (\text{Ec. 3.1})$$

$$\% \text{ Fase monoclinica} = \frac{(h * w)_{monoclinica}}{\sum (h * w)_{tetragonal \text{ y monoclinica}}} * 100 \quad (\text{Ec. 3.2})$$

Donde el término $h*w$ corresponde al producto de la altura (h) por la mitad del ancho (w) del pico de difracción [1].

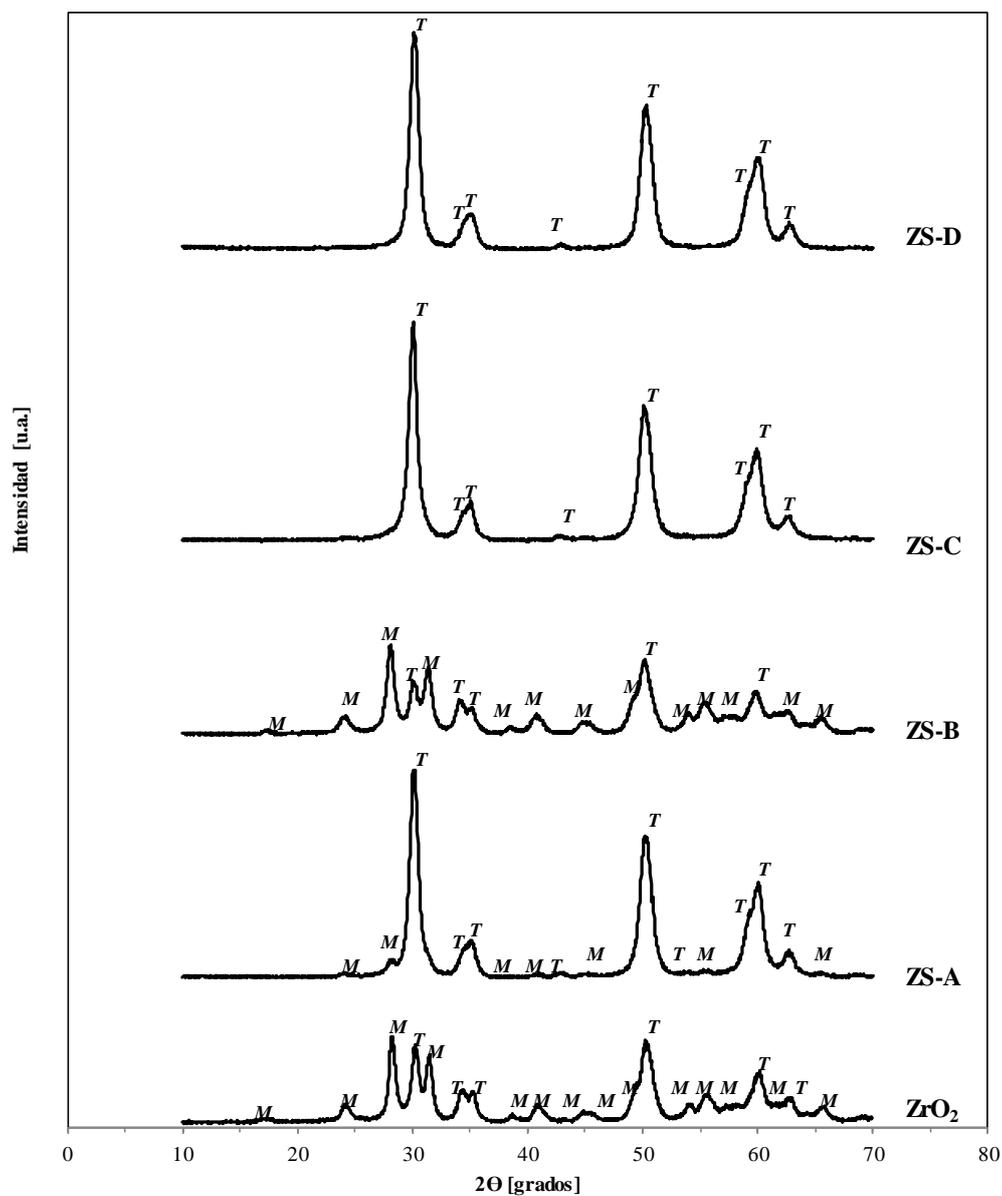


Figura 3.5. Difractogramas de rayos X de los catalizadores en estudio. T: Tetragonal, M: Monoclínica

En la *Tabla 3.3* se muestran los porcentajes presentes de cada fase, así como también, los valores de tamaño de cristal calculado mediante la ecuación de Scherrer. Notar que no se aprecia una sustancial diferencia en el tamaño de dominio cristalino para las fases monoclinica y tetragonal.

Tabla 3.3. Estructuras cristalinas y tamaños de cristal para los catalizadores ZrO₂ y circonias sulfatadas.

Catalizador	% Fase Tetragonal	% Fase Monoclínica	Estructura cristalina (mayoritaria)	Tamaño de cristal [Å]	
				Fase tetragonal (2θ=30°)	Fase monoclínica (2θ=28°)
ZrO ₂	36	64	Monoclínica	119	139
ZS-A	93	7	Tetragonal	113	93
ZS-B	26	74	Monoclínica	107	123
ZS-C	100	0	Tetragonal	132	-
ZS-D	100	0	Tetragonal	102	-

Tal como se puede observar, la circonia pura presenta una estructura mayoritariamente monoclínica, lo cual está en concordancia con lo reportado en literatura [1,10,24].

La *Tabla 3.3* muestra que en muestras calcinadas a igual temperatura (600°C), el agregado de sulfato produce fases cristalinas diferentes. Tanto la muestra ZS-A como la ZS-B presentan un porcentaje mayoritario de alguna de las dos fases (tetragonal en el caso de la ZS-A y monoclínica en el caso de la ZS-B). Por el contrario, las muestras ZS-C y ZS-D presentan el 100% de una única fase (tetragonal).

La estructura cristalina de las circonias sulfatadas parece verse afectada por el contenido de azufre: las muestras con mayor contenido de azufre cristalizaron sólo en la forma tetragonal (ZS-C y ZS-D), mientras que las que presentaron menor contenido de azufre (ZS-A y ZS-B) coexistieron en distinta proporción las fases tetragonal y monoclínica.

Se ha reportado que la presencia de sulfato estabiliza la fase tetragonal de la circonia [20,25,26], especialmente cuando el sólido es calcinado en un rango de temperaturas entre 550 y 700°C, a temperatura mayores comienza a formarse la fase monoclinica [10]. Por su parte, Stichert y col. [27] indicaron que el aumento en el contenido de la fase monoclinica en circonias sulfatadas también está relacionado con el envejecimiento de la muestra. Srinivasan y col. [28] enfatizan la necesidad de prestar atención a la sal precursora de circonio en la preparación de las fases monoclinicas o tetragonales en circonias sulfatadas. Según estos autores, una sal precursora obtenida de un mismo proveedor en diferentes momentos puede producir resultados distintos.

3.5. Tamaños de partículas

3.5.1. Difracción láser

El tamaño y la distribución de tamaños de partículas son parámetros importantes en la caracterización de los catalizadores. Es por ello que, en esta tesis, ambos parámetros fueron determinados mediante difracción láser.

Los histogramas presentados en la *Figura 3.6* muestran la distribución de tamaño de partículas para todos los catalizadores estudiados. Vale recordar que los resultados de difracción láser son reportados como tamaño medio aritmético en volumen $D_{4,3}$ (*Ecuación 2.9*). En la *Tabla 3.4* se presentan datos relacionados con el tamaño de partícula y el diámetro acumulativo D_{90} . Éste último parámetro se obtiene de interceptar la curva acumulativa en 90%. Este valor indica que ese porcentaje de la población de partículas en estudio, presentan un diámetro menor a dicho valor.

Tal como se puede observar en la *Figura 3.6*, el catalizador Nb₂O₅ es el que presenta una distribución de tamaños más amplia, entre 0,06 y 110 μm. Además, es el único en el que se evidenciaron dos poblaciones de partículas de diferentes tamaños (0,15 y 16,8 μm). El resto de los catalizadores presentaron un único pico y la variación de tamaños se encuentra acotada entre 0,5 y 100 μm, aproximadamente.

Tabla 3.4. Tamaños de partículas y D₉₀ para los catalizadores estudiados.

Catalizador	D _{4,3} [μm]	D ₉₀ [μm]
Nb ₂ O ₅	0,15 y 16,8	34,5
S-Nb ₂ O ₅	14,1	25,7
ZrO ₂	25,1	55,6
ZS-A	15,2	28,8
ZS-B	16,4	32,9
ZS-C	16,0	31,9
ZS-D	18,0	32,6

Si se comparan los valores para las muestras sulfatadas con los óxidos sin sulfatar según lo mostrado en la *Tabla 3.4*, se puede notar que ambos óxidos (Nb₂O₅ y ZrO₂) presentan tamaños de partículas mayores que las correspondientes a las muestras sulfatadas. En el caso del sólido Nb₂O₅ se obtuvo un diámetro medio de 16,8 μm, frente a 14,1 μm para la muestra luego de ser sulfatada. Por su parte la circonia pura presentó un tamaño de 25,1 μm en comparación con 15,2; 16,4; 16 y 18 μm obtenidos para las muestras ZS-A, ZS-B, ZS-C y ZS-D, respectivamente. Notar que la variación de tamaños en las muestras de circonia sulfatada es mínima.

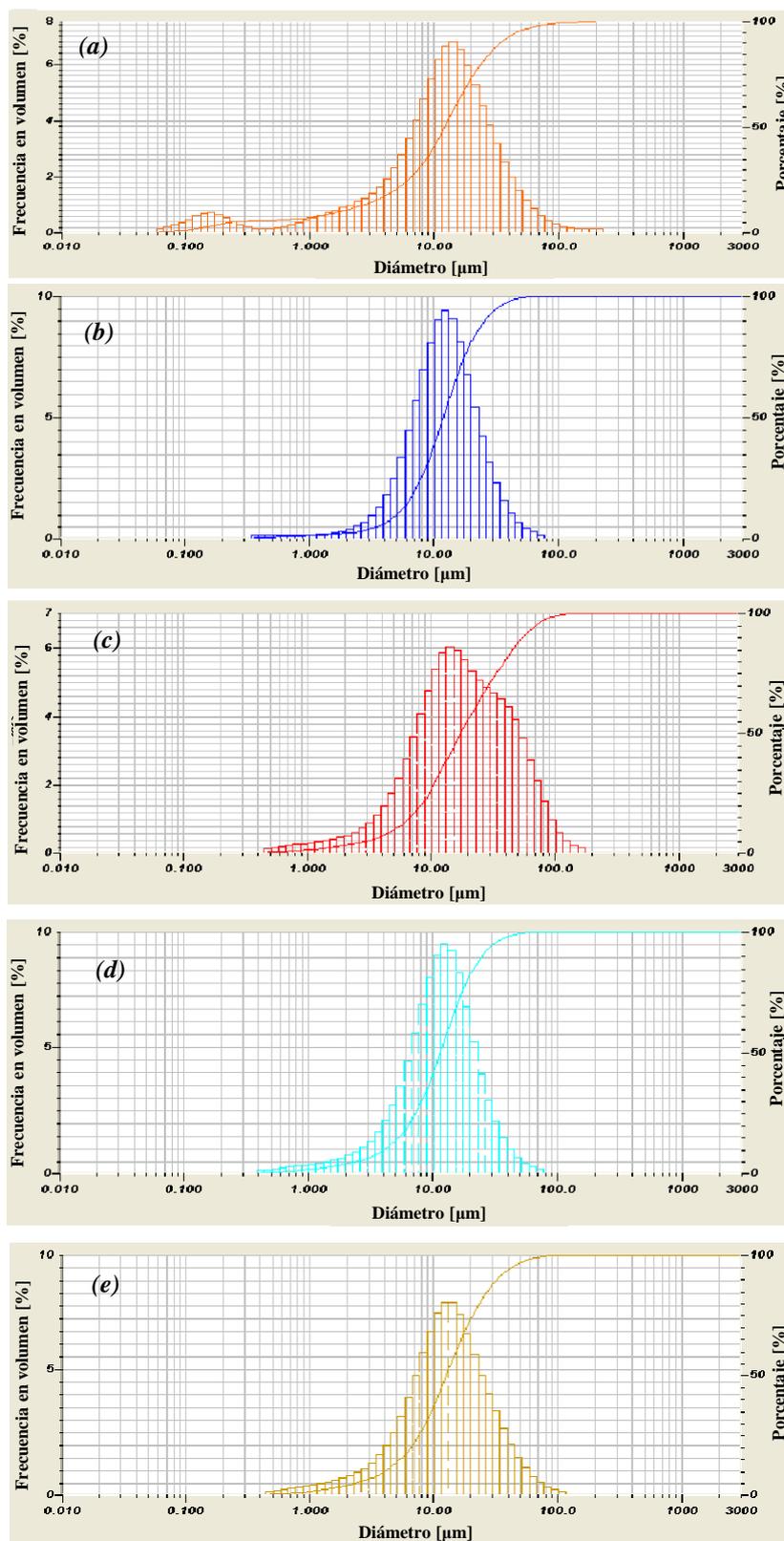


Figura 3.6. Histogramas para la distribución de tamaños de partículas de los catalizadores (a) Nb_2O_5 , (b) $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$, (c) ZrO_2 , (d) ZS-A, (e) ZS-B, (f) ZS-C, (g) ZS-D.

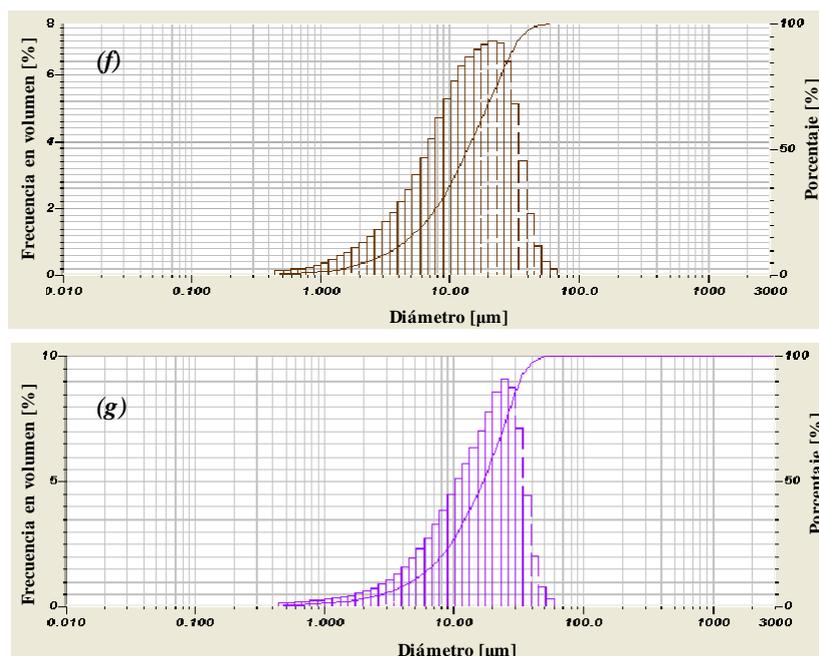


Figura 3.6. (Continuación) Histogramas para la distribución de tamaños de partículas de los catalizadores (a) Nb_2O_5 , (b) $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$, (c) ZrO_2 , (d) ZS-A, (e) ZS-B, (f) ZS-C, (g) ZS-D.

3.5.2. Microscopía electrónica de barrido

Los catalizadores de circonias sulfatadas fueron observados en tres magnificaciones diferentes 1000, 5000 y 15000x. Debido a que todas las muestras presentaron formas y tamaños similares, solo se mostrarán aquí las micrografías obtenidas para las muestras ZS-C y ZS-D. Tal como se describió en el *Capítulo 2 Sección 2.3.5.1.4.2*, las partículas previas a su observación fueron dispersadas en seco sobre un portamuestras.

La *Figura 3.7* muestra distintivamente las diferentes morfologías encontradas a las tres magnificaciones estudiadas. Con la menor magnificación elegida (1000x), se logró obtener una imagen panorámica de la muestra. Ambas imágenes (*Figura 3.7 (a) y (d)*) revelaron que las partículas presentaban morfología parecida. Además, se pudo verificar que los tamaños obtenidos para las circonias sulfatadas fueron todos muy

similares, tal como fue descrito por difracción láser. Aunque se debe destacar que los valores de diámetro presentados en la sección anterior son mayores que las dimensiones de las partículas observadas en las micrografías, porque el $D_{4,3}$ le da más peso a las partículas de mayor volumen.

Si se consideran las imágenes a 5000x (*Figura 3.7 (b) y (e)*), se encuentran partículas sueltas y aglomeradas con forma irregular y densidad de empaquetamiento variable. En ambos casos puede observarse que muchas partículas poseen formas redondeadas, aunque también se evidenció la presencia de partículas con aristas y ángulos definidos y textura lisa. Si se comparan las imágenes a 15000x, se puede observar que la muestra ZS-C presenta sus partículas como aglomeraciones de partículas más pequeñas (*Figura 3.7 (c)*), el aspecto que las mismas presentan es rugoso o calcáreo. En el caso de la muestra ZS-D (*Figura 3.7 (f)*), al cambiar el método de sulfatación se pudo ver un cambio en la morfología superficial, en este caso las partículas se presentan más grandes y lisas, mucho más compactas que en el caso anterior.

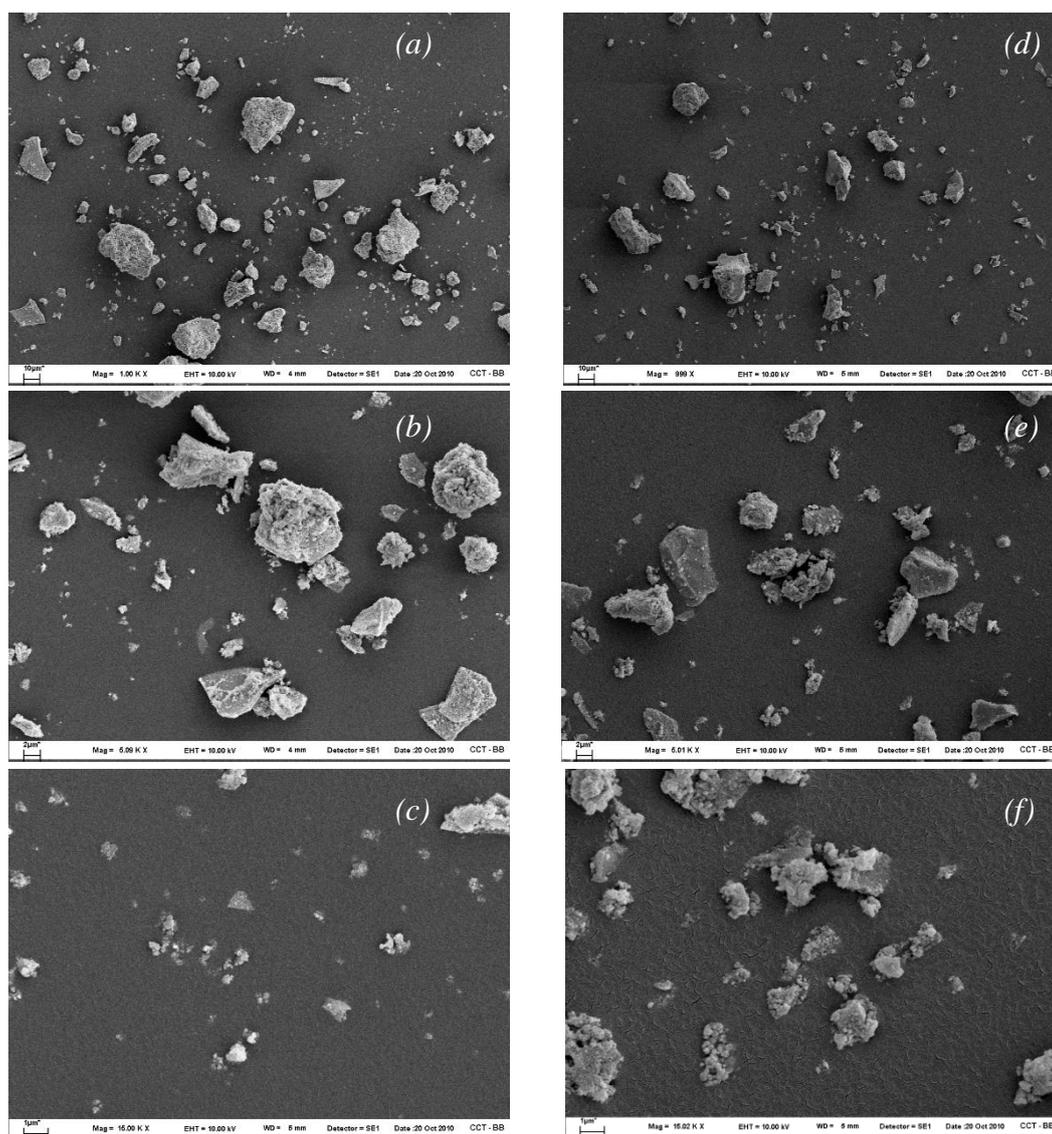


Figura 3.7. Micrografías SEM del catalizador ZS-C (a) 1000x (b) 5000x (c) 15000x y del catalizador ZS-D (d) 1000x (e) 5000x (f) 15000x.

Con la finalidad de ver si las partículas lograban diseminarse mejor, las muestras fueron dispersadas en agua y en etanol. Cuando se utilizó agua, las imágenes obtenidas fueron muy semejantes a las presentadas en la *Figura 3.7* (no se muestran en esta tesis).

El etanol resultó más efectivo para dispersar las partículas. La *Figura 3.8* muestra ambos catalizadores a una magnificación de 15000x. Si se compara la imagen (c) de la *Figura 3.7* con la presentada en la *Figura 3.8* (a), se observa que la dispersión previa en

etanol ayuda a la separación de las partículas de ZS-C, ya que en esta última microfotografía se observan partículas pequeñas en el fondo que en la otra no se notaban. Por su parte, si se comparan las *Figuras 3.8 (a) y (b)* se puede concluir que la muestra ZS-D presenta partículas de mayor tamaño que la muestra ZS-C. Esto tiene que ver con el método de sulfatación empleado, ya que en la inmersión existe una etapa de filtración donde las partículas de mayor tamaño se concentran al quedar retenidas por el filtro.

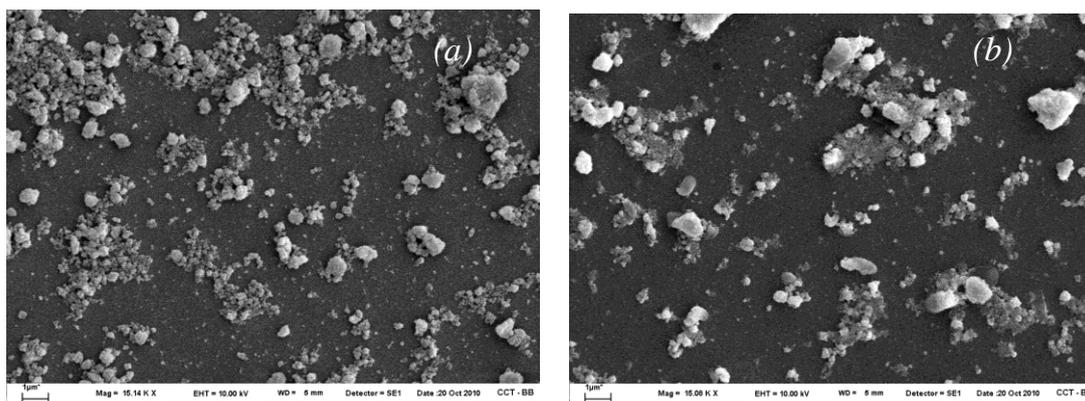


Figura 3.8. Micrografías SEM de los catalizadores dispersado en etanol a 15000x (a) ZS-C y (b) ZS-D.

Las imágenes SEM de los catalizadores Nb_2O_5 y su correspondiente óxido sulfatado ($\text{S-Nb}_2\text{O}_5$) se muestran en la *Figura 3.9*. En este caso ambas muestras solo fueron dispersadas en seco sobre un portamuestras. En dichas microfotografías se observa claramente diferencias morfológicas respecto a las muestras de circonias sulfatadas (*Figura 3.7*). Se puede destacar que las magnificaciones empleadas fueron distintas a las utilizadas en circonia sulfatada para lograr observar distintas características superficiales. Tal como se puede apreciar la morfología de las partículas no se ve afectada a pesar de la sulfatación, ya que ambas muestras presentan una rugosidad superficial común. En ambos casos se puede apreciar que las partículas se encuentran formando aglomerados

como en el caso de las circonias sulfatadas, pero aquí los aglomerados no son tan compactos, sino que las partículas que los componen se pueden ver más separadas.

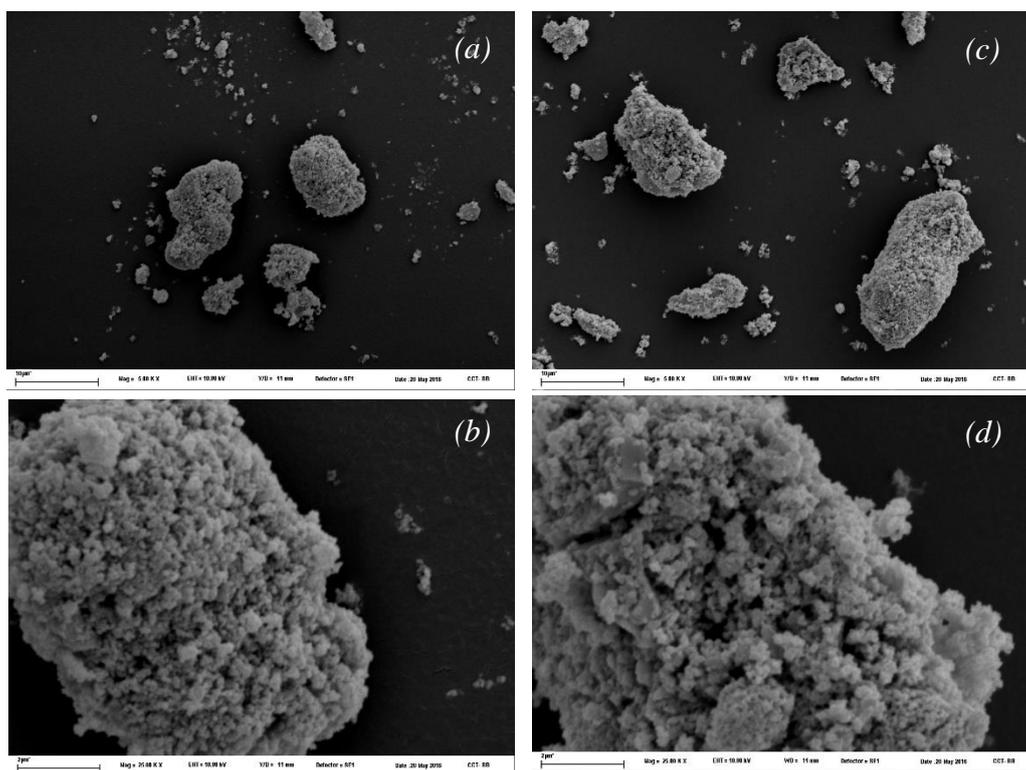


Figura 3.9. Micrografías SEM del catalizador Nb₂O₅ (a) 5000x (b) 25000x y del catalizador S-Nb₂O₅ (c) 5000x (d) 25000x.

3.6. Determinación de la acidez

Las propiedades catalíticas de los sólidos dependen fuertemente del método de preparación, del agente precipitante, del reactivo sulfatante, de la temperatura de calcinación, del pretratamiento y del almacenamiento [25]. La acidez de los sólidos juega un papel determinante en su actividad como catalizador en la acidólisis, es por ello que es tan importante su estudio.

La caracterización de la superficie se realizó luego de tratar térmicamente los sólidos a dos temperaturas distintas, 40 y 400°C, como se describió en el *Capítulo 2*.

3.6.1. Titulación potenciométrica

Al ser la n-butilamina ($K_b \sim 3 \times 10^{-4}$) una base más fuerte que el amoníaco ($K_b = 1,8 \times 10^{-5}$) y que la piridina en agua ($K_b = 1,8 \times 10^{-9}$), se considera que la misma interactúa con sitios de distinta fuerza ácida. Es por ello que la técnica de titulación potenciométrica con n-butilamina se presenta como una herramienta útil para cuantificar los sitios ácidos y para conocer la distribución de la fuerza ácida en los sólidos heterogéneos [29].

La *Figura 3.10* muestra las curvas correspondientes a la titulación potenciométrica de las muestras con pretratamiento a 40°C, mientras que la *Figura 3.11* muestra dichas curvas para los catalizadores pretratados a 400°C. Tal como se indicó anteriormente, la titulación se lleva a cabo hasta que se alcanza un valor constante, lo que significa que se tituló el número total de sitios ácidos [30,31,32].

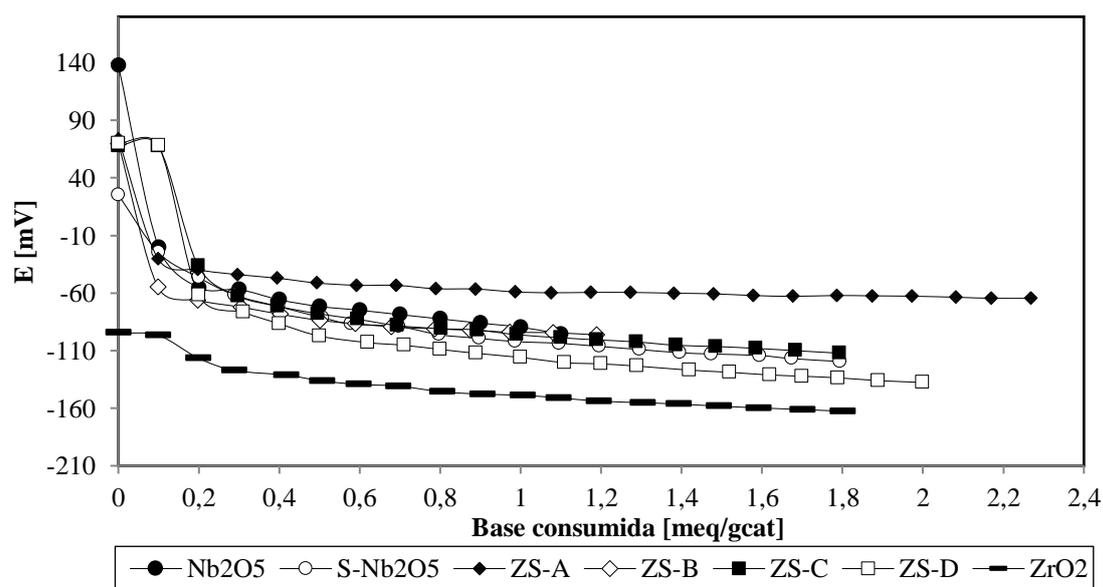


Figura 3.10. Perfiles de neutralización de los sitios ácidos presentes en los catalizadores pretratados a 40°C.

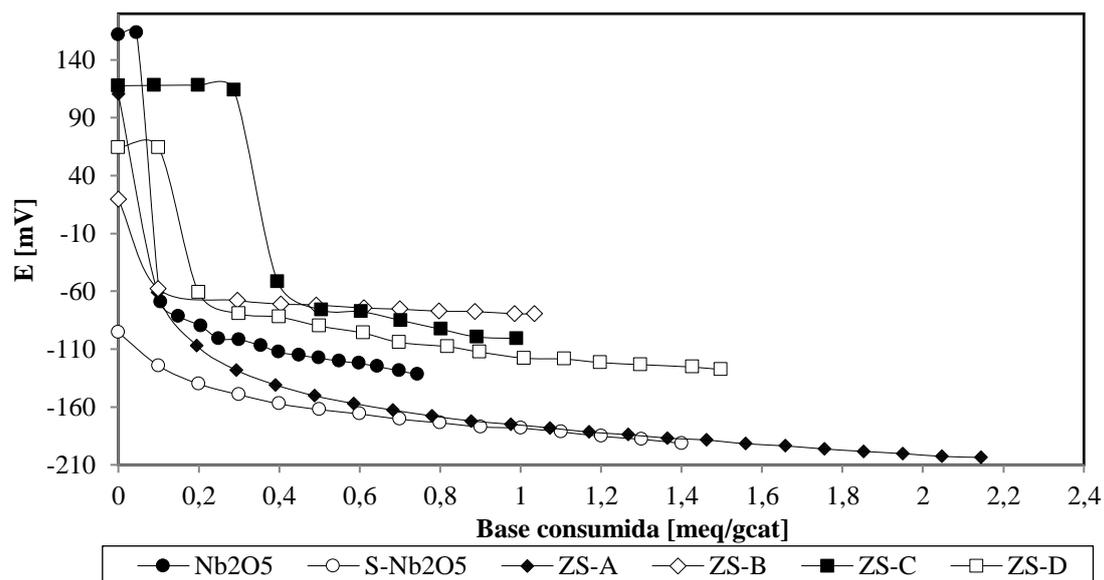


Figura 3.11. Perfiles de neutralización de los sitios ácidos presentes en los catalizadores pretratados a 400°C.

La máxima fuerza ácida (MFA) de los sitios superficiales está dada por el valor inicial del potencial del electrodo (E_0), medido en mV. Además, el Número Total de Sitios Ácidos (NTSA), en miliequivalentes de n-butilamina/g de sólido (meq n-bta/gcat) se determina considerando que el potencial alcanza un valor constante cuando todos los sitios ácidos han sido neutralizados (en Figuras 3.10 y 3.11). De esta forma, el área bajo la curva E vs Base consumida representa el número total de sitios ácidos por gramo de catalizador.

Tal como se hizo referencia en el *Capítulo 2*, existe una clasificación de la MFA de los sitios en función de rangos característicos del valor de potencial inicial. Dicha clasificación es la siguiente:

Muy débiles: $E_0 < -100$ mV

Débiles: $-100 < E_0 < 0$ mV

Fuertes: $0 < E_0 < 100$ mV

Muy fuertes: $E_0 > 100$ mV

En la *Tabla 3.5* se reportan la MFA, el tipo de sitio ácido y la acidez total para los catalizadores estudiados, luego de ser tratados a 40 y 400°C.

Tabla 3.5. Propiedades ácidas de los sólidos estudiados determinadas por titulación potenciométrica.

Catalizador	Temperatura pretratamiento [°C]	E_0 [mV]	Tipo de Sitios Ácidos	Acidez Total [meq n-bta/gcat]
Nb ₂ O ₅	40	137,8	Muy fuertes	1,10
	400	161,5	Muy fuertes	0,74
S-Nb ₂ O ₅	40	25,3	Fuertes	1,79
	400	-95,6	Débiles	1,40
ZrO ₂	40	-94,4	Débiles	1,80
ZS-A	40	73,6	Fuertes	2,27
	400	110,6	Muy fuertes	2,14
ZS-B	40	69,8	Fuertes	1,19
	400	19,6	Fuertes	1,03
ZS-C	40	67,9	Fuertes	1,79
	400	117,7	Muy fuertes	0,99
ZS-D	40	69,9	Fuertes	2,00
	400	64,2	Fuertes	1,50

En forma general puede observarse que la acidez ha sido afectada por el incremento de la temperatura del tratamiento térmico al que fueron sometidos los distintos catalizadores. Al aumentar la temperatura de pretratamiento, la densidad de sitios ácidos disminuye. Por su parte, la MFA no se modificó para las Nb₂O₅, ZS-B y ZS-D, disminuyó

para S-Nb₂O₅, y aumentó para los sólidos ZS-A y ZS-C. Es importante aclarar que no todos los sitios ácidos en la superficie de los sólidos presentan la fuerza indicada por el valor de MFA. Existe una distribución de fuerza ácida y ésta puede inferirse de las *Figuras 3.10 y 3.11*.

Si se considera el catalizador Nb₂O₅, para ambas temperaturas de pretratamiento, la MFA indica la presencia de sitios ácidos Muy fuertes. Cuando se analiza la curva correspondiente al sólido pretratado a 40°C, se encuentra que alcanza un potencial final de -95,6 mV, indicando también la presencia de sitios superficiales Fuertes y Débiles. Similar observación fue realizada por Xia y col. [33]. Cuando la muestra fue pretratada a 400°C, la curva de la *Figura 3.11* indica que el sólido presenta los cuatro tipos de sitios (Muy fuertes, Fuertes, Débiles y Muy débiles).

Este análisis se extendió al resto de los catalizadores, discriminando y cuantificando los sitios ácidos por su fuerza. Los resultados se presentan en detalle en la *Tabla 3.6*, y esquemáticamente (para una mejor visualización) en las *Figuras 3.12 y 3.13*.

La sulfatación de la Nb₂O₅ produjo una disminución de la fuerza de los sitios, tanto a 40 como a 400°C. Si bien la densidad de sitios es mayor en S-Nb₂O₅, hay que recordar que presenta un área superficial mucho menor que niobia (8 vs 75 m²/g). La muestra S-Nb₂O₅ pretratada a 40°C presentó un valor E₀ de 25,3 mV indicando la existencia de sitios ácidos Fuertes, pero la concentración de los mismos es muy baja (0,05 meq n-bta/gcat, equivalentes al 2,8% del total), y la mayoría de los sitios son Débiles y Muy débiles debido a que se encuentran por debajo de 0 mV (0,84 y 0,90 meq n-bta/gcat, respectivamente). Para el caso de la muestra pretratada a 400°C, los sitios presentes son solo Débiles (1,4%) y mayormente Muy débiles (98,6%).

Tabla 3.6. Distribución de fuerza ácida y acidez total para los catalizadores pretratados a 40 y 400°C.

Catalizador	Temp. pretrat. [°C]	Número de Sitios Ácidos [meq n-bta/gcat]				Acidez Total [meq n-bta/gcat]
		E > 100 (Muy fuertes)	0 < E < 100 (Fuertes)	0 > E > -100 (Débiles)	E < -100 (Muy débiles)	
Nb ₂ O ₅	40	0,02	0,06	1,02	0	1,10
	400	0,06	0,03	0,16	0,49	0,74
S-Nb ₂ O ₅	40	0	0,05	0,84	0,90	1,79
	400	0	0	0,02	1,38	1,40
ZrO ₂	40	0	0	0,12	1,68	1,80
ZS-A	40	0	0,06	2,21	0	2,27
	400	0,01	0,05	0,11	1,97	2,14
ZS-B	40	0	0,05	1,14	0	1,19
	400	0	0,02	1,01	0	1,03
ZS-C	40	0	0,16	0,94	0,69	1,79
	400	0,30	0,06	0,63	0	0,99
ZS-D	40	0	0,15	0,39	1,46	2,00
	400	0	0,19	0,46	0,85	1,50

La sulfatación de la ZrO₂ también modificó la fuerza de los sitios, pero en este caso produjo un aumento de fuerza de los mismos, ya que estos pasaron de presentar sitios Débiles a Fuertes. Como se puede observar en la *Figura 3.10*, la muestra ZrO₂ tiene una acidez total de 1,80 meq n-bta/gcat. Además, se advierte que el sólido presenta sitios ácidos Débiles, aunque la mayoría pueden clasificarse como Muy débiles dado que se encuentran por debajo de -100 mV (1,68 meq n-bta/gcat). Estos resultados concuerdan con estudios similares [34,35,36]. No se realizó el estudio con ZrO₂ pretratada a 400°C debido a que no fue testeada en reacción.

Se puede destacar que a 40°C todas la circonias sulfatadas presentan valores similares de E_0 (73,6; 69,8; 67,9 y 69,9 para ZS-A, ZS-B, ZS-C y ZS-D, respectivamente). A esa temperatura, los catalizadores ZS-A y ZS-B presentaron solo sitios Fuertes (2,6 y 4,2%) y Débiles (97,4 y 95,8%), mientras que los sólidos ZS-C y ZS-D presentaron sitios Fuertes, Débiles y Muy débiles, con mayor proporción de sitios Débiles para ZS-C (52,5%) y de sitios Muy débiles en ZS-D (73%). Las muestras ZS-A pretratadas a 400°C presenta los cuatro tipos de sitios (Muy fuertes, Fuertes, Débiles y Muy débiles).

Llama la atención la gran proporción de sitios ácidos Muy fuertes (30%) generados en la muestra ZS-C luego del tratamiento a 400°C.

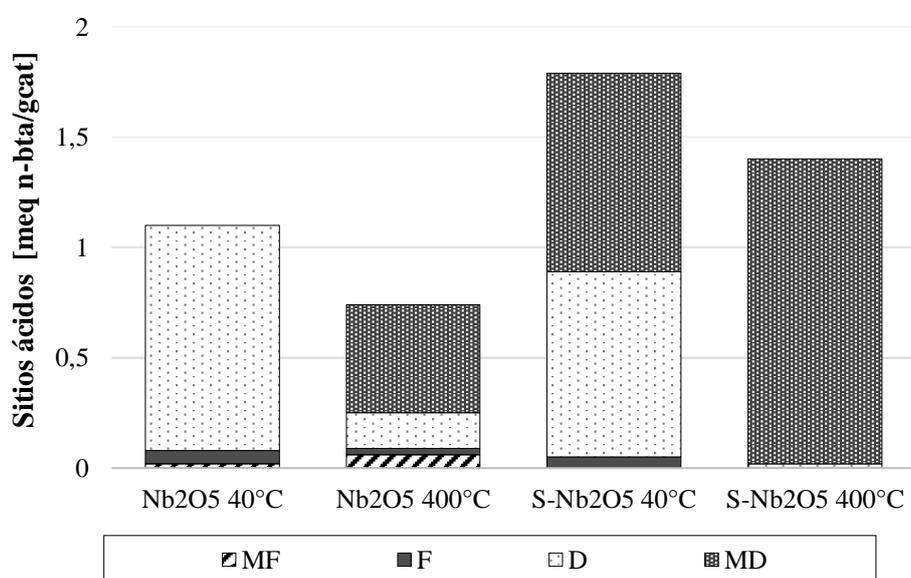


Figura 3.12. Distribución de fuerza ácida para niobia y niobia sulfatada. Referencia: MF: Muy fuerte, F: Fuerte, D: Débil, MD: Muy débil.

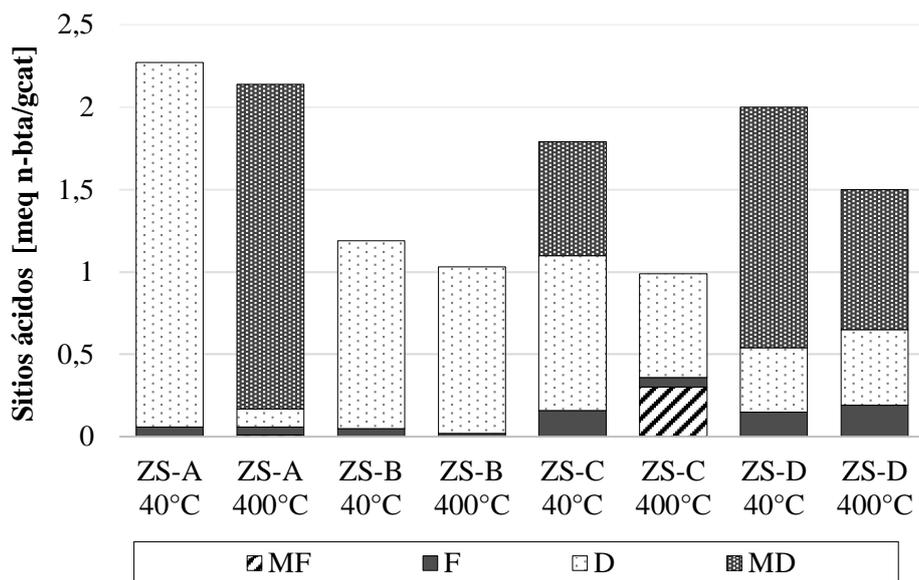


Figura 3.13. Distribución de fuerza ácida para circonias sulfatadas. Referencia: MF: Muy fuerte, F: Fuerte, D: Débil, MD: Muy débil.

En este trabajo no se encontró una relación directa entre el contenido de S y la densidad de sitios ácidos. Los resultados de estudios sobre el tema presentan diversas conclusiones. Sohn y col. [24] encontraron que la acidez aumentaba con el contenido de S hasta 2,8 wt% de SO₃. Valores mayores generaban una disminución de la acidez. Un resultado semejante fue reportado por Ahmed y col. [30]. Se debe tener en cuenta que, en los dos trabajos citados, sólo se variaba el contenido de S, dejando constante el agente sulfatante y la técnica de sulfatación, a diferencia de lo realizado en esta tesis. Por su parte, Chen y col. [21] y Morterra y col. [26] no encontraron una relación directa entre contenido de S y el número y fuerza de sitios ácidos. Según estos autores, la acidez también está fuertemente relacionada con la temperatura de calcinación, la morfología y cristalinidad de la circonia sulfatada y el tipo de especies superficiales de azufre presentes en el catalizador.

3.6.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Conocida la acidez total y la fuerza de los sitios ácidos, resulta fundamental investigar la naturaleza de dichos sitios, esto es, determinar si el catalizador posee sitios ácidos tipo Lewis o Brönsted. La espectroscopía FT-IR de piridina adsorbida es una de las técnicas más comúnmente usada para distinguir el tipo de acidez presente en la superficie de los catalizadores. Esto es posible debido a que la molécula de piridina se absorbe como ión piridinio en los sitios ácidos de Brönsted o bien se enlaza coordinadamente en los sitios ácidos de Lewis, causando cambios vibracionales en el anillo de piridina, los cuales se registran en diferentes longitudes de onda del espectro infrarrojo.

Tal como lo reportan diversos autores [21,37,38,39,40], al ser adsorbida la piridina sobre una gran variedad de sólidos ácidos, en el espectro IR se observan señales características en el rango entre 1400 y 1650 cm^{-1} . Se han encontrado tres modos de adsorción de la molécula:

- la formación de especies protonadas sobre los sitios Brönsted, con señales características en 1640, 1490 y 1545 cm^{-1}
- especies coordinadas debido a la transferencia de electrones de la piridina hacia los sitios ácidos de Lewis, con bandas en 1620, 1490 y 1455 cm^{-1}
- interacción de piridina con OH de la superficie mediante enlaces por puente hidrógeno, con señal en 1600 cm^{-1} .

En la *Figura 3.14* se esquematizan las interacciones que pueden surgir cuando se produce la adsorción de piridina sobre los sitios ácidos Lewis y Brönsted en un óxido metálico [41]. La especie **I** representa una interacción típica entre la piridina y un centro ácido de Lewis localizado sobre la superficie del catalizador. Por su parte, las especies **II**

a **V** corresponden a interacciones de la piridina sobre centros ácidos de Brönsted, aunque es la especie **IV** la que puede considerarse realmente como una interacción entre la base y un centro ácido de Brönsted, ya que se produce la transferencia total del protón.

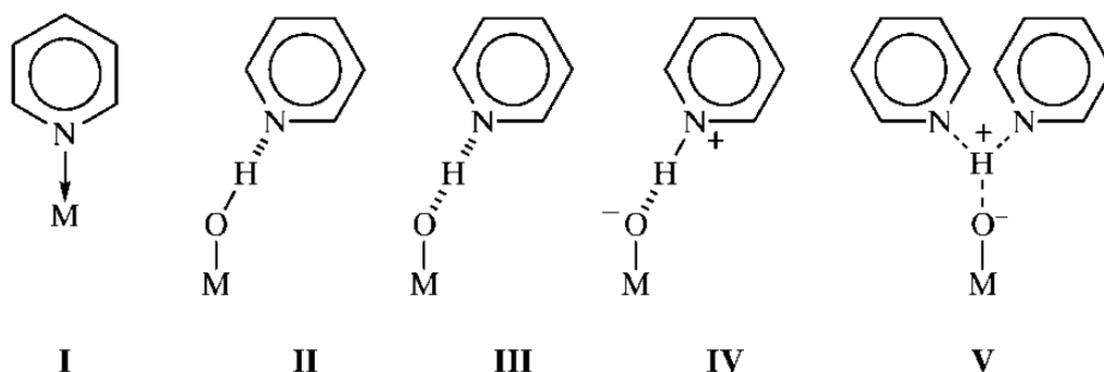


Figura 3.14. Esquema de las posibles interacciones de la piridina sobre los centros Lewis y Brönsted de la superficie de un óxido metálico. Fuente: Busca [41].

Las Figuras 3.15 y 3.16 muestran los espectros FT-IR de todos los catalizadores estudiados, antes (Figuras 3.15 (a) y 3.16 (a)) y después de la adsorción de piridina a 100°C, seguida por purga en flujo de nitrógeno a 100°C. En ambas figuras solo se muestra la región del espectro donde se presentan las señales características de piridina. Previamente a la adsorción de piridina, los sólidos fueron tratados a 40°C (Figuras 3.15 (b) y 3.16 (b)) o a 400°C (Figuras 3.15 (c) y 3.16 (c)). En las Figuras 3.17 y 3.18 se presentan los espectros IR completos para las muestras estudiadas.

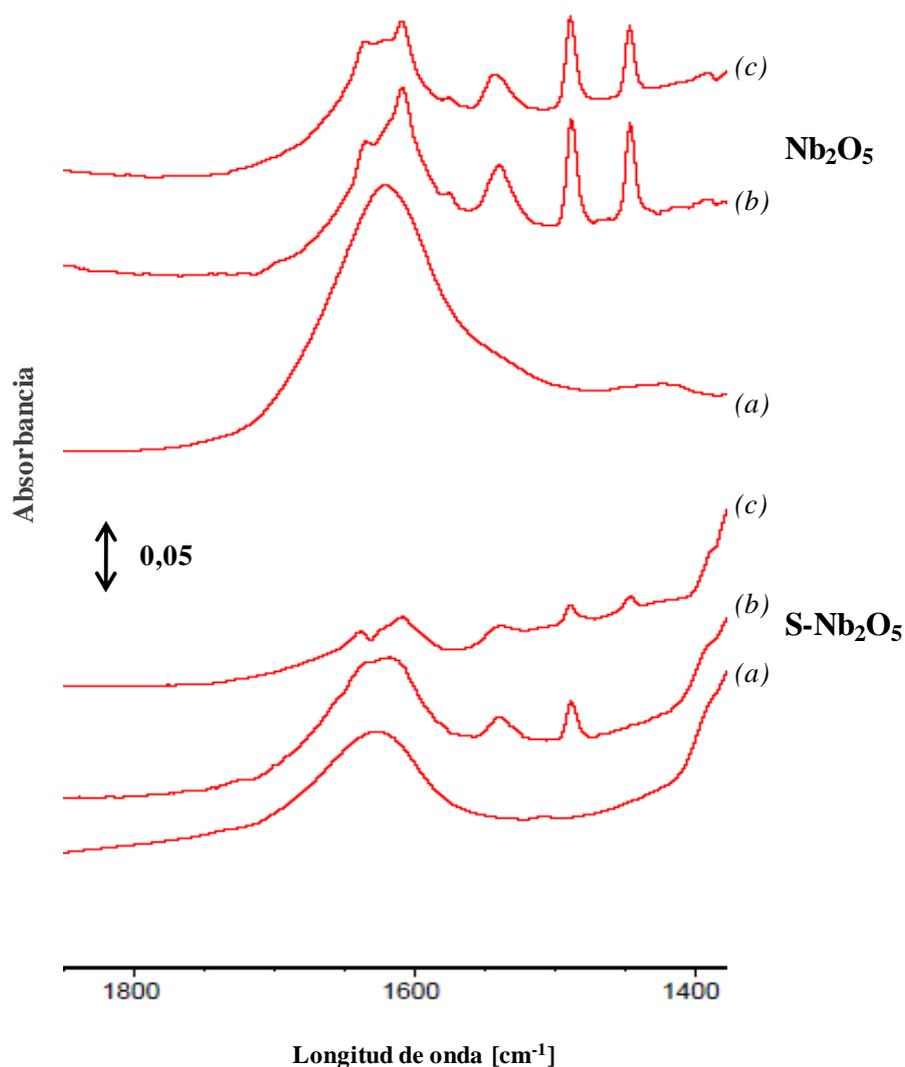


Figura 3.15. Espectros FT-IR correspondientes a Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ (a) curva sin adsorción de piridina, (b) pretratamiento de la superficie a 40°C, (c) pretratamiento de la superficie a 400°C, en ambos casos la adsorción de piridina a 100°C, seguida por purga a 100°C.

En la *Figura 3.15* se observan las señales características de piridina adsorbida sobre sitios Lewis y Brönsted en la superficie de Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ cuando las muestras fueron pretratadas a 40 y 400°C. Para niobia, el espectro es similar luego de los dos tratamientos térmicos, pero no ocurre lo mismo para niobia sulfatada, que presenta sólo sitios ácidos de Brönsted cuando fue tratada a 40°C. La intensidad de las señales

(expresada en absorbancia) para la muestra S-Nb₂O₅ es menor, y esto se atribuye a su reducida área superficial (8 vs. 75 m²/g).

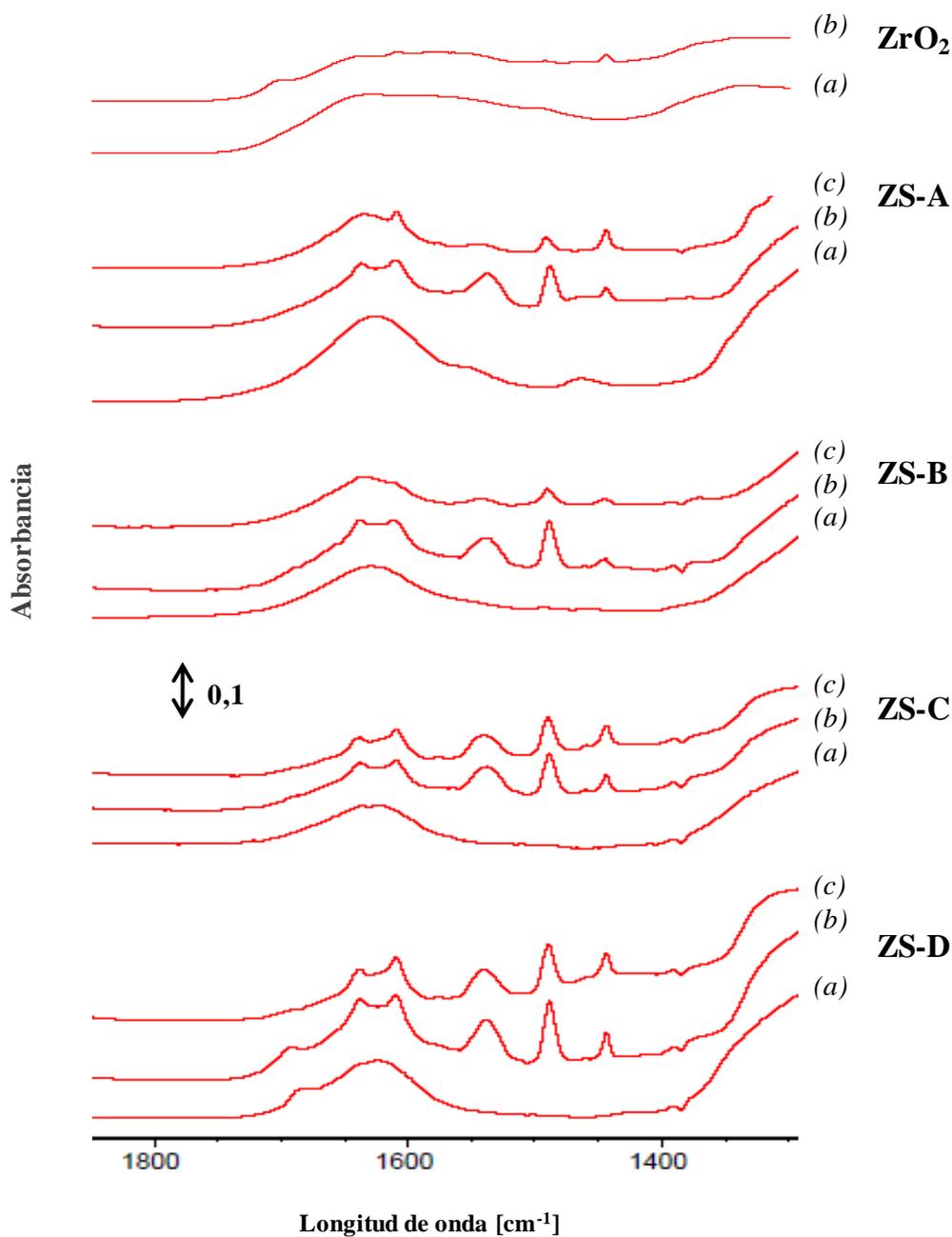


Figura 3.16. Espectros FT-IR correspondientes a la circonia pura y circonias sulfatadas (a) curva sin adsorción de piridina, (b) pretratamiento de la superficie a 40°C, (c) pretratamiento de la superficie a 400°C, en ambos casos la adsorción de piridina a 100°C, seguida por purga a 100°C.

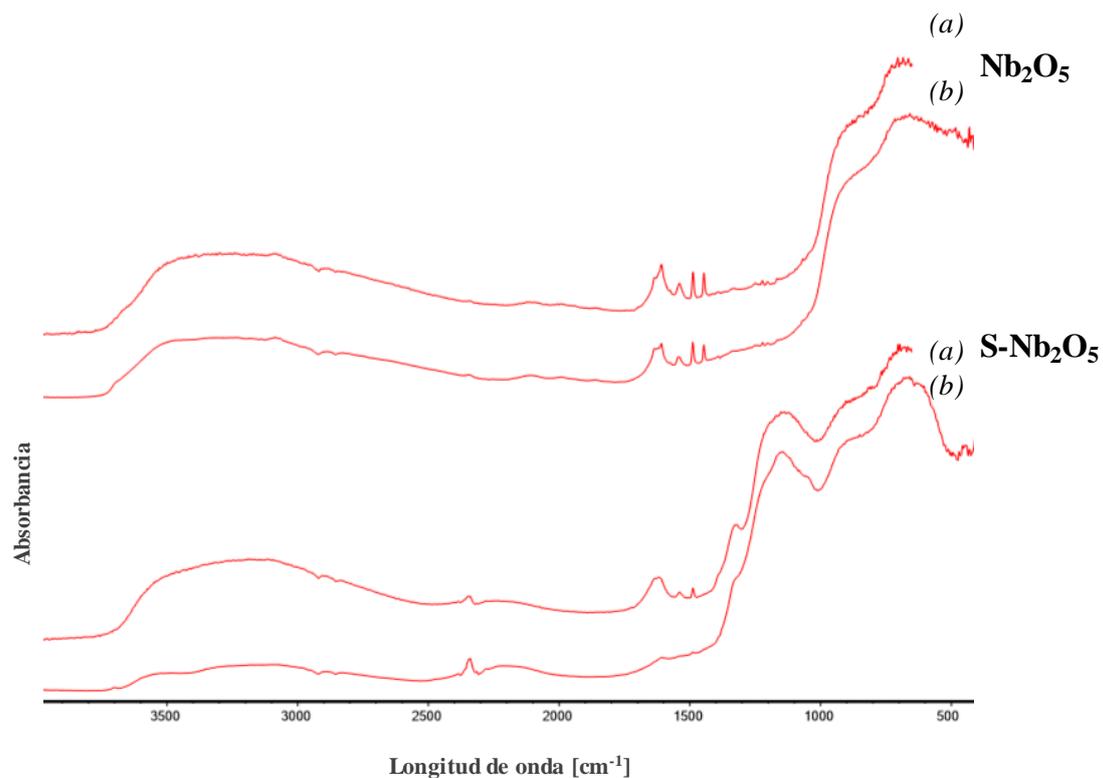


Figura 3.17. Espectros FT-IR correspondientes a Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅ con pretratamiento de la superficie (a) 40°C y (b) 400°C.

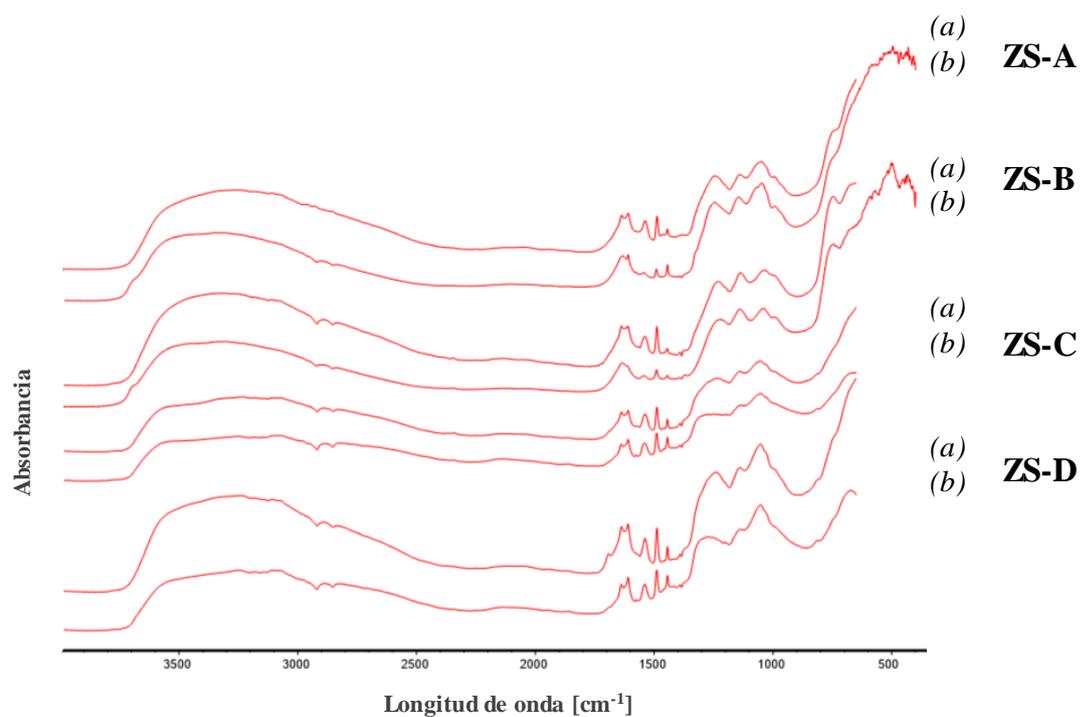


Figura 3.18. Espectros FT-IR correspondientes a circonias sulfatadas con pretratamiento de la superficie (a) 40°C y (b) 400°C.

En la *Figura 3.16*, el espectro correspondiente a ZrO_2 presenta solo la señal a 1450 cm^{-1} asociada a los sitios Lewis. En todas las circonias sulfatadas, se hace evidente la coexistencia de las bandas correspondientes a ambos tipos de sitios. Esto estaría indicando que, durante el tratamiento de sulfatación de la circonia, se generan sitios Brönsted [13,21].

En la *Figura 3.17*, para las muestras Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ se pueden observar bandas anchas causadas por la anisotropía de los enlaces $\text{Nb}=\text{O}$ (niobilo) con una señal centrada en 640 cm^{-1} y un hombro en 915 cm^{-1} debido al enlace $\text{Nb}-\text{O}$ [42]. Alrededor de 3400 cm^{-1} , aparece una señal que puede atribuirse a los grupos hidroxilos ($\text{Nb}-\text{OH}$) [43]. Para la muestra $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ pretratada a 400°C , esta señal se ve marcadamente reducida. Para las circonias sulfatada, la *Figura 3.18* muestra una señal amplia e intensa correspondiente a los grupos OH.

La incorporación de azufre en forma de especie sulfato en los catalizadores Nb_2O_5 y ZrO_2 puede ser confirmada a partir de espectros de absorción IR en la región comprendida entre 900 y 1400 cm^{-1} donde se presentan las vibraciones atribuidas a los enlaces $\text{S}-\text{O}$ y $\text{S}=\text{O}$ [44]. La *Figura 3.19* presenta los espectros correspondientes a los óxidos puros y las muestras sulfatadas en esta región.

En el caso de la muestra $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ (*Figura 3.19 (b)*), las señales en 1148 , 1053 y 890 cm^{-1} se atribuyen a los enlaces $\text{S}-\text{O}$ y $\text{S}=\text{O}$. Aunque existen pocos estudios sobre niobia sulfatada en la bibliografía, observaciones similares fueron reportadas por otros autores [43,45].

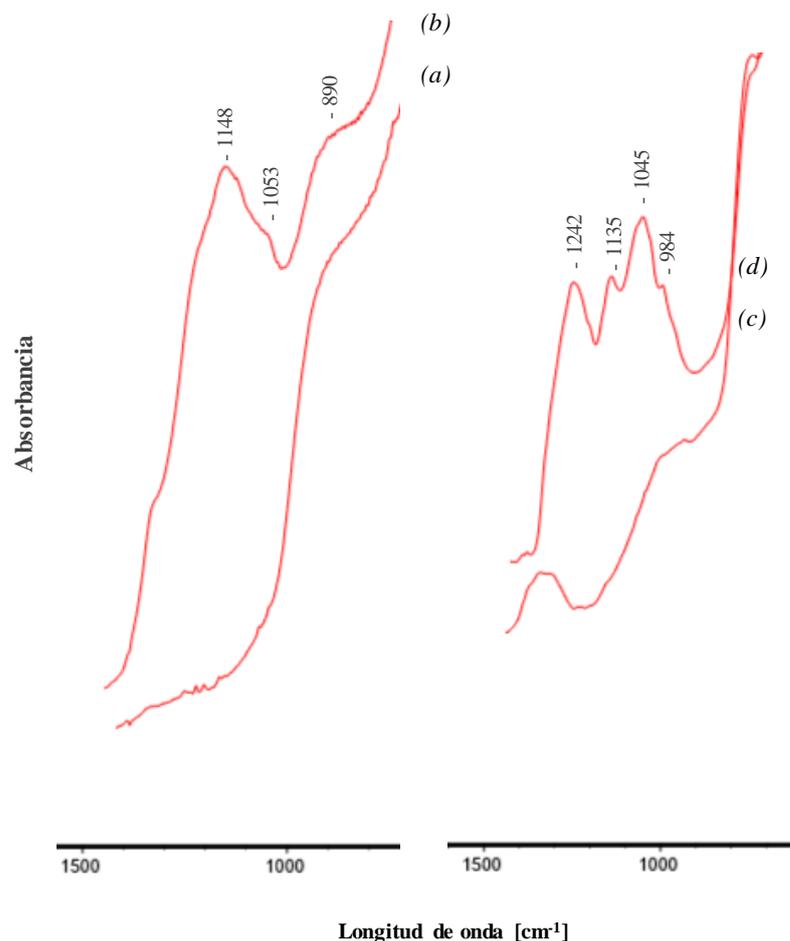


Figura 3.19. Espectros FT-IR correspondientes a los óxidos puros Nb_2O_5 (a) y ZrO_2 (c) y sus correspondientes óxidos sulfatados $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ (b) y ZS-A (d), pretratados a 400°C .

Con respecto a las muestras de circonia sulfatada, en la *Figura 3.19 (d)* se presenta el espectro correspondiente al sólido ZS-A. En él, al igual que lo presentado por otros autores [1,46], pueden observarse cuatro picos en 1242 , 1135 , 1045 y 984 cm^{-1} que no están presentes en la muestra pura. Las dos primeras bandas y las dos últimas pueden ser asignadas a las frecuencias de estiramiento asimétricas y simétricas de los grupos $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ y O-S-O [24,47], características de la presencia del sulfato quelato bidentado coordinado a Zr^{4+} (*Figura 3.20 (a)*). Analizando la *Figura 3.18*, este mismo resultado se encontró para las muestras ZS-B, ZS-C y ZS-D pretratadas a 40°C y ZS-A y ZS-B pretratada a

400°C. En el caso de ZS-C y ZS-D pretratadas a 400°C, se observa una señal ubicada a 1390 cm⁻¹, que corresponde a la frecuencia de estiramiento asimétrico de S=O del ión sulfato unido a ZrO₂ en estado deshidratado, en el cual, tres O del grupo sulfato están enlazados a Zr superficiales (*Figura 3.20 (b)*) [24,48,49].

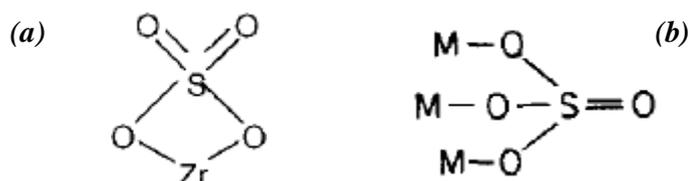


Figura 3.20. Estructuras para especies de azufres sobre circonia (*a*) sulfato quelato bidentado, (*b*) sulfato tridentado [25].

Rosenthal y col. [50] encontraron que los coeficientes de extinción para las señales correspondientes a sitios Lewis y Brönsted eran iguales. En función de ese resultado, y teniendo en cuenta el trabajo publicado por Emeis [51], se calculó la fracción de sitios ácidos de Brönsted y Lewis, para cada muestra a las distintas temperaturas de pretratamiento, mediante las *Ecuaciones 3.3 y 3.4* [52]:

$$Br = \frac{I_B}{I_B + I_L} * 100 \quad (Ec. 3.3)$$

$$Le = \frac{I_L}{I_B + I_L} * 100 \quad (Ec. 3.4)$$

donde I_B es la intensidad del pico a 1545 cm⁻¹, atribuidos a los cationes piridinio adsorbido en el sitio ácido de Brönsted y I_L es la intensidad a 1455 cm⁻¹ de la molécula de piridina coordinada al sitio ácido de Lewis. La *Tabla 3.7* presenta la concentración relativa de sitios ácidos (Lewis y Brönsted) y la relación entre ellos, para los catalizadores

pretratados a 40 y 400°C. Este método se utilizó para determinar cualitativamente (no cuantitativamente) el cambio en esta relación en las muestras pretratadas.

Tabla 3.7. Concentración relativa del sitio de Brönsted / ácido de Lewis para los catalizadores pretratados a 40 y 400°C.

Catalizador	Temperatura del pretratamiento					
	40°C			400°C		
	Br [%]	Le [%]	Br/Le	Br [%]	Le [%]	Br/Le
Nb ₂ O ₅	38	62	0,6	33	67	0,5
S-Nb ₂ O ₅	100	*	[Le]~0	61	39	1,6
ZrO ₂	*	100	[Br]~0	-	-	-
ZS-A	70	30	2,3	18	82	0,2
ZB-B	73	27	2,7	48	52	0,9
ZS-C	60	40	1,5	52	48	1,1
ZB-D	59	41	1,4	55	45	1,2

* Por debajo de los límites detectables.

[Le]~0, [Br]~0: La concentración de sitios está por debajo de los límites detectables.

Al analizar la *Tabla 3.7* se observa que, al aumentar la temperatura de pretratamiento, el porcentaje de sitios Brönsted disminuye en todos los casos, aunque en distinta proporción. En el caso de las muestras ZS-A y ZS-B, la relación Br/Le cambia notoriamente. Luego del tratamiento a alta temperatura esta relación cambia de 2,3 y 2,7 a 0,2 y 0,9; respectivamente. Para ZS-C y ZS-D, el cambio es mucho menor (1,5 y 1,4 a 1,1 y 1,2; respectivamente).

En el caso de Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅, esta última muestra es la que mayor cantidad de sitios Brönsted pierde con el tratamiento de alta temperatura. Además, se puede ver que

el catalizador Nb_2O_5 es el único que presenta una relación menor a 1 para ambas temperaturas de pretratamiento.

Con el aumento de la temperatura de pretratamiento de la superficie ocurre la deshidroxilación de la superficie del catalizador, eliminando grupos OH presentes [53] y dando lugar a la disminución de la reacción Br/Le.

Para las circonias sulfatadas, la caracterización de la acidez indica que la superficie de los sólidos contiene sitios ácidos de Brønsted y Lewis. En la bibliografía, la naturaleza de estos sitios ha sido ampliamente discutida y se han propuesto diferentes modelos [24,25,54]. Tanabe y col. propusieron una estructura para el sitio ácido en los óxidos metálicos sulfatados basado en complejos bidentados quelantes [46,47,55]. El ión metálico central actúa como un sitio ácido de Lewis, cuya fuerza ácida puede verse fuertemente influenciada por el efecto inductivo de S=O en el complejo de azufre. Arata y col. [8] propusieron la presencia de especies superficiales bidentadas tipo puentes, y observaron que los sitios de Lewis y Brønsted en circonia sulfatada son fácilmente modificables por adsorción o desorción de moléculas de agua.

En la *Figura 3.21* se esquematiza un modelo de estructura para la superficie del catalizador de circonia sulfatada que concuerda con los resultados previamente mencionados y los reportados en esta tesis [24,56]. El sitio ácido de Lewis (Zr^{4+}) llega a ser notablemente más fuerte por el efecto inductivo del enlace S=O en el complejo. Si las moléculas de agua están presentes, los sitios ácidos de Lewis se convierten en sitios ácidos de Brønsted como resultado de la captación de moléculas de agua. Y los sitios de Brønsted se convierten a los sitios de Lewis si las moléculas de agua se quitan.

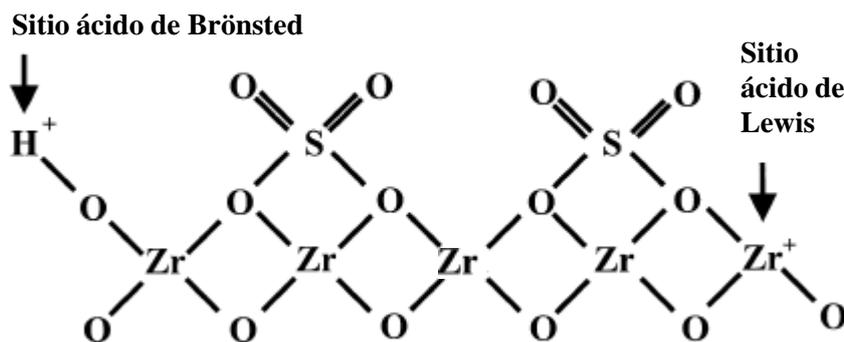


Figura 3.21. Representación esquemática de la estructura modelo propuesta para los sitios ácidos de Lewis y Brønsted presentes en la superficie de la circonia sulfatada. Fuente: Adaptación Sohn y col. [24].

Con respecto a la superficie de niobia sulfatada, mediante el uso de espectroscopias IR y XPS, de Pietre y col. [43] propusieron como sitios activos ácidos a aniones bisulfato en la superficie de niobia. Una propuesta similar hizo Rocha y col. [45] usando el método de cálculo DFT (*Density Functional Theory*). En la *Figura 3.22* se muestra un esquema de la superficie propuesta por estos autores y que podría aplicarse al catalizador estudiado en esta tesis, considerando los resultados de caracterización presentados en este capítulo. Cabe aclarar que las muestras niobia y niobia sulfatada utilizadas en esta tesis presentan carácter amorfo, a diferencia del modelo estudiado por Rocha y col. [45].

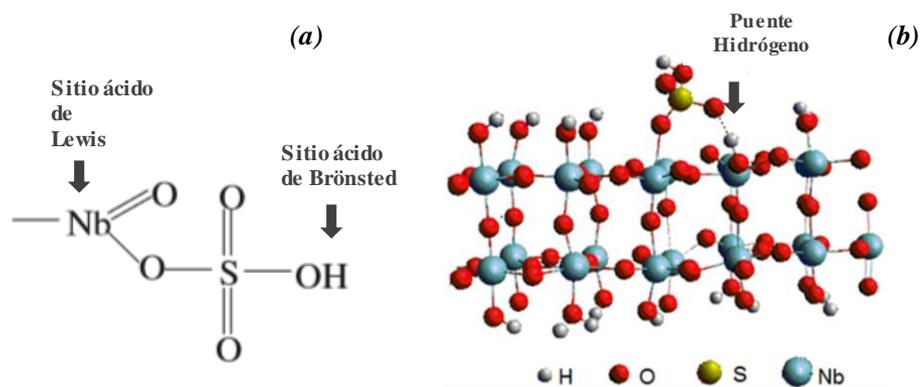


Figura 3.22. Representación esquemática de la estructura modelo propuesta para los sitios ácidos de Lewis y Brønsted presentes en la superficie de niobia sulfatada. Fuente: (a) de Pietre y col. [43], (b) Rocha y col. [45].

3.7. Conclusiones

Se determinó que todos los catalizadores estudiados son sólidos mesoporosos, siendo amorfas ambas muestras de niobia (Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$) y cristalinas todas las circonias (óxido y muestras sulfatadas). Se encontró que la sulfatación del catalizador Nb_2O_5 ocasionó una gran disminución del área superficial (75 a 8 m^2/g) y del volumen de poro (0,11 a 0,01 cm^3/g), además de un aumento del diámetro de poro, originando un material menos poroso. Por el contrario, la sulfatación del sólido ZrO_2 , generó catalizadores con áreas superficiales mayores (48 vs. 90-115 m^2/g).

Se encontró que tanto la fuente de sulfato como el método de sulfatación empleado influían en el contenido de azufre retenido finalmente por el catalizador. La muestra ZS-A tratada con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, fue la que menor cantidad de azufre presentó, en comparación con las tratadas con H_2SO_4 . Por su parte, las muestras obtenidas por el método de inmersión ($\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ y ZS-D) fueron las que mayores valores de azufre presentaron.

La estructura cristalina de las circonias sulfatadas pareció verse afectada por el contenido de azufre. Se encontró que las muestras con mayor contenido de azufre

crystalizaron sólo en la forma tetragonal (ZS-C y ZS-D), mientras que las que presentaron menor contenido de azufre (ZS-A y ZS-B) coexistieron en distinta proporción las fases tetragonal y monoclinica. Los resultados de esta tesis, en concordancia con la bibliografía, indican que la presencia de sulfato estabiliza la fase tetragonal de la circonia.

En cuanto al tamaño y distribución de tamaños de partículas, el catalizador Nb_2O_5 presentó la distribución de tamaño más amplia (entre 0,06 y 110 μm). Además, fue el único en el que se evidenciaron dos poblaciones de partículas de diferentes tamaños (0,15 y 16,8 μm). El resto de los catalizadores presentaron una distribución unimodal con tamaños de partícula entre 14 y 100 μm , aproximadamente. Mediante SEM se observó que las muestras de circonias sulfatadas presentaron partículas sueltas y aglomeradas con forma irregular y densidad de empaquetamiento variable. En el caso de las muestras Nb_2O_5 y S- Nb_2O_5 se pudo apreciar que las partículas se encuentran formando aglomerados, pero los mismos no se presentaban tan compactos como en el caso de las circonias sulfatadas.

Mediante la técnica de titulación potenciométrica con n-butilamina se realizó la cuantificación de los sitios ácidos y se determinó la distribución de la fuerza de los sitios presentes en los sólidos. En todos los casos se pudo observar que, al aumentar la temperatura de pretratamiento (de 40 a 400°C), la acidez superficial disminuía. Los valores de acidez variaron entre 0,74 y 1,79 meq n-bta/gcat, para las muestras de óxidos de niobio (con y sin sulfatación), y entre 0,99 y 2,27 meq n-bta/gcat para la circonia pura y circonias sulfatadas. A su vez, la máxima fuerza ácida determinada para los catalizadores sintetizados fue Muy fuerte y Fuerte cuando el pretratamiento se realizó a 40 y 400°C, a excepción de S- Nb_2O_5 que tratada a 400°C, fue Débil.

La interacción de piridina con la superficie catalítica resultó un parámetro clave para conocer la naturaleza Brønsted o Lewis de los sitios ácidos. Mediante la técnica de IR se pudo determinar el porcentaje presente de sitios Lewis y Brønsted, encontrándose que la cantidad de sitios Brønsted disminuía al aumentar la temperatura de pretratamiento.

3.8. Referencias

- [1] Mishra M.K., Tyagi B., Jasra R.V., *Effect of Synthetic Parameters on Structural, Textural, and Catalytic Properties of Nanocrystalline Sulfated Zirconia Prepared by Sol-Gel Technique*. Industrial & Engineering Chemistry Research 42 (2003) 5727-5736.
- [2] Hernández Enríquez J.M., García Serrano L.A., *Síntesis, caracterización y evaluación catalítica de un ZrO_2 con fase monoclinica*. Síntesis y vacío 22 (2) (2009) 1-9.
- [3] Thomas J.M. and Thomas W.J., En: *Introduction to the principles of heterogeneous catalysis*. 4ta edición, Academia press inc, London (1975) Chapter 4.
- [4] Davis B.H., Keogh R.A., Sirinivasan R., *Sulfated zirconia as a hydrocarbon conversion catalyst*. Catalysis Today 20 (1994) 219-256.
- [5] Chen F.R., Coudurier G., Joly J.F., Vedrine J.C., *Superacid and catalytic properties of sulfated zirconia*. Journal of Catalysis 143 (1993) 616-626.
- [6] Sandoval-Flores G., Silva-Rodrigo R., Domínguez-Esquivel J.M., Ramírez M.T., *Caracterización de las propiedades acidas de circonia sulfonada (ZrO_2-SO_4)*. Revista Mexicana de Ingeniería Química 3 (2004) 177-180.
- [7] Reddy B.M., Patil M.K., Reddy B.T., *An Efficient Protocol for Aza-Michael Addition Reactions Under Solvent-Free Condition Employing Sulfated Zirconia Catalyst*. Catalysis Letters 126 (2008) 413-418.
- [8] Arata K., Hino M., *Preparation of superacids by metal oxides and their catalytic action*. Materials Chemistry and Physics 26 (3-4) (1990) 213-237.
- [9] Rouquerol J., Avnir D., Fairbridge C.W., Everett D. H., Haynes J.M., Pernicone N., Ramsay J.D., Sing K.S., Unger K.K., *Recommendations for the characterization of porous solids (Technical Report)*. Pure and Applied Chemistry 66 (1994) 1739-1758.
- [10] Song X., Sayari A., *Sulfated Zirconia-Based Strong Solid-Acid Catalysts: Recent Progress*. Catalysis Reviews: Science and Engineering 38 (1996) 329-412.

- [11] Guevara Franco M.L., Robles Andrade S., García Alamilla R., Sandoval Robles G., Domínguez Esquivel J.M., Zamora J., *Síntesis de óxidos mixtos de Al_2O_3 - ZrO_2 y el efecto de la sulfatación*. Revista Mexicana de Ingeniería Química 2 (2003) 29-33.
- [12] García E., *Caracterización de circonia sulfatada promovida con distintos metales de transición*. Tesis de Magister en Química, Universidad Nacional del Sur (2003).
- [13] Babou F., Coudurier G., Vedrine J.C., *Acidic properties of sulfated zirconia: an infrared spectroscopic study*, Journal of Catalysis 152 (1995) 341-349.
- [14] Santos D.P., Silva C.T., de Albuquerque R.V., *Preparation and Characterization of Niobium Oxide Obtained from Niobium Acid ($Nb_2O_5 \cdot nH_2O$) by using Thermal Decomposition*. Exatas Online 8 (2017) 1-8.
- [15] Patil R. N., Subbarao E. C., *Monoclinic-Tetragonal Phase Transition in Zirconia: Mechanism, Pretransformation and Coexistence*. Acta Crystallographica A26 (1970) 535-542.
- [16] Lynch C. T., Bahldiek F. W., Robinson L. B., *Monoclinic-Tetragonal Transition of Zirconia*. Journal of the American Ceramic Society. 44 (1961) 147-148.
- [17] Srinivasan R., De Angelis R. J., Ice G., Davis B. H., *Identification of tetragonal and cubic structures of zirconia using synchrotron x-radiation source*. Journal of Materials Research 6 (6) (1991) 1287-1292.
- [18] Suyama R., Ashida T., Kume S., *Synthesis of the Orthorhombic Phase of ZrO_2* . Journal of the American Ceramic Society 68 (12) (1985) C 314-315.
- [19] Gómez R., López T., *Dehydroxylation and the Crystalline Phases in Sol-Gel Zirconia*. Journal of Sol-Gel Science and Technology 11 (1998) 309-319.
- [20] Costa Pereira A., Marchetti S, Albornoz A., Reyes P., Oportus M., Rangel M., *Effect of iron on the properties of sulfated zirconia*. Applied Catalysis A: General 334 (2008) 187-198.
- [21] Chen W. H, Ko H. H., Sakthivel A., Huang S. J., Liu S. H., Lo A.Y., Tsai T. C., Liu S. B., *A solid-state NMR, FT-IR and TPD study on acid properties of sulfated and metal-promoted zirconia: Influence of promoter and sulfation treatment*. Catalysis Today 116 (2006) 111-120.

- [22] Rezaei M., Alavi S. M., Sahebdehfar S., Bai P., Liu X., Yan Z. F., *CO₂ reforming of CH₄ over nanocrystalline zirconia-supported nickel catalysts*. Appl. Catal. B 77 (2008) 346-354.
- [23] Arregoitia Quezada M. I., García Alamilla R., Hernández Enríquez J.M., Sandoval Robles J.G., *Síntesis y caracterización de óxido de circonio modificado con ión fosfato*. Superficies y Vacío 26 (1) (2013) 13-17.
- [24] Sohn J.R., Lee S.H., Lim J.S., *New solid superacid catalyst prepared by doping ZrO₂ with Ce and modifying with sulfate and its catalytic activity for acid catalysis*. Catalysis Today 116 (2006) 143-150.
- [25] Reddy B.M., Patil M.K., *Organic Syntheses and Transformations Catalyzed by Sulfated Zirconia*. Chemical Reviews 109 (2009) 2185-2208.
- [26] Morterra C., Cerrato G., Pinna F., Signoretto M., *Crystal Phase, Spectral Features, and Catalytic Activity of Sulfate-Doped Zirconia Systems*. Journal of Catalysis 157 (1995) 109-123.
- [27] Stichert W., Schüth F., Kuba S., Knözinger H., *Monoclinic and Tetragonal High Surface Area Sulfated Zirconias in Butane Isomerization: CO Adsorption and Catalytic Results*. Journal of Catalysis 198 (2001) 277-285.
- [28] Srinivasan R., Davis B.H., *Influence of zirconium salt precursors on the crystal structures of zirconia*. Catalysis Letters 14 (1992) 165-170.
- [29] Cid R., Pecchi G., *Potentiometric method for determining the number and strength of acid sites in colored catalysts*. Applied Catalysts 14 (1985) 15-21.
- [30] Ahmed A.I., El-Hakam S.A., Samra S.E., EL-Khouly A.A., Khder A.S., *Structural characterization of sulfated zirconia and their catalytic activity in dehydration of ethanol*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 317 (2008) 62-70.
- [31] Khder A.S., El-Sharkawy E.A., El-Hakam S.A., Ahmed A.I., *Surface characterization and catalytic activity of sulfated tin oxide catalyst*. Catalysis Communications 9 (2008) 769-777.
- [32] Covarrubias C., Quijada R., Rojas R., *Synthesis of nanosized ZSM-2 zeolite with potential acid catalytic properties*. Microporous and Mesoporous Materials 117 (2009) 118-125.

- [33] Xia Q., Cuan Q., Liu X., Gong X., Lu G., Wang Y., *Pd/NbOPO₄ Multifunctional Catalyst for the Direct Production of Liquid Alkanes from Aldol Adducts of Furans*. *Angewandte Chemie International Edition* 53 (2014) 9755-9760.
- [34] García-Alamilla R., Hernández-Enríquez J. M., Cortez-Lajas LA., Aragón-Silva M.R., García-Alamilla P., Robles-Andrade S., *Evaluación de la acidez superficial de óxidos de circonio modificados con tungsteno y molibdeno*. *Revista boliviana de química* 27 (2010) 1-6.
- [35] Reta J.L., García R., Sandoval G., Rivera J.L., Hernández J.M., Montes de Oca A.J., *Preparation of zirconium oxides modified with borate ions tested in catalytic dehydration of ethanol*. *Revista Mexicana de Física* 55 (2009) 98-101.
- [36] Pizzio L.R., Blanco M.N., *Tungstophosphoric and molybdophosphoric acids supported on zirconia as esterification catalysts*. *Applied Catalysts A: General* 255 (2003) 265-277.
- [37] Maache M., Janin A., Lavalley J.C., Joly J.F., Benazzi E., *Acidity of zeolites Beta dealuminated by acid leaching: An FT-IR. study using different probe molecules (pyridine, carbon monoxide)*. *Zeolites* 13 (1993) 419-426.
- [38] Tonetto G., Atias J., de Lasa H., *FCC catalysts with different zeolite crystallite sizes: acidity, structural properties and reactivity*. *Applied Catalysis A: General* 270 (2004) 9-25.
- [39] Wang X., Yu J., Liu P., Wang X., Su W., Fu X., *Probing of photocatalytic surface sites on SO₄²⁻/TiO₂ solid acids by in situ FT-IR spectroscopy and pyridine adsorption*. *Journal of Photochemistry and photobiology A: Chemistry* 179 (2006) 339-347.
- [40] Chakraborty B., Viswanathan B., *Surface acidity of MCM-41 by in situ IR studies of pyridine adsorption*. *Catalysis Today* 49 (1999) 253-260.
- [41] Busca G., *The surface acidity of solid oxides and its characterization by IR spectroscopic methods. An attempt at systematization*. *Physical Chemistry Chemical Physics* 1 (1999) 723-736.
- [42] Armaroli T., Busca G., Carlini C., Giuttari M., Galletti A.M.R., Sbrana G., *Acid sites characterization of niobium phosphate catalysts and their activity in fructose dehydration to 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde*. *Journal of Molecular Catalysis A Chemical* 151 (2000) 233-243.

- [43] de Pietre M. K., Almeida L., Landers R., Vinhas R., Luna F., *H₃PO₄- and H₂SO₄-treated niobic acid as heterogeneous catalyst for methyl ester production*. Reaction Kinetics, Mechanisms and Catalysis 99 (2010) 269-280.
- [44] Canela M.C., Alberici R.M., Jardim W.F., *Gas-phase destruction of H₂S using TiO₂/UV-VIS*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry I 12 (1998) 73-80.
- [45] Rocha A., G. Costa, Tamiasso-Martinhon P., Sousa C., Rocha A., *Acidity enhancement of Niobia by sulfation: An experimental and DFT study*. Materials Chemistry and Physics 186 (2017) 138-145.
- [46] Jin T., Yamaguchi T., Tanabe K., *Mechanism of Acidity Generation on Sulfur-Promoted Metal Oxides*. The Journal of Physical Chemistry 90 (1986) 4194-4196.
- [47] Yamaguchi T., Jin T., Tanabe K., *Structure of Acid Sites on Sulfur-Promoted Iron Oxide*. The Journal of Physical Chemistry 90 (1986) 3148-3152.
- [48] Saur O., Bensitel M., Saad A.B.M., Lavalley J.C., Tripp C.P., Morrow B.A., *The structure and stability of sulfated alumina and titania*. Journal of Catalysis 99 (1986) 104-110.
- [49] Metal Oxide Catalysis, S. David Jackson (Editor), Justin S. J. Hargreaves (Editor) ISBN: 978-3-527-31815-5 (2008).
- [50] Rosenthal D., White M., Parks G.D., *Estimating the Relative Acid Site Density of Silica-Alumina by Infrared Spectroscopy Using a Selective Reactant Poison*. AIChE Journal 33 (1987) 336-340.
- [51] Emeis C. A., *Determination of integrated molar extinction coefficients for infrared absorption bands of pyridine adsorbed on solid acid catalysts*. Journal of Catalysis 141 (1993) 347-354.
- [52] Katada N., Endo J., Notsu K., Yasunobu N., Naito M., Niwa M., *Superacidity and Catalytic Activity of Sulfated Zirconia*. Journal of Physical Chemistry B 104 (2000) 10321-10328.
- [53] Morterra C., Cerrato G., Ardizzone S., Bianchi C. L., Signoretto M, Pinna F., *Surface features and catalytic activity of sulfated zirconia catalysts from hydrothermal precursors*. Physical Chemistry Chemical Physics (2002) (4) 3136–3145.

[54] García E., Volpe M.A., Ferreira M.L., Rueda E., *A discussion of a mechanism for isomerization of n-butane on sulfated zirconia*. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical* 201 (2003) 263-281.

[55] Jin T., Machida M., T. Yamaguchi, K. Tanabe, *Infrared Study of Sulfur-Containing Iron Oxide. Behavior of Sulfur during Reduction and Oxidation*. *Inorganic Chemistry* 23 (1984) 4396-4398.

[56] Alab P., Sani Y., Daud W., *Efficient biodiesel production via solid superacid catalysis: a critical review on recent breakthrough*. *RSC Adv.* 6 (2016) 78351-78368.

4. ACTIVIDAD Y SELECTIVIDAD DE LOS CATALIZADORES

4.1. *Introducción*

En este capítulo se presentarán los resultados obtenidos en la reacción de acidólisis de tripalmitina (PPP) y ácido cáprico (C), utilizando los catalizadores heterogéneos sintetizados. Estos resultados de reacción se cotejarán con los obtenidos al realizar los ensayos en ausencia de catalizador.

En la investigación de las diferentes reacciones y catalizadores resulta fundamental analizar los procesos de transferencia de masa y energía a fin de determinar cuál es la influencia de los mismos en el proceso global de reacción. Si no son considerados, el estudio cinético puede estar basado en suposiciones no validadas. Es por esta razón que en este capítulo se evalúan diversos criterios a fin de determinar estos fenómenos.

Por otra parte, se relacionarán los resultados de actividad catalítica y caracterización de los sólidos sintetizados, a fin de investigar las características del sitio activo para la reacción de interés. También se estudia la estabilidad de los catalizadores en usos consecutivos.

4.2. *Estabilidad térmica de los reactivos*

La estabilidad térmica es la habilidad de una sustancia para mantener, durante el calentamiento, sus propiedades constantes. Durante el calentamiento de una sustancia se producen fenómenos físicos, como su fusión o evaporación, y procesos químicos, como reacciones (pirolíticas, oxidativas, etc).

El calentamiento de grasas y aceites puede producir varios cambios químicos, algunos importantes desde el punto de vista del aroma, aspecto, valor nutritivo y

toxicidad. En esta sección se analizará el comportamiento de PPP y los ácidos grasos cáprico y caproico en atmósfera inerte, tal como se realizan los ensayos catalíticos (en los *Capítulo 4, 5 y 6*). En general, se necesitan temperaturas muy altas para producir una descomposición sustancial no oxidativa de los ácidos grasos saturados. El calentamiento de triglicéridos a temperaturas superiores a los 200°C origina productos de descomposición que consisten principalmente en hidrocarburos, ácidos y cetonas [1].

Se realizaron análisis termogravimétricos (TGA) mediante los cuales se determinó la estabilidad térmica de los reactivos en atmósfera de nitrógeno. Por sus ventajas en términos de precisión y sensibilidad, esta técnica ha sido utilizada para evaluar la calidad, el comportamiento térmico y la estabilidad de grasas y aceites [2,3,4,5].

Las *Figuras 4.1, 4.2 y 4.3* presentan las curvas termogravimétricas (TG y derivada DTG) para la tripalmitina y los ácidos cáprico y caproico. En todos los casos se encontró que las curvas presentan una sola etapa, característica de compuestos que presentan solo ácidos graso saturados [2].

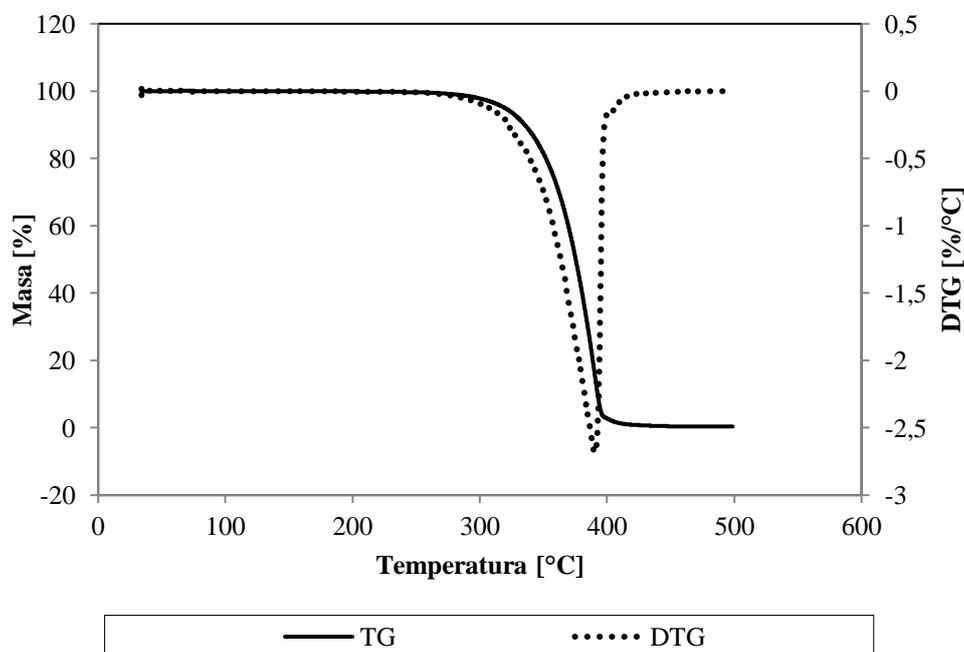


Figura 4.1. Curvas termogravimétricas de PPP en atmósfera de nitrógeno.

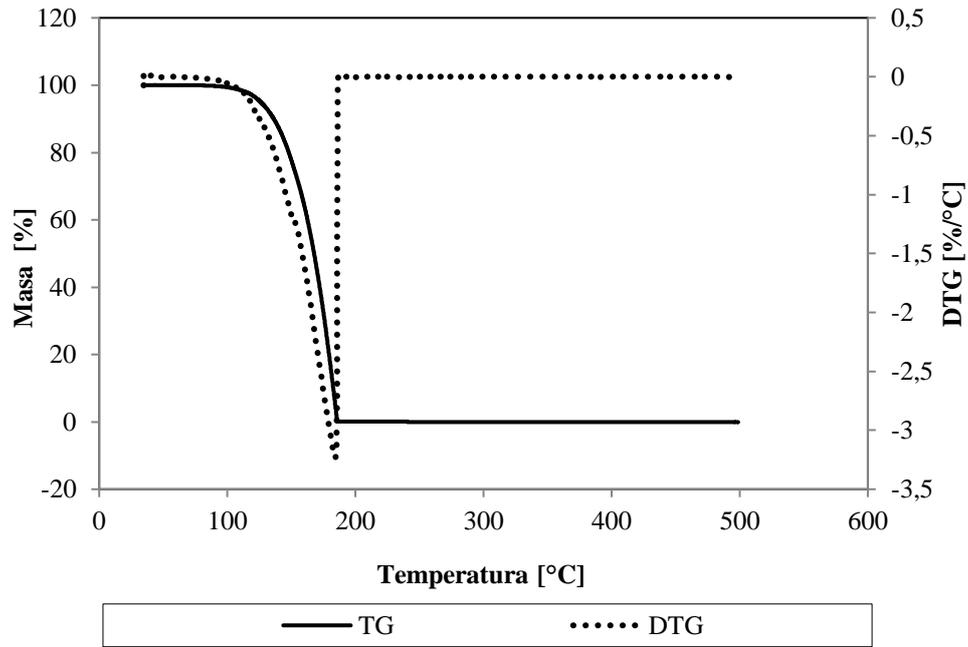


Figura 4.2. Curvas termogravimétricas del ácido cáprico en atmósfera de nitrógeno.

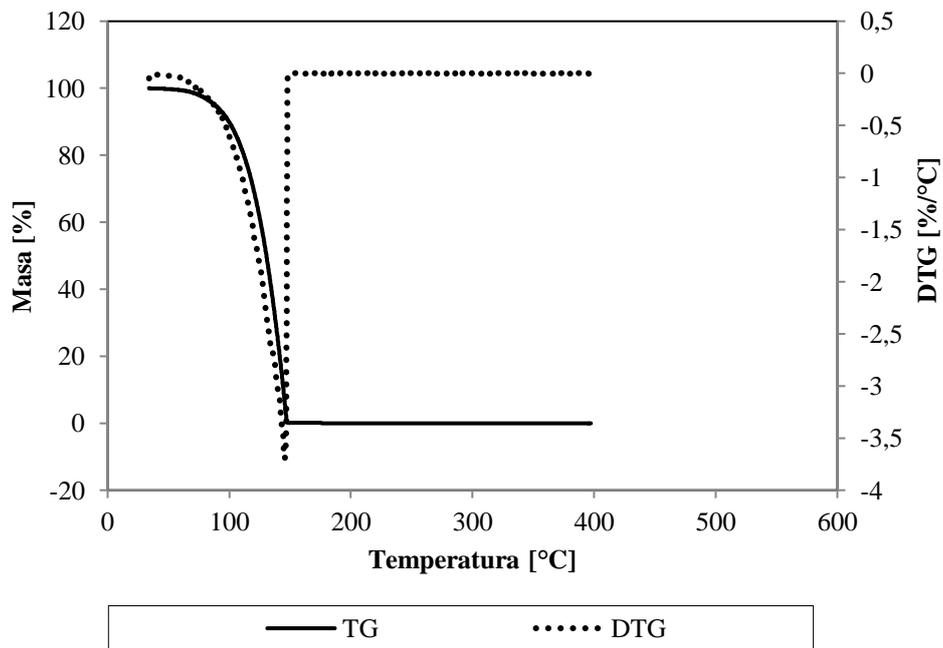


Figura 4.3. Curvas termogravimétricas del ácido caproico en atmósfera de nitrógeno.

Tal cómo se observa en la *Figura 4.1*, cuando la tripalmitina se calentó en presencia de nitrógeno, la pérdida de masa comenzó a los 281,6°C. El punto de ebullición para este triglicérido es 315°C [6] y la presión de vapor es $6,6 \times 10^{-2}$ Pa a 230°C y 0,13 Pa a 240°C [7]. A partir de allí se inició la descomposición térmica registrada como una pérdida de peso por efecto de la volatilidad de los compuestos generados al incrementarse la temperatura. La descomposición total de PPP se completó a los 409,8°C. La velocidad máxima de degradación ocurrió a los 390°C como lo muestra la curva de la derivada (DTG) en la misma figura. El calentamiento de la tripalmitina da como resultado un 99,64% en peso de volátiles y un 0,36% de residuos no volátiles.

En el caso del ácido cáprico, la temperatura inicial de pérdida de masa fue 105,8°C según se observa en la *Figura 4.2*, consecuencia de la evaporación del compuesto. La presión de vapor del ácido es 2014 Pa a 160°C y 5319 Pa a 180° [8], y su temperatura de ebullición es 270°C [9]. Nótese que el ácido cáprico es sólido a temperatura ambiente. La velocidad máxima de pérdida de masa ocurrió a los 184,4°C, y se completó totalmente a los 186°C. Además, como puede observarse en la figura, prácticamente no hay ningún residuo significativo después de los 500°C.

En cuanto al ácido caproico, la *Figura 4.3* muestra que la pérdida de masa comenzó a los 66,8°C y se completó a los 147,7°C, presentando la mayor velocidad a los 145,5°C. También en este caso, la curva encontrada es consecuencia de la volatilidad del ácido graso, siendo su presión de vapor 1253 Pa a 100°C y $2,4 \times 10^4$ Pa a 160°C [10], y su temperatura de ebullición es 203°C [11].

En el caso de los ácidos grasos, se procedió a verificar su estabilidad térmica calentándolos a 200°C en un vial cerrado, bajo atmósfera de nitrógeno, y luego inyectando en el cromatógrafo. En los cromatogramas sólo pudo ser observado el pico

correspondiente a los ácidos grasos puros, chequeando así la ausencia de compuestos de descomposición. En forma adicional, luego de cada ensayo de reacción, mediante un balance de masa se comprobaba que no se perdían ácidos grasos por formación de compuestos volátiles debido a degradación térmica.

4.3. Limitaciones difusionales

Para que pueda llevarse a cabo la reacción entre el reactivo (A) para dar el producto deseado (B) sobre un catalizador sólido, deben ocurrir un conjunto de etapas físicas y químicas en serie las cuales se enumeran a continuación y se muestran en la *Figura 4.4*:

1. Transferencia de masa (difusión externa) de los reactivos (PPP y C) desde el seno del líquido hasta la superficie externa de la partícula de catalizador.
2. Difusión de los reactivos desde la boca del poro hasta las inmediaciones de la superficie catalítica interna.
3. Adsorción de los reactivos sobre el sitio activo ubicado en la superficie del catalizador.
4. Reacción química en la superficie catalítica.
5. Desorción de los productos formados (PPC y PCC).
6. Difusión de los productos desde el interior de la partícula hasta la boca del poro.
7. Difusión de los productos desde la superficie externa de la partícula hasta el seno del fluido.

Cada una de las etapas aporta una resistencia que afecta la velocidad global del proceso. Además, la velocidad de reacción global es igual a la velocidad del paso más lento del mecanismo. Si los pasos de difusión (Etapas 1, 2, 6 y 7) son muy rápidos en

comparación con los pasos de reacción (Etapas 3, 4 y 5), entonces las concentraciones en las inmediaciones de los sitios activos son similares a las concentraciones en el seno del fluido. En esta situación, los pasos de transporte o difusión no afectan la velocidad de reacción global. En otras situaciones, si los pasos de reacción son muy rápidos en comparación con los pasos de difusión, el transporte de masa sí afecta la velocidad de reacción [12].

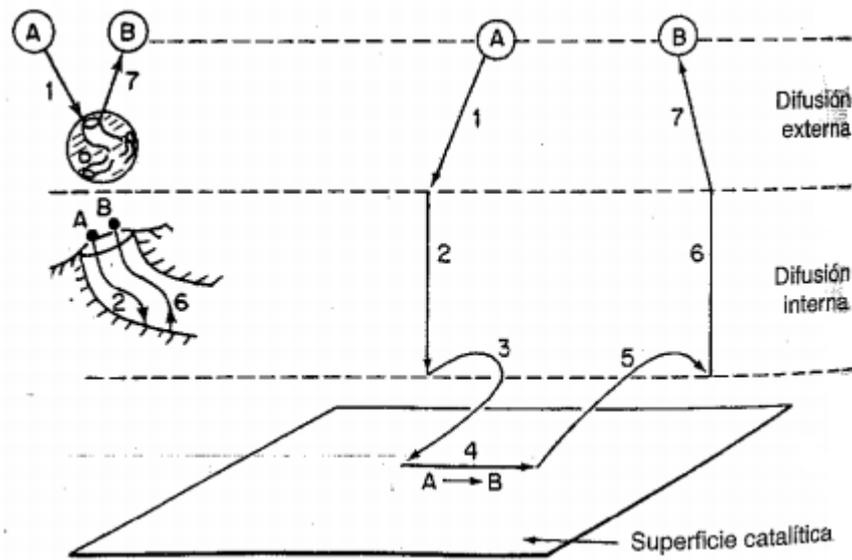


Figura 4.4. Pasos en una reacción catalítica heterogénea. Fuente: Fogler [12].

Si existen problemas para transportar masa desde el seno del líquido al interior de los catalizadores, significa que se observarán gradientes de concentración en los lugares donde hay una resistencia al transporte de masa. A continuación, se investiga la existencia o no de problemas difusionales de masa tanto en la capa límite (resistencias al transporte externo) como dentro de los poros (resistencias al transporte interno).

Sólo se investigaron las limitaciones a la transferencia de masa, y no las de calor, porque se conoce que las reacciones de transesterificación presentan bajas entalpías de reacción [13,14,15], siendo la acidólisis una reacción endotérmica [16,17].

4.3.1. Transferencia de masa externa

Como se mencionó, la resistencia al transporte en la interfase (Etapa 1 de la *Figura 4.4*) es fuertemente dependiente de la velocidad de agitación. Para evaluar dicho efecto, se realizaron ensayos de reacción variando la velocidad de agitación (N). Las reacciones fueron realizadas utilizando ZS-C como catalizador, un tiempo de reacción de 4 h, 180°C de temperatura, una relación molar C:PPP de 4:1 y una carga de catalizador del 4%. En la *Figura 4.5* se presenta la conversión de PPP cuando la velocidad de agitación se varió entre 250 y 1250 rpm.

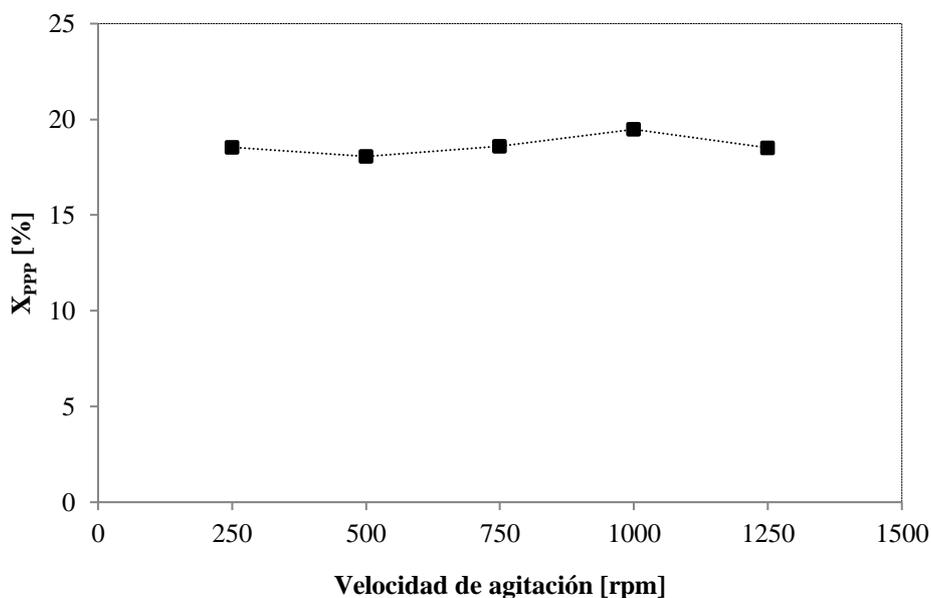


Figura 4.5. Conversión de PPP a distintas velocidades de agitación para la reacción a 4 h catalizada por ZS-C a 180°C.

En la *Figura 4.5* se muestra que la conversión del triglicérido es independiente de la velocidad de agitación. En función de estos resultados, se seleccionó 750 rpm como velocidad de agitación para investigar el desempeño de los catalizadores en reacción.

De forma adicional, se aplicó el criterio de Carberry (Ca), el cual fue calculado para los diferentes reactivos involucrados en la reacción. El número de Carberry relaciona

la velocidad de reacción observada y la máxima velocidad de transferencia de masa. El mismo es aplicado a la transferencia líquido-sólido mediante la *Ecuación 4.1*. La resistencia a la transferencia de masa externa es despreciable cuando $Ca < 0,05$ [18].

$$Ca_{LS,i} = \frac{(-r_{obs,i})}{k_{LS} a_{LS} C_i} \quad (Ec. 4.1)$$

donde: k_{LS} es el coeficiente de transferencia de masa líquido-sólido [$m_L^3/m_{LS}^2 s$]

a_{LS} es el área de interfase líquido-sólido [m^2]

C_i es la concentración de $i = PPP, C$ [mol/m^3]

r_i^{obs} es la velocidad de reacción observada inicial para i [$mol/s m^3$]

Asumiendo que las partículas de catalizador son esféricas, el área se determinó como [18]:

$$a_{LS} = \frac{6 w}{d_c \rho_c} \quad (Ec. 4.2)$$

donde w es la masa de catalizador [kg]

d_c es el diámetro de la partícula de catalizador [m]

ρ_c es la densidad del catalizador [kg/m^3]

El coeficiente de transferencia líquido-sólido fue determinado mediante la siguiente correlación [19]:

$$\left(\frac{k_{LS} d_c}{D_{A,B}} \right)^2 = 16 + 4,84 \left[\frac{g d_c^3 (\rho_c - \rho_L)}{18 \eta_L D_{A,B}} \right]^{2/3} \quad (Ec. 4.3)$$

Siendo g la constante de gravitación universal [m/s²]

ρ_L y η_L la densidad y la viscosidad del medio líquido a la temperatura de reacción.

El coeficiente de difusión molecular ($D_{A,B}$) se calculó utilizando la correlación de Tyn y Calus modificada para soluciones diluidas (Ecuación 4.4) [20] y la correlación de Vignes para altas concentraciones (Ecuación 4.5) [21]. En la Ecuación 4.4, $D_{A,B}$ tiene unidades de cm²/s.

$$D_{A,B}^0 = 8,93 \times 10^{-8} \frac{V_B^{0,267}}{V_A^{0,433}} \frac{T}{\eta_B} \quad (\text{Ec. 4.4})$$

$$D_{A,B} = (D_{A,B}^0)^{x_B} (D_{B,A}^0)^{x_A} \left(1 + \frac{d\gamma_A}{dx_A}\right) \quad (\text{Ec. 4.5})$$

donde: $D_{A,B}^0$ es el coeficiente de difusión molecular a dilución infinita

V_A es el volumen molar del ácido cáprico o PPP [cm³/mol]

V_B es el volumen molar del ácido cáprico o PPP [cm³/mol]

T es la temperatura de reacción [K]

η_B es la viscosidad (a T) del ácido cáprico o PPP [cP]

x_A y x_B son las fracciones molares del ácido cáprico o PPP

γ_A coeficiente de actividad de A

La viscosidad y densidad del ácido cáprico, a la temperatura de reacción, se obtuvo de Wang y col. [22]. En el caso de tripalmitina, la viscosidad fue calculada a partir

del valor a 70°C [23] y la correlación de Lewis and Squires [20], y ante la falta de datos de densidad a 180°C, se usó el valor del aceite de palma a esa temperatura [24]. A su vez, los volúmenes molares pueden calcularse en términos del volumen crítico (V_c) [25], utilizando la *Ecuación 4.6*.

$$V_i = 0,285 (V_c)_i^{1,048} \quad (\text{Ec. 4.6})$$

El volumen crítico para PPP y para ácido cáprico fueron de 2947,9 cm³/mol y 618,6 cm³/mol, respectivamente [26]. Se determinó un valor de 1,13x10⁻⁹ m²/s para el coeficiente de difusión molecular. Este valor es del mismo orden que el reportado por Camacho y col. [27], aunque a fin de simplificar los cálculos en la *Ecuación 4.5*, asumí una solución líquida ideal. Con respecto a la densidad del sólido, se consideró un valor para Nb₂O₅ de 1100 kg/m³ y para las circonias sulfatadas de 960 kg/m³ [28].

Con estos datos se calculó el criterio de Carberry para los test catalíticos (N = 750 rpm, T = 180°C, catalizador = 4% y RM = 4:1). Los resultados se presentan en la *Tabla 4.1*, y permiten asegurar que el sistema opera en ausencia de problemas difusionales externos.

Tabla 4.1. Criterio de Carberry para la reacción de acidólisis de PPP con C para los distintos catalizadores estudiados.

Catalizador	C _{PPP}	C _{ac}
Nb ₂ O ₅	5,3x10 ⁻⁴	4,7x10 ⁻⁴
S-Nb ₂ O ₅	4,7x10 ⁻⁴	4,3x10 ⁻⁴
ZS-A	7,7x10 ⁻⁴	7,2x10 ⁻⁴
ZS-B	6,5x10 ⁻⁴	5,9x10 ⁻⁴
ZS-C	5,9x10 ⁻⁴	5,5x10 ⁻⁴
ZS-D	9,3x10 ⁻⁴	8,4x10 ⁻⁴

4.3.2. Transferencia de masa interna

Las limitaciones difusionales de la molécula del triglicérido y del ácido graso en el interior del catalizador se evaluaron usando el módulo de Weisz-Prater [29].

En el criterio se emplean valores medidos de la velocidad inicial de reacción para determinar si la difusión interna es limitante en la reacción. El módulo de Weisz-Prater (Φ_i) está dado por la Ecuación 4.7 [12], y puede ser descripto en función de diferentes parámetros que serán presentados a continuación. La resistencia a la transferencia de masa interna puede desestimarse cuando $\Phi \ll 1$.

$$\Phi_i = \frac{(-r_{obs,i}) * \rho_c * R_c^2}{D_{eff,i} * C_i} \quad (Ec. 4.7)$$

Donde: $r_{obs,i}$ es la velocidad de reacción observada inicial de $i = \text{PPP, C}$ [mol/s kg]

ρ_c es la densidad del catalizador [kg/m³]

R_c es el radio medio del catalizador [m]

C_i es la concentración de i [mol/m³]

$D_{eff,i}$ es el coeficiente de difusión efectivo [m²/s]

A su vez este último parámetro está dado por:

$$D_{eff,i} = \frac{D_{A,B} * \varepsilon}{\xi} \quad (Ec. 4.8)$$

Donde: $D_{A,B}$ es coeficiente de difusión molecular [m^2/s]

ε es la porosidad [$m_{\text{poro}}^3/m_{\text{cat}}^3$]

ξ es la tortuosidad [$m_{\text{poro}}/m_{\text{cat}}$]

El factor tortuosidad fue 3 según la bibliografía [12], y la porosidad se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\varepsilon = \rho_c * V_p \quad (\text{Ec. 4.9})$$

Donde: V_p es el volumen de poro [$m_{\text{poro}}^3/Kg_{\text{cat}}$]

El coeficiente de difusión molecular y las densidades de los reactivos y catalizadores fueron indicadas en la sección anterior.

Tabla 4.2. Módulos de Weisz-Prater.

Catalizador	Φ_{PPP}	Φ_{C}
Nb ₂ O ₅	0,08	0,02
S-Nb ₂ O ₅	0,61	0,15
ZS-A	0,11	0,02
ZS-B	0,08	0,01
ZS-C	0,07	0,01
ZS-D	0,11	0,02

En la *Tabla 4.2* se muestran los valores obtenidos para los módulos de Weisz-Prater para los distintos catalizadores. Los valores numéricos de Φ_C y Φ_{PPP} fueron menores que 1, indicando que es posible considerar que no hay limitación a la transferencia de masa en los poros de los catalizadores, excepto para S-Nb₂O₅. En este último caso, el valor de Φ_{PPP} es cercano a 1 y no podría descartarse limitación de transferencia de masa interna. La diferencia con niobia está dada en que el catalizador sulfatado presenta muy bajo volumen y tamaño de poro, lo que afecta la difusividad de una molécula grande como PPP.

4.4. Ensayos en ausencia de catalizador

Ambos reactivos, PPP y C, fueron ensayados juntos de manera de evaluar la existencia y alcance de reacción química en ausencia de catalizador. Las condiciones de reacción empleadas fueron: temperatura 180°C, relación molar C:PPP 4:1 y velocidad de agitación 750 rpm.

La *Figura 4.6* muestra la conversión de PPP en función del tiempo de reacción. A 4 h, la conversión de tripalmitina fue 4,4% y 40,9% a 72 h. Al igual que en las reacciones de esterificación, el mismo ácido graso, actúa como autocatalizador en la reacción. La *Figura 4.7* muestra la selectividad a ambos TE en función del tiempo para la reacción en ausencia de catalizador. No se observó formación de productos diferentes a los dos triglicéridos estructurados PPC y PCC.

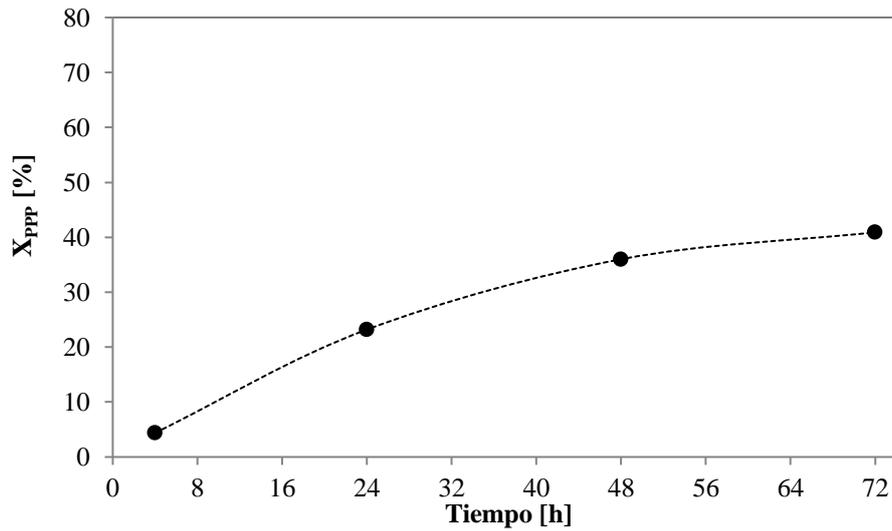


Figura 4.6. Conversión de PPP en la reacción de acidólisis en ausencia de catalizador ($T=180^{\circ}\text{C}$, $\text{RM}=4:1$, $\text{Cat}=4\%$).

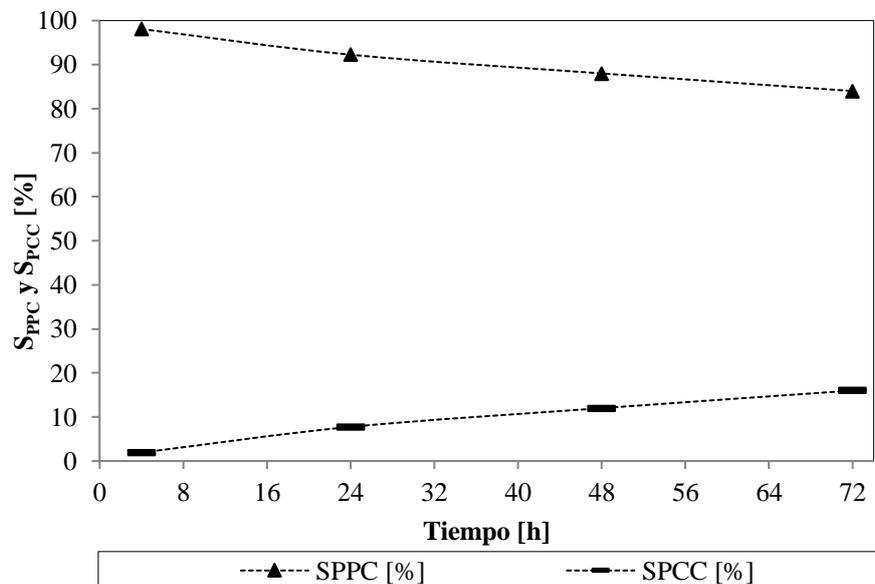


Figura 4.7. Selectividades a PPC y PCC en función del tiempo para la reacción de acidólisis en ausencia de catalizador.

4.5. Ensayos de actividad catalítica

Los catalizadores sintetizados y caracterizados fueron investigados en la reacción de interés. Previo al test catalítico, los sólidos estudiados fueron pretratado a 40°C en estufa de vacío por 30 minutos (Caso A en *Sección 2.3.2 del Capítulo 2*). Las condiciones

en las que se llevaron a cabo las reacciones son las presentadas en la *Tabla 4.3*. En esta sección, la presentación de los datos experimentales se hará en forma gráfica, pero el detalle de todos los valores numéricos puede ser consultado en el *Anexo B*.

Tabla 4.3. Condiciones de operación utilizadas en reacción.

Variable	Condición
Temperatura de reacción	180°C
Relación molar C:PPP	4:1
Porcentaje másico de catalizador	4%
Velocidad de agitación	750 rpm

Los resultados experimentales de los ensayos catalíticos serán presentados en distintas figuras, agrupados por familias, para facilitar el análisis de los datos. Se comenzará con la familia de catalizadores Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$. En la *Figura 4.8* se presentan los valores de conversión de PPP en función del tiempo para ambos sólidos. Para el catalizador Nb_2O_5 se observa una tendencia creciente de la conversión al transcurrir el tiempo, siendo 31,8% a las 24 h de reacción. Por su parte, para el catalizador sulfatado se ve que la máxima conversión se alcanza también a las 24 h (35,5%). A excepción del valor obtenido a 8 h, en el cual ambos catalizadores coinciden (20%), la curva de conversión para el sólido sulfatado supera la del catalizador sin sulfatar en el resto de los tiempos analizados.

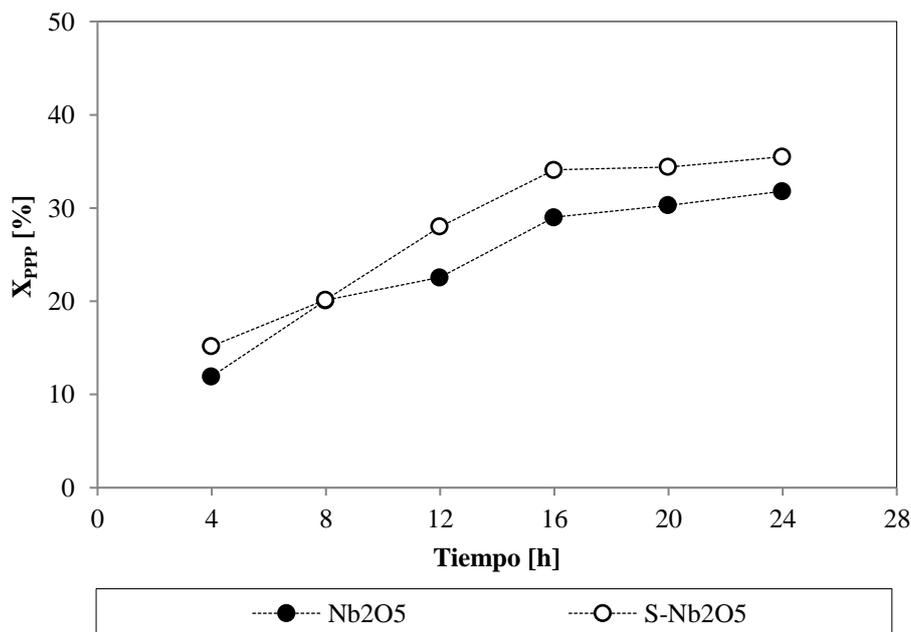


Figura 4.8. Conversión de PPP en la reacción de acidólisis para los catalizadores Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅ a distintos tiempos de reacción.

Tal como se presentó en el *Capítulo 3*, ambos catalizadores presentan estructura amorfa y difieren respecto al área superficial, ya que al sulfatar el óxido este parámetro cae de 75,3 a 8 m²/g. Respecto a la acidez total, el catalizador sulfatado presenta mayor acidez que la muestra sin sulfatar (1,79 y 1,10 meq n-bta/gcat, respectivamente).

En la *Figura 4.9* se muestran las selectividades a los triglicéridos estructurados. Los productos obtenidos fueron solo los TE deseados y en ningún caso se determinó la formación de CCC. En la figura se puede ver que los valores de selectividad al triglicérido dos veces intercambiado (PCC) van aumentando mientras que los valores para PPC van disminuyendo en todo el rango de tiempo. Las selectividades presentadas por ambos catalizadores son prácticamente iguales. La selectividad a PCC para Nb₂O₅ fue 3,4% a 4 h de reacción y 11,8% a 24 h. En el caso del sólido sulfatado, el máximo alcanzado fue de 14%.

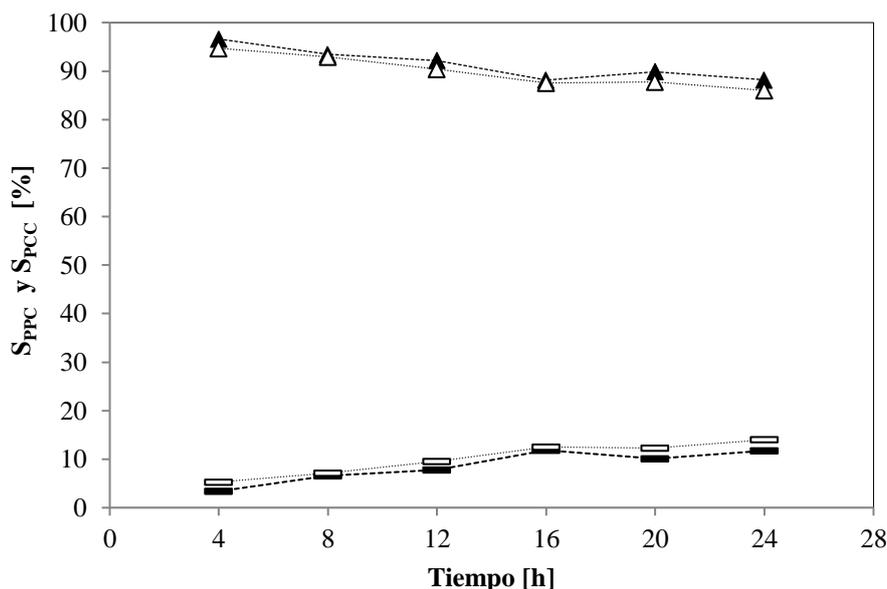


Figura 4.9. Selectividades a PPC (triángulos) y PCC (rectángulos) para los catalizadores Nb₂O₅ (marcadores llenos) y S-Nb₂O₅ (marcadores vacíos) a distintos tiempos de reacción.

Los sólidos ZS-A y ZS-B se presentan como el segundo grupo de catalizadores. Ambos fueron obtenidos al emplear el mismo método de sulfatación (inmersión con posterior evaporación) y variar la fuente de azufre. Tal como se presentó en el *Capítulo 2*, para obtener la muestra ZS-A se empleó (NH₄)₂SO₄, mientras que para obtener la muestra ZS-B, la fuente de azufre fue H₂SO₄.

Los valores de conversión de PPP para ambos sólidos se muestran en la *Figura 4.10*. Se puede apreciar que el sólido ZS-A fue más activo que ZS-B en todo el rango de tiempo. El catalizador ZS-A presentó a 24 h, una conversión de 47,5%, unos 10 puntos por encima que el alcanzado por su par ZS-B para el mismo tiempo. Es interesante relacionar estos resultados con los obtenidos en la caracterización de las muestras. El sólido ZS-A presentó fase tetragonal casi en su totalidad y mientras que ZS-B resultó ser una mezcla de fases tetragonal y monoclinica (con mayor porcentaje de monoclinica). Se

ha reportado, para la reacción de alquilación isoparafínica [30] y para la deshidratación de alcoholes [31], que las muestras que presentan fase tetragonal son catalíticamente más activas, mientras que las que contienen mayor fase monoclinica muestran menor actividad. Esto también fue observado en la esterificación del ácido palmítico con metanol por Ramu y col. [32], quienes demostraron que esto era consecuencia de una disminución de la acidez superficial.

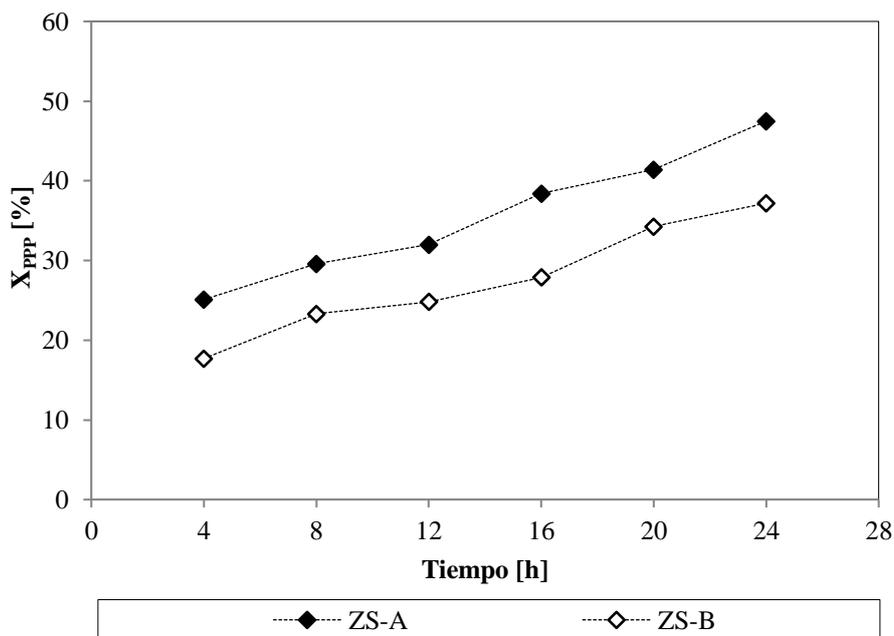


Figura 4.10. Conversión de PPP en la reacción de acidólisis para los catalizadores ZS-A y ZS-B a distintos tiempos de reacción.

Las selectividades para ambos TE para los catalizadores ZS-A y ZS-B pueden ser observados en la *Figura 4.11*. A tiempo final, la selectividad a PCC alcanzada para ZS-A fue 19,9%, mientras que para la muestra ZS-B resultó ser 14,8%.

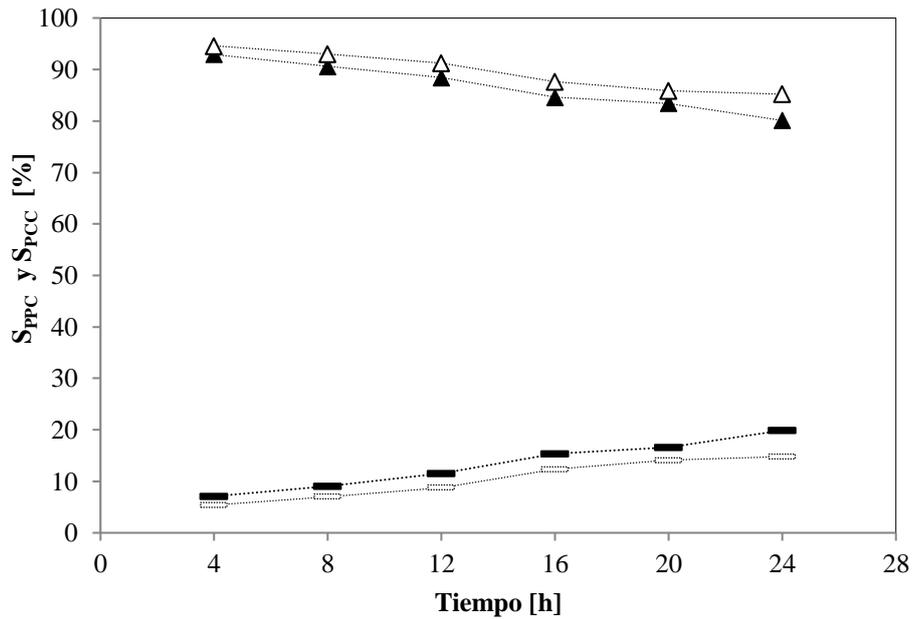


Figura 4.11. Selectividades a PPC (triángulos) y PCC (rectángulos) para los catalizadores ZS-A (marcadores llenos) y ZS-B (marcadores vacíos) a distintos tiempos de reacción.

En la *Figura 4.12* se compara la performance catalítica de los sólidos de la tercera familia analizada. Los catalizadores ZS-C y ZS-D fueron obtenidos mediante la implementación de distintas técnicas de sulfatación, pero empleando la misma fuente de sulfato. En el caso de la muestra ZS-C, el método empleado fue impregnación a humedad incipiente, mientras que para ZS-D, fue inmersión. Para ambos sólidos, la fuente de azufre utilizada fue H_2SO_4 .

La curva de conversión de tripalmitina para el sólido ZS-D (*Figura 4.12*) presenta mayores valores respecto a los obtenidos empleando el catalizador ZS-C en todo el rango de tiempo, excepto a las 8 h de reacción donde los valores coinciden (27% aproximadamente). La conversión de PPP a 24 h fue 44% para ZS-C y 47,8% para ZS-D.

Tanto la muestra ZS-A como la ZS-B presentan un porcentaje mayoritario de alguna de las dos fases cristalinas (tetragonal en el caso de la ZS-A y monoclinica en el caso de la ZS-B), por el contrario, las muestras ZS-C y ZS-D presentan el 100% de una única fase (tetragonal). Si se comparan las cuatro curvas de conversión de PPP queda demostrado que los resultados de los tres catalizadores con presencia de fase tetragonal superan numéricamente los resultados obtenidos para la única muestra monoclinica (ZS-B).

Sabiendo que a 24 h la conversión de PPP para ZrO_2 fue 33% (no se presenta el gráfico), se puede afirmar que la sulfatación de la circonia originó catalizadores más activos que el óxido en todos los casos.

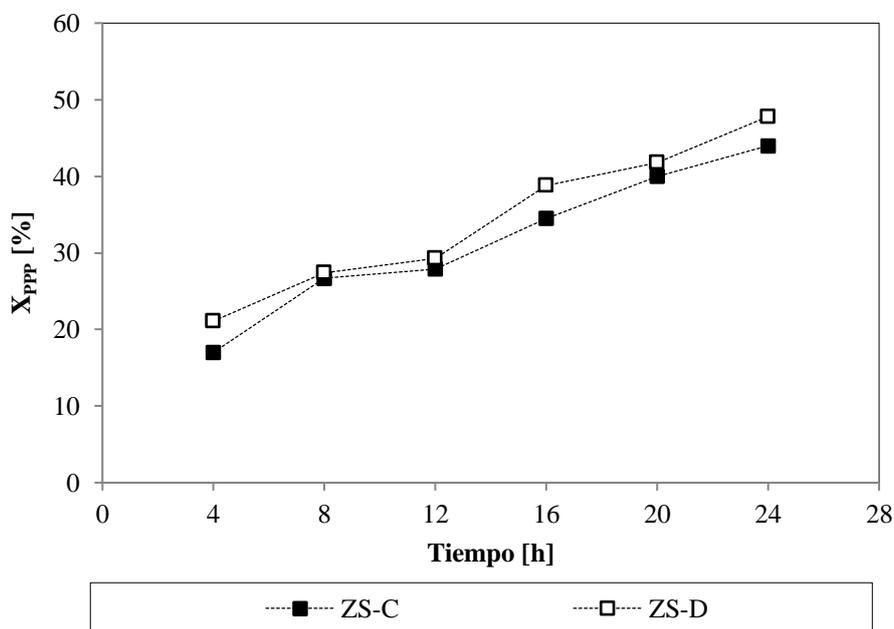


Figura 4.12. Conversión de PPP en la reacción de acidólisis para los catalizadores ZS-C y ZS-D a distintos tiempos de reacción.

En la *Figura 4.13* se muestran las selectividades para ambos catalizadores. Se obtiene una tendencia análoga a los casos anteriores, presentando los dos catalizadores

valores muy similares. Las selectividades a tiempo final, para el catalizador ZS-C fue 83,2% para PPC y 16,8% para PCC. En el caso del sólido ZS-D las mismas alcanzaron los valores de 81,8 y 18,2%, respectivamente.

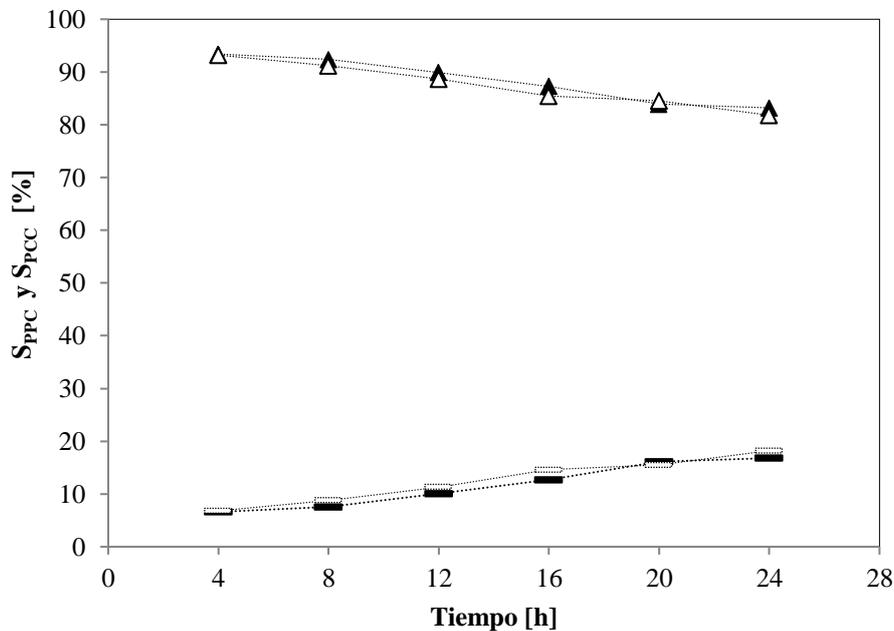


Figura 4.13. Selectividades a PPC (triángulos) y PCC (rectángulos) para los catalizadores ZS-C (marcadores llenos) y ZS-D (marcadores vacíos) a distintos tiempos de reacción.

El catalizador ZS-D fue elegido para evaluar su comportamiento a tiempos de reacción mayores que 24 h. Los resultados se presentan en la *Figura 4.14*, donde puede observarse que la conversión de PPP aumenta hasta las 48 h donde alcanza un valor de 70% y a partir de allí permanece aproximadamente constante, siendo 74% a las 72 h.

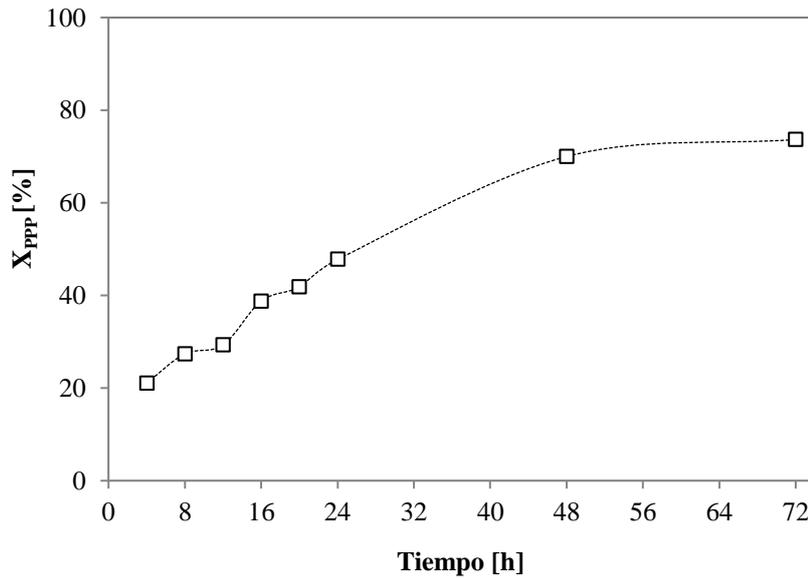


Figura 4.14. Conversión de PPP para ZS-D en la acidólisis de tripalmitina para un tiempo de reacción de 72 h.

4.6. Determinación de la cinética de reacción

En el estudio cinético de la acidólisis de PPP con ácido cáprico se consideró que las condiciones experimentales aplicadas permitían asumir que el ácido graso se encontraba en exceso en el medio. Como una primera aproximación al estudio cinético se consideró que la velocidad de reacción solo depende de la concentración de PPP ($[PPP]$) de la siguiente forma:

$$-r = \frac{d[PPP]}{dt} = -k w [PPP]^n \quad (\text{Ec. 4.10})$$

siendo n el orden de reacción, k la constante cinética y w la masa del catalizador. Al integrar la *Ecuación 4.10* para diferentes órdenes de reacción ($n = 0, 1, 2$) se obtienen distintas expresiones para la variación de la concentración del triglicérido en función del tiempo:

$$n = 0 \quad [PPP] = [PPP]_0 - k w t \quad (Ec. 4.11)$$

$$n = 1 \quad [PPP] = [PPP]_0 e^{-kwt} \quad (Ec. 4.12)$$

$$n = 2 \quad [PPP] = \frac{[PPP]_0}{1 + [PPP]_0 k w t} \quad (Ec. 4.13)$$

Al linealizar las *Ecuaciones 4.12 y 4.13* se obtienen las expresiones *4.14 y 4.15*, respectivamente:

$$\ln \frac{[PPP]}{[PPP]_0} = -k w t \quad (Ec. 4.14)$$

$$\frac{1}{[PPP]} = \frac{1}{[PPP]_0} + k w t \quad (Ec. 4.15)$$

El orden de reacción respecto a la concentración del triglicérido puede obtenerse a partir del ajuste de los datos experimentales en función de las ecuaciones linealizadas. En la *Tabla 4.4* se muestra el coeficiente de determinación (R^2) obtenido para el ajuste de los datos experimentales adoptando diferentes ordenes de reacción, para el ensayo empleando como catalizador ZS-D.

Tabla 4.4. Coeficiente de determinación para el ajuste de datos experimentales según el orden de reacción (condiciones de operación: *Tabla 4.3*).

<i>n</i>	R^2
0	0,90
1	0,94
2	0,97

A partir de los coeficientes de determinación obtenidos, se encontró un mejor ajuste de los datos experimentales al considerar una cinética de pseudo segundo orden para PPP. Vale aclarar que el mismo comportamiento se observó para el resto de los catalizadores sintetizados. En la *Tabla 4.5* se presentan los valores obtenidos para la constante cinética de pseudo segundo para los catalizadores ensayados, y el coeficiente de determinación correspondiente. En la *Figura 4.15 (a)*, se muestra la representación gráfica de la *Ecuación 4.15*, y en la *Figura 4.15 (b)* se presentan los valores de concentración y conversión de PPP experimentales y modelados, en función del tiempo.

Tabla 4.5. Constante cinética para una cinética de pseudo segundo orden para la acidólisis de PPP con ácido cáprico (condiciones de reacción: *Tabla 4.3*).

Catalizador	k [$\text{m}^3/\text{mol}_{\text{PPP}} \text{ h Kg}_{\text{cat}}$]	R^2
Nb_2O_5	3,4	0,95
S- Nb_2O_5	4,0	0,90
ZS-A	5,7	0,95
ZS-B	4,0	0,94
ZS-C	5,6	0,98
ZS-D	6,3	0,97

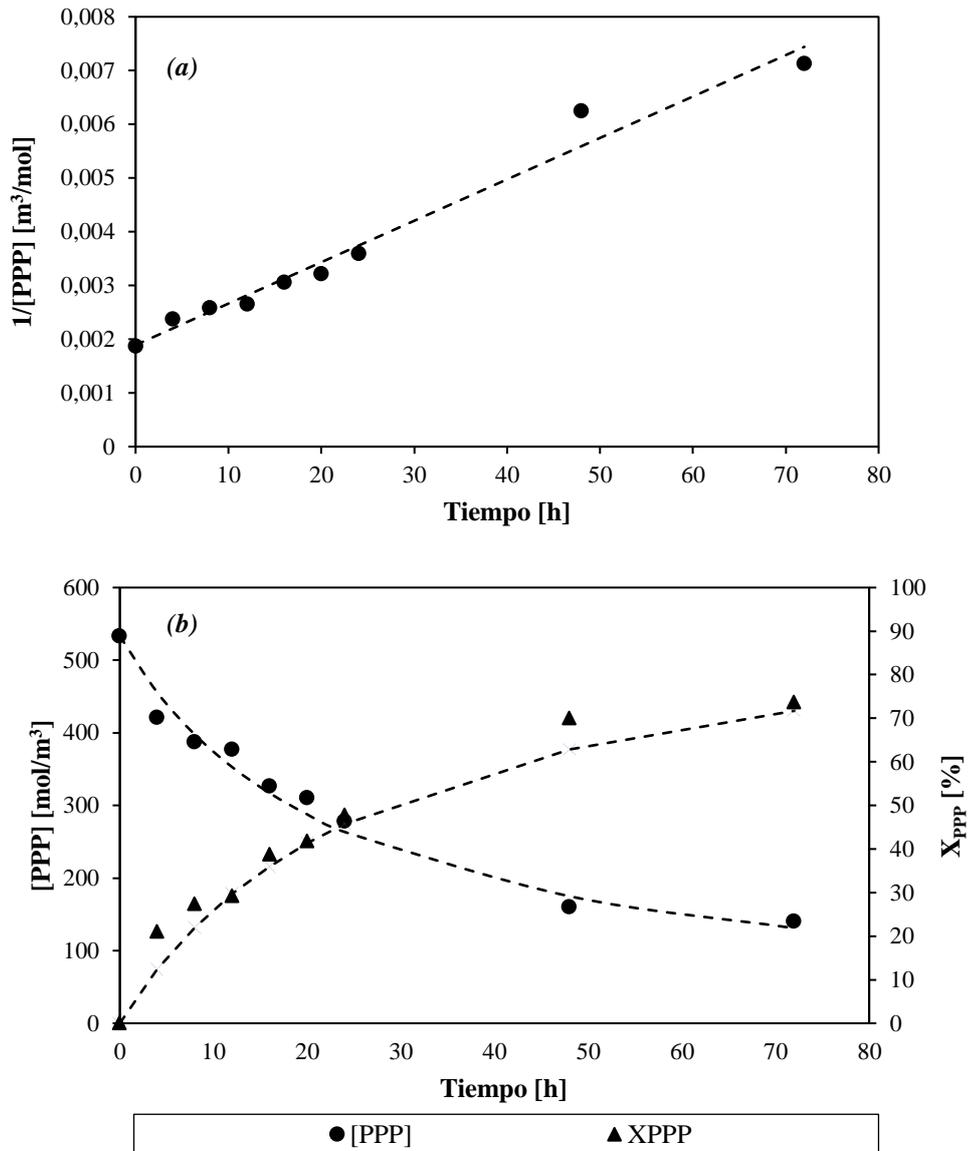


Figura 4.15. Acidólisis de PPP con C catalizada por ZS-D. (a) Representación gráfica de la Ec. 4.15, (b) Datos experimentales (símbolos) y modelados (línea de puntos) para la concentración y conversión de PPP.

Debe tenerse en cuenta que este análisis es una primera aproximación al estudio cinético, donde no se ha tenido en cuenta la reacción química (Figura 4.6) o el fenómeno de adsorción de los reactivos sobre el catalizador heterogéneo.

4.7. Efecto de la acidez del catalizador en la actividad catalítica

A fin de analizar el efecto de la acidez del catalizador en su actividad en la reacción de acidólisis, se modificó el pretratamiento de los sólidos. Los catalizadores fueron tratados a 400°C por 45 minutos en corriente de nitrógeno previo a la reacción (Caso B en *Sección 2.3.2 del Capítulo 2*). Como se mostró en el *Capítulo 3*, este tipo de tratamiento favorece la formación de sitios ácidos de Lewis (*Tabla 3.7*). Los ensayos se llevaron a cabo a dos tiempos de reacción: 4 y 20 h.

En las *Figuras 4.16 y 4.17* se comparan los valores de conversión de PPP, al aplicar distintos pretratamientos y tiempos de reacción, pero empleando las mismas condiciones operacionales (*Tabla 4.3*). En forma general se puede ver que se da una caída de la actividad al someter a la superficie a un tratamiento térmico más severo para los dos tiempos estudiados. El detalle numérico de los valores presentados en estas figuras puede ser consultado en el *Anexo B*.

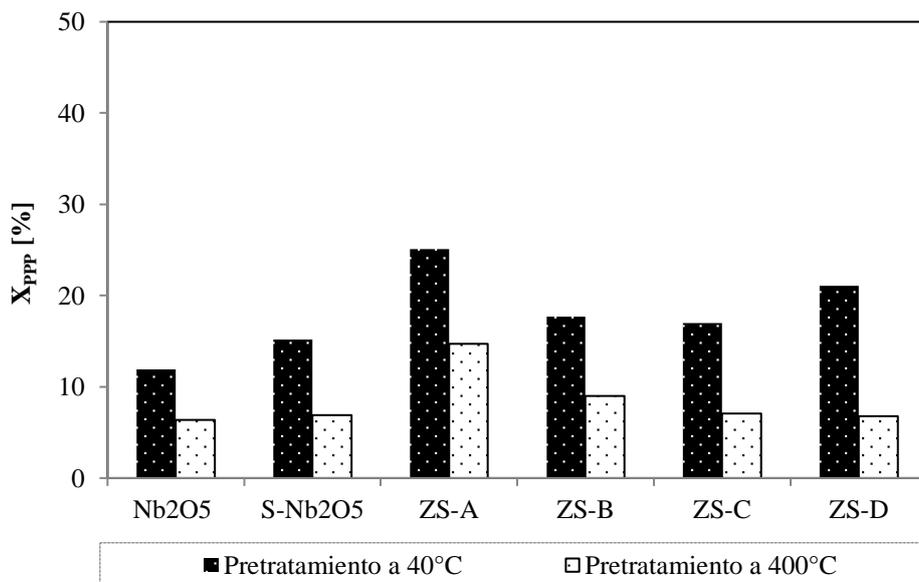


Figura 4.16. Comparación de la actividad catalítica a 4 h de reacción, variando el pretratamiento aplicado al catalizador.

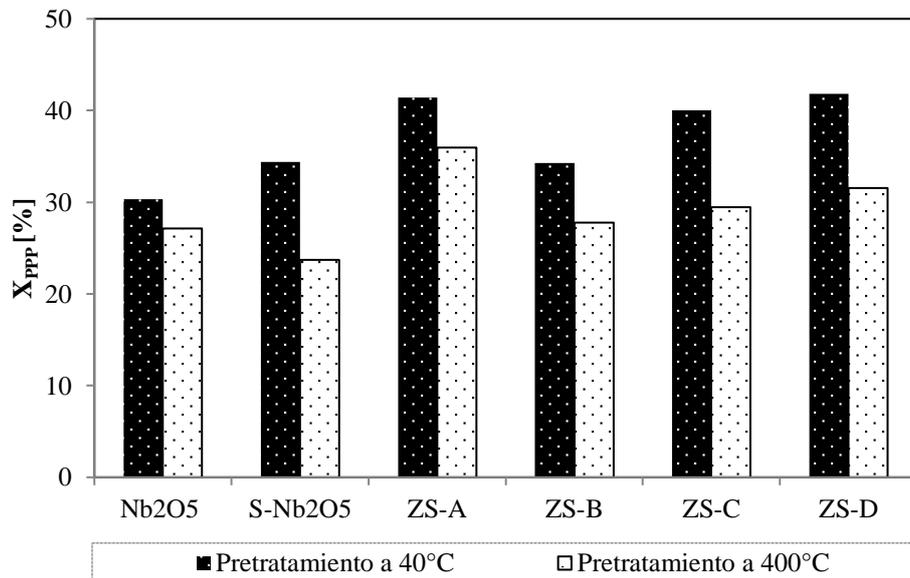


Figura 4.17. Comparación de la actividad catalítica a 20 h de reacción, variando el pretratamiento aplicado al catalizador.

Se hace evidente que las mayores diferencias en actividad se dan en el menor tiempo de reacción empleado, con casos que superan el 50% de pérdida de actividad (S-Nb₂O₅, ZS-C y ZS-D).

Como quedó demostrado en el *Capítulo 3*, al aumentar la temperatura de pretratamiento, la densidad de sitios ácidos disminuía y cambiaba el tipo de sitio presente sobre la superficie. En la *Figura 4.18* se presenta la conversión de PPP vs. la densidad de sitios ácidos (meq n-bta/gcat) para los catalizadores de circonia sulfatada pretratados a 40 y 400°C (para los dos tiempos de reacción analizados). Puede observarse que hay una relación creciente entre ambos parámetros. No se mostrarán aquí los resultados incluyendo los sólidos Nb₂O₅ y S-Nb₂O₅, debido a que presentan una naturaleza distinta.

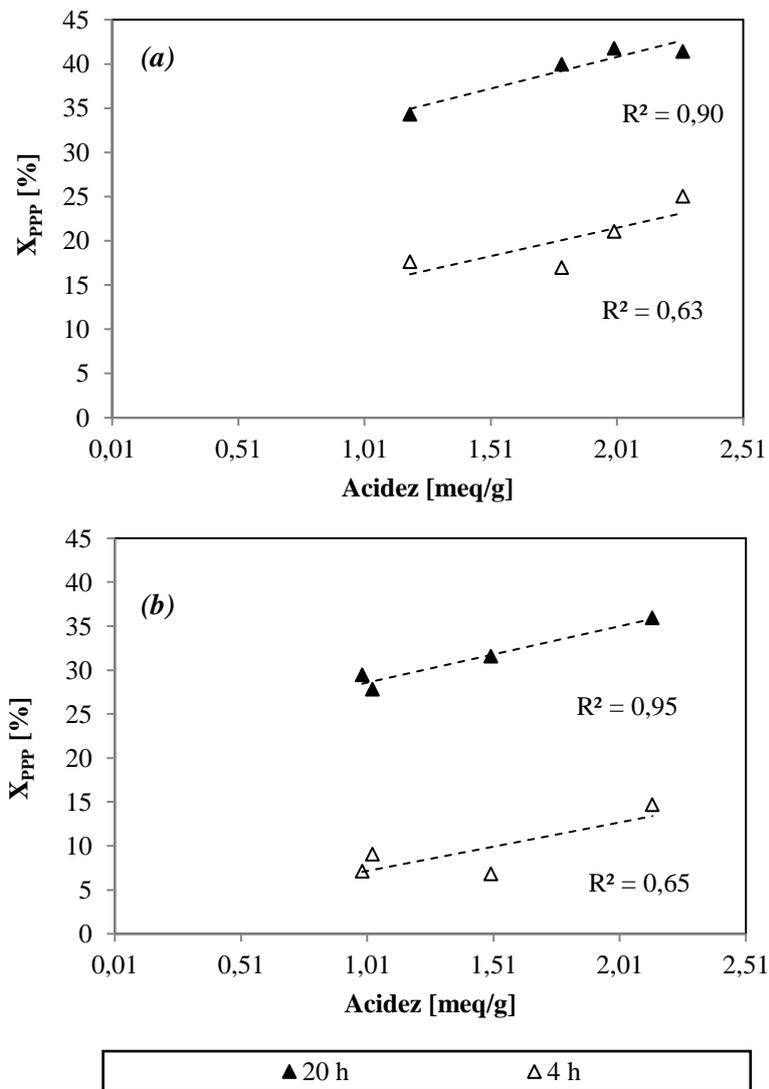


Figura 4.18. Relación entre acidez y conversión de PPP para catalizadores de circonia sulfatada. (a) Pretratamiento a 40°C y (b) Pretratamiento a 400°C.

El mismo tipo de relación se encontró entre la conversión de PPP y la acidez de los catalizadores expresada como meq/m² (Figura 4.19).

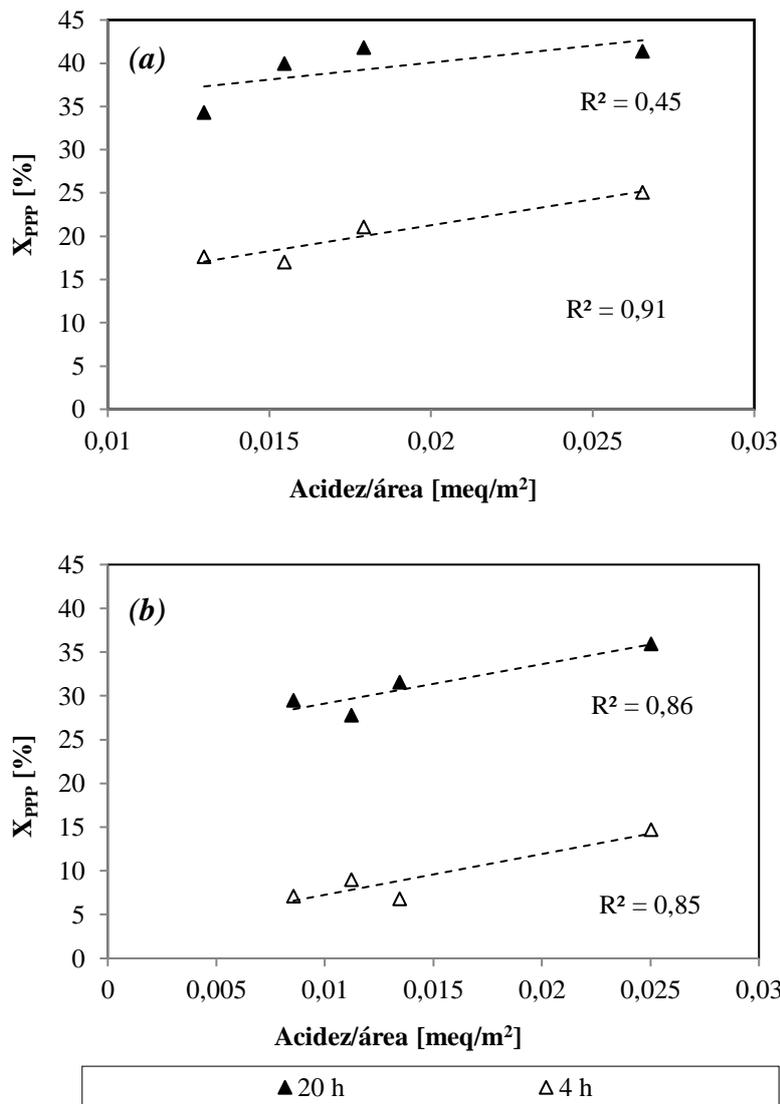


Figura 4.19. Relación entre acidez por área y conversión de PPP para catalizadores de circonia sulfatada. (a) Pretratamiento a 40°C y (b) Pretratamiento a 400°C.

También es de interés conocer qué tipo de sitios ácidos participan en la acidólisis de tripalmitina. De los resultados presentados en la *Sección 3.6.2* del capítulo anterior (adsorción de piridina), se pudo conocer que a 40°C la cantidad de sitios Brönsted, en todas las muestras de circonias sulfatadas, era mayor que la cantidad de sitios Lewis. Luego de realizar el tratamiento a 400°C, la superficie de los catalizadores sufre una deshidroxilación, con lo cual se favorece la presencia de sitios Lewis. En la *Figura 4.20*

se puede observar una relación creciente entre la conversión y la concentración de sitios Brönsted presentes en los catalizadores a ambos tiempos de reacción (4 y 20 h) para el pretratamiento a 40°C. De igual forma, la *Figura 4.21* muestra el mismo tipo de relación para los sitios ácidos de Lewis cuando los sólidos fueron pretratados a 400°C. Estos resultados indican que ambos tipos de sitios ácidos participan activamente en la reacción de interés.

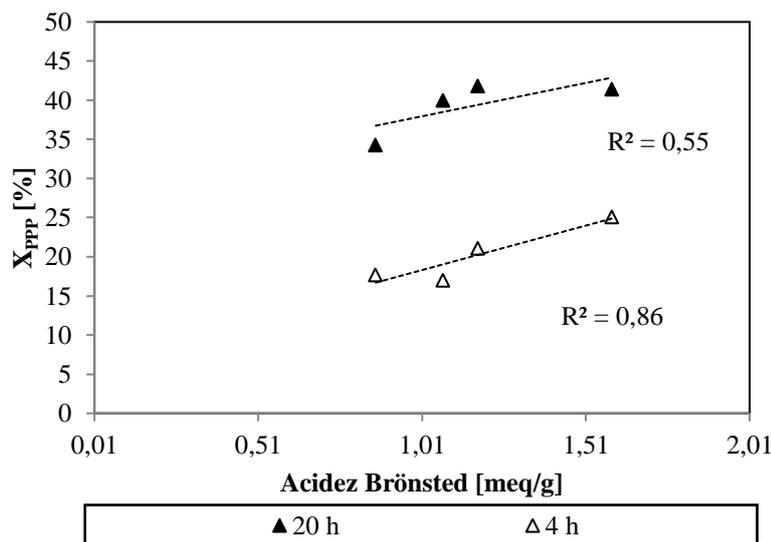


Figura 4.20. Relación entre la concentración de sitios Brönsted y la conversión para catalizadores de circonia sulfatada (pretratamiento a 40°C).

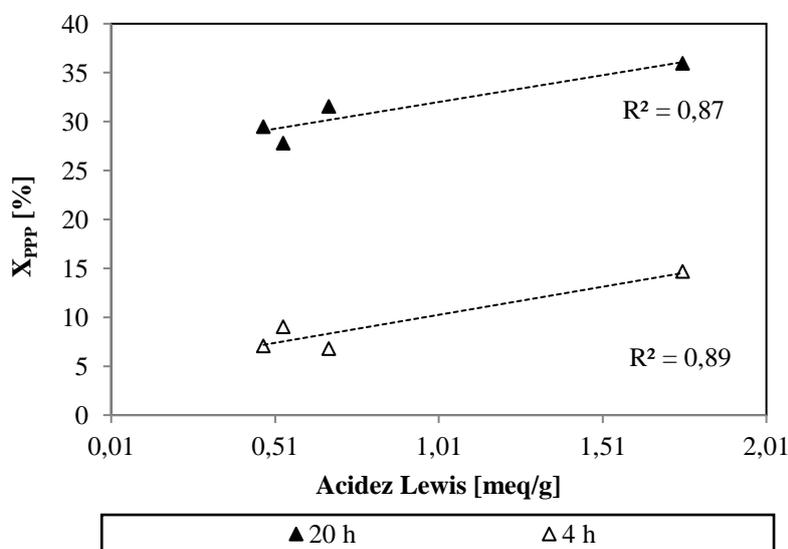


Figura 4.21. Relación entre la concentración de sitios Lewis y la conversión para catalizadores de circonia sulfatada (pretratamiento a 400°C).

No se encontró una relación directa entre la conversión de tripalmitina y la fuerza de los sitios ácidos (muy fuertes, fuertes, débiles y muy débiles), por lo que se deduce que todos ellos participan en la reacción.

Los catalizadores Nb_2O_5 y $\text{S-Nb}_2\text{O}_5$ cuando fueron tratados a 40°C mostraron una tendencia similar a la familia de circonia sulfatadas cuando se analizó X_{PPP} vs. acidez (por unidad de masa y área). No sucedió lo mismo a 400°C . Dado que se están considerando solo dos muestras para esta familia, y que ellas presentan características más disímiles que las de circonia (por ejemplo, áreas superficiales muy diferentes) parece acertado no plantear ninguna hipótesis dada la escasa información.

4.8. Consideraciones sobre el mecanismo de reacción

La reacción de acidólisis es una transesterificación, un intercambio de radicales acilos entre un éster y un ácido. Se revisarán brevemente los mecanismos propuestos en la bibliografía para las transesterificaciones catalizadas por sólidos ácidos.

Se ha mostrado que las reacciones de transesterificación, tales como la alcoholólisis o la interesterificación, pueden ser catalizada por sitios ácidos de Brønsted y de Lewis. El mecanismo propuesto puede ser extrapolado a la reacción de acidólisis. El mecanismo comienza con la adsorción del grupo éster a través del oxígeno del grupo carbonílico (del triglicérido en este caso) sobre los sitios ácidos de Brønsted [33] y de Lewis [34,35,36] del catalizador para formar un complejo activado como se ilustra en la *Figura 4.22 (a)* y *(b)*. Los sitios ácidos de Brønsted actúan como donantes de H^+ mientras que los sitios de Lewis aceptan el par de electrones. El intermediario reacciona con el ácido graso (ataque nucleofílico) para formar un intermedio tetraédrico, que se puede disociar a través de un estado de transición, para producir el nuevo grupo éster.

Cabe aclarar que, en la reacción de acidólisis, tanto el triglicérido como el ácido graso presenta un grupo éster que puede interactuar con el sitio ácido. Por esta razón puede existir una competencia entre los reactivos por el sitio activo, como se verá en el próximo capítulo.

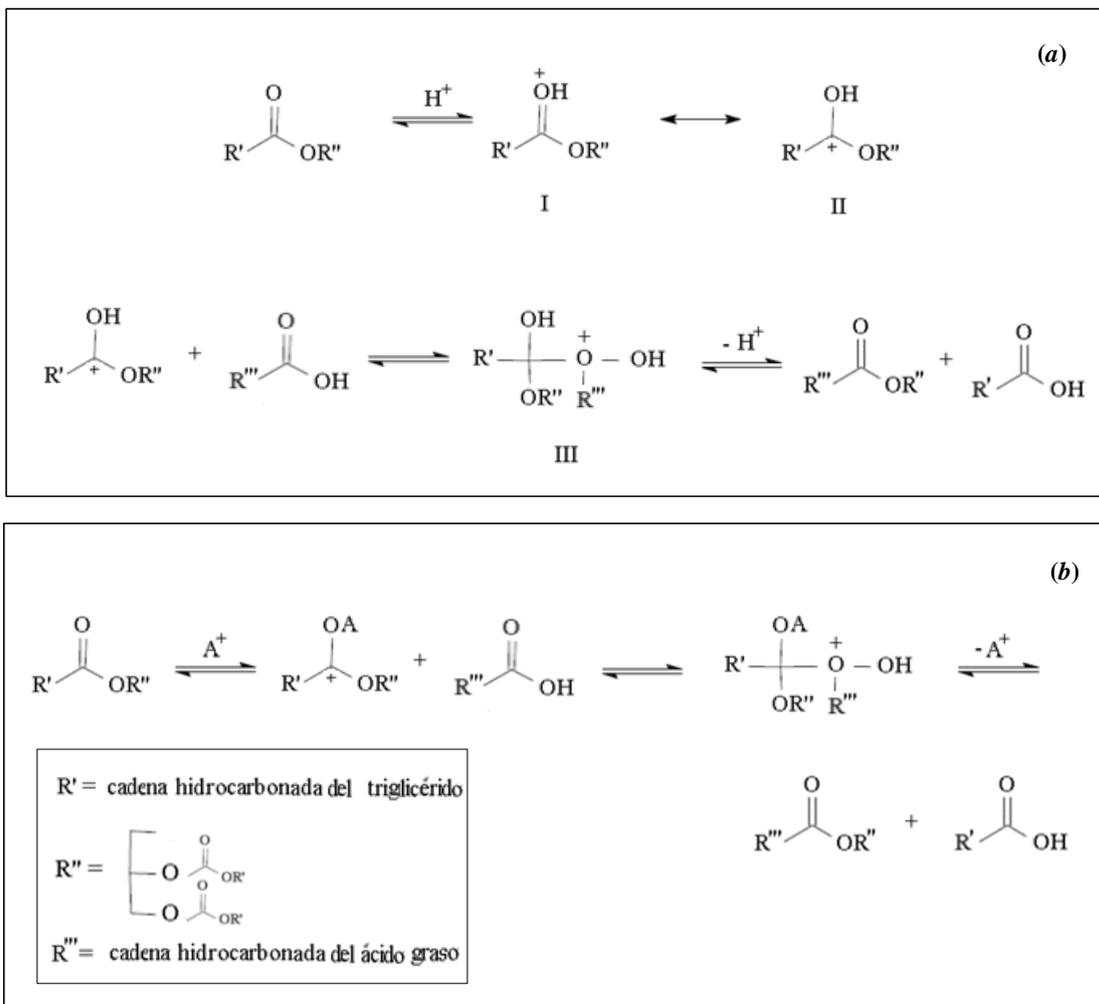


Figura 4.22. Esquema del mecanismo de reacción de acidólisis catalizada por un sólido ácido. (a) sitio ácido de Brönsted (H^+), (b) sitio ácido de Lewis (A^+). Fuente: Adaptación trabajo de Schuchardt y col. [37].

4.9. Ensayos de reúso

Una de las principales ventajas de los catalizadores heterogéneos sobre los homogéneos, es que los primeros pueden ser fácilmente recuperados de la mezcla de

reacción y reutilizados [38]. En esta sección se presentarán los resultados obtenidos al estudiar el uso del catalizador en tres reacciones consecutivas. Para este estudio, se seleccionaron 3 catalizadores, uno de cada familia presentada previamente: Nb₂O₅, ZS-A y ZS-D.

Las condiciones de reacción utilizadas en todos los ensayos fueron las presentadas en la *Tabla 4.3*, con un tiempo de reacción de 20 h. El catalizador, usado en reacción, fue lavado 5 veces con hexano a 60°C y la suspensión fue centrifugada a una velocidad de 8000 rpm. Posteriormente, el sólido recuperado fue secado en corriente de nitrógeno.

A diferencia de los ensayos previos, en este estudio se duplicó la masa empleada (de reactivos y catalizador), con la finalidad de evitar el manejo de cantidades de catalizador muy pequeñas. En la *Figura 4.23* se presenta una imagen del sistema de reacción empleado. Se utilizó un horno de bronce provisto de cartuchos calefactores y un orificio, en el cual cabía perfectamente el reactor de vidrio. El conjunto (horno y reactor) era colocado sobre una placa agitadora que brindaba una agitación controlada. La temperatura de reacción era medida a través de una termocupla tipo J y controlada por un controlador de temperatura.

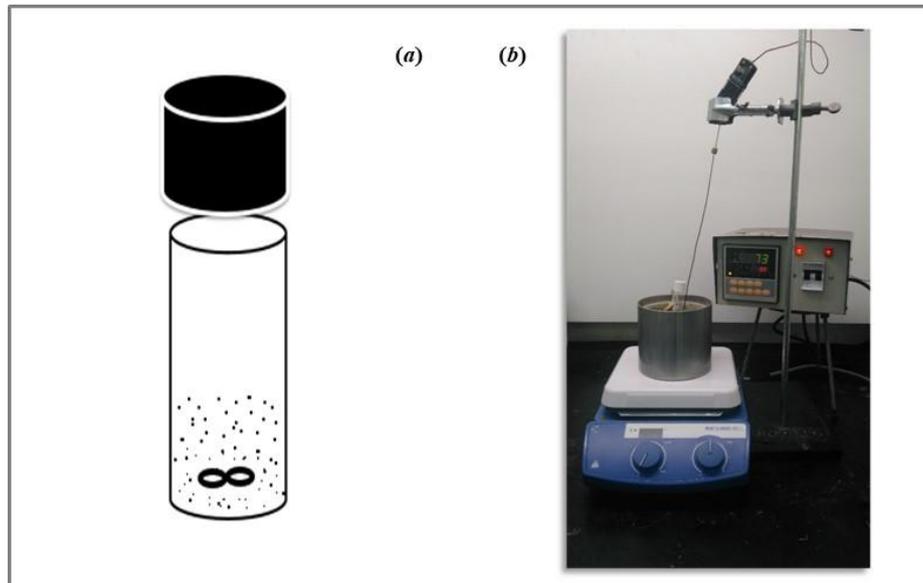


Figura 4.23. (a) Esquema del reactor y (b) fotografía del sistema completo de reacción utilizado en los ensayos de estabilidad.

A continuación, en la *Figura 4.24*, se presentan los resultados obtenidos para los tres catalizadores ensayados en reuso. Se puede observar que el catalizador Nb_2O_5 mantiene la actividad catalítica en los dos usos posteriores. Por otro lado, los dos catalizadores de circonia sulfatada presentan la misma tendencia: una disminución de la actividad del catalizador en el segundo uso y en el tercero se mantiene aproximadamente constante. En el caso de la muestra ZS-A se pudo observar una caída de la conversión del 11,8% en la segunda reacción, mientras que para ZS-D fue del 23,6%.

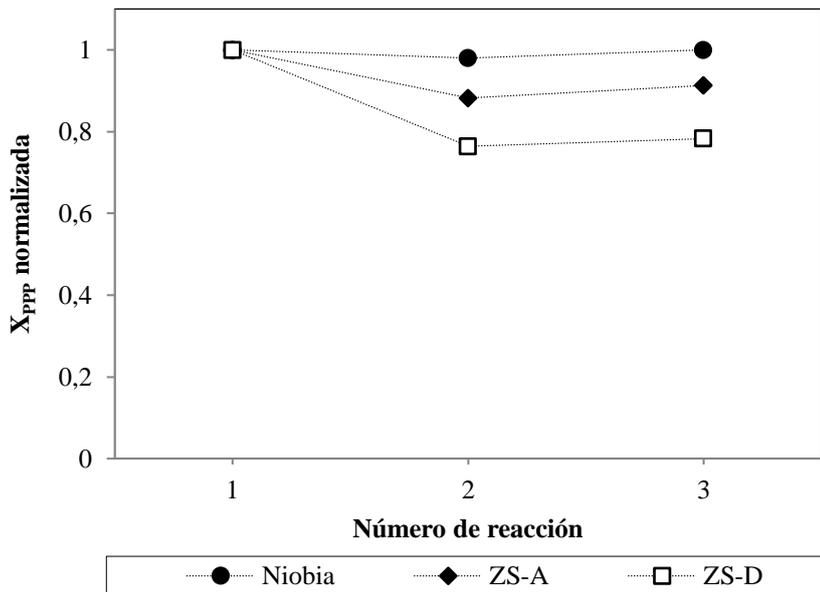


Figura 4.24. Resultados de actividad de las reacciones de reúso de los catalizadores ensayados, considerando conversión normalizada.

Se investigó si la disminución de X_{PPP} podía ser consecuencia de la pérdida de catalizador durante los sucesivos lavados. Se comparó el peso inicial del catalizador con el final (luego de recuperarlo de los lavados, centrifugarlo y acondicionarlo). En el caso de la muestra ZS-A, inicialmente se pesaron 20 mg de catalizador, y se recuperaron luego del tercer acondicionamiento 17,3 mg, por lo tanto, en este caso el porcentaje de pérdida fue del 13,5%. Para el catalizador ZS-D, se pesó inicialmente una cantidad de 20,1 mg, obteniéndose al final del tercer uso 13 mg, con lo cual el porcentaje de pérdida del mismo fue del 35,3%.

Otra posible causa de la caída de la conversión podría ser la lixiviación parcial de los grupos sulfato durante la reacción [39]. Tal como fue reportado en la *Sección 3.3* del *Capítulo 3*, los porcentajes de azufre iniciales para las muestras ZS-A y ZS-D fueron 1,17 y 1,86%. Luego del tercer uso, se determinó por ICP que la concentración de azufre era 1,04 y 1,57% para las muestras ZS-A y ZS-D, respectivamente. Por lo tanto, los

porcentajes de pérdida de S para ambos casos ascienden a 11,1% para el catalizador ZS-A y 15,6% para el catalizador ZS-D.

En función de los valores encontrados, no es posible descartar la pérdida de catalizador durante los pretratamientos o la lixiviación de S como causas de la caída de actividad de ZS-A y ZS-D en usos sucesivos.

Por último, se analizó si la pérdida de actividad podría ser consecuencia de un inapropiado tratamiento de recuperación del catalizador usado. Ha sido reportado [40] que la causa de desactivación del catalizador en reacciones que involucran triglicéridos es la formación de compuestos carbonosos fuertemente adsorbidos sobre la superficie del sitio activo muy difíciles de extraer, aún bajo condiciones severas de recuperación. A fin de investigar esta hipótesis, se analizó la superficie del sólido por IR. La *Figura 4.25* muestra los espectros obtenidos para el catalizador ZS-D antes (*a*) y después de los tres usos sucesivos y el tratamiento de limpieza (*b*).

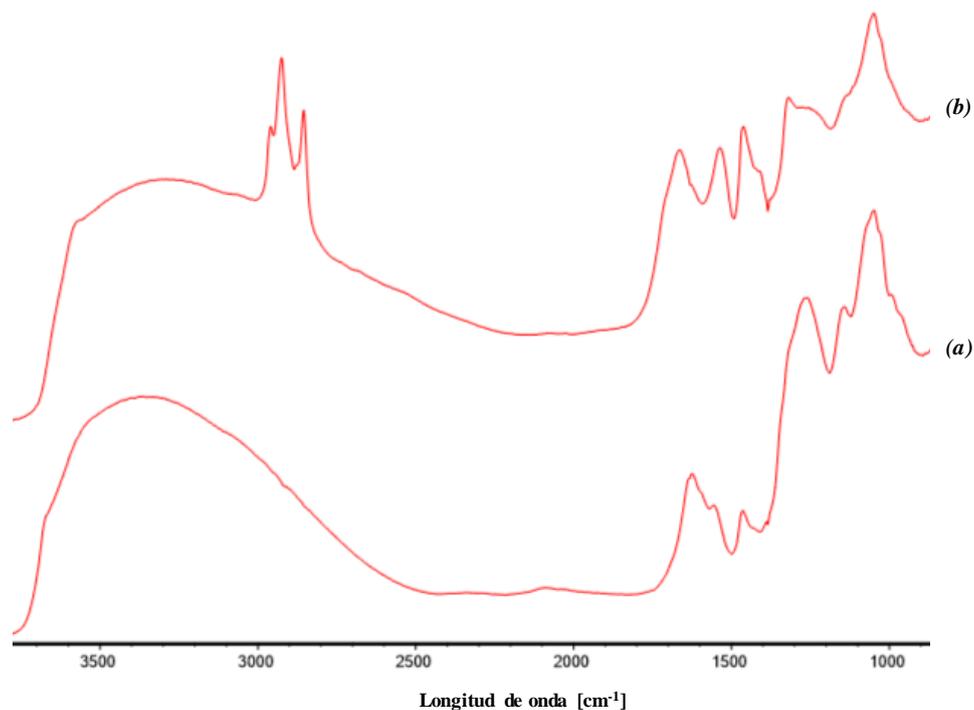


Figura 4.25. Espectros FT-IR correspondientes al catalizador ZS-D (*a*) sin uso, (*b*) luego de tres usos consecutivos.

Como se puede apreciar en la *Figura 4.25 (b)* hay señales que no se observan en la *Figura 4.25 (a)*. Las señales en el espectro entre 3100 y 1100 cm^{-1} son características de grupos funcionales presentes en grasas y aceites [41,42]. Las señales más destacadas entre 3100 y 2800 cm^{-1} son atribuidas al estiramiento C-H asimétrico y simétrico, mientras que las que se encuentran en 1450 y 1380 cm^{-1} corresponden a la vibración de flexión de C-H. La señal cercana a 1750 cm^{-1} se asigna al grupo éster C=O, y los picos entre 1200 y 1100 cm^{-1} se atribuyen a la vibración de estiramiento del C-H. Ambos espectros presentan un pico ancho alrededor de 3500 cm^{-1} correspondiente a -OH.

Estos resultados muestran que hay señales en el espectro IR compatible con los reactivos y productos que estuvieron en contacto con el sólido. El pretratamiento, empleado sobre el catalizador, no fue totalmente efectivo. La caracterización realizada no permite determinar si los residuos de grasa están bloqueando los poros o envenenando los sitios activos, o si son inofensivos en cuanto a la estabilidad catalítica. De todas formas, la desactivación de los catalizadores de circonia sulfatada es sólo parcial, y no empeora en un tercer uso.

Los datos experimentales presentados en esta sección no permiten sacar una conclusión fehaciente sobre las causas de la desactivación de los catalizadores de circonia sulfatada. El análisis continuará en el próximo capítulo, donde se presentará más información a tener en cuenta en la discusión.

4.10. Conclusiones

Los catalizadores sintetizados fueron investigados en la reacción de acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico. Se verificó que el sistema operaba en ausencia de resistencias externas a la transferencia de masa mediante el criterio de Carberry y ensayos

de reacción a diferentes velocidades de agitación. A su vez, el cálculo del módulo de Weisz-Prater permitió conocer la ausencia de limitaciones a la difusión intrapartícula para los reactivos.

La estabilidad térmica de PPP y de los ácidos grasos cáprico y caproico, en atmósfera inerte y a la temperatura de reacción, fue verificada mediante un análisis termogravimétrico.

La reacción de interés en ausencia de catalizador presentó una conversión de PPP de 23% para un tiempo de 24 h de reacción, a 180°C y relación molar C:PPP de 4:1.

En esas condiciones y con una carga de 4% de catalizador, la muestra ZS-B fue la menos activa de las circonias sulfatadas ($X_{PPP} = 37\%$), seguida por ZS-C (44%), siendo ZS-A y ZS-D las más activas (~48%). En todos los casos, las selectividades presentaron valores muy similares. Quedo demostrado que las muestras que presentaban fase tetragonal (ZS-A, ZS-C y ZS-D) fueron catalíticamente más activas que la muestra con fase monoclinica mayoritaria (ZS-B). Con respecto a las muestras con niobia, las conversiones de PPP fueron 32 y 36% para Nb₂O₅ y Nb₂O₅ sulfatada, respectivamente.

Se encontró que existe una relación directa entre la densidad de sitios ácidos del catalizador y su actividad en la reacción de interés. Tanto los sitios ácidos de Brønsted como los de Lewis participan en la reacción, sin distinción en la fuerza ácida.

Se planteó un modelo cinético de pseudo segundo orden con respecto a la concentración de tripalmitina, lo que permitió obtener un buen ajuste de los datos experimentales.

Por último, se realizó un estudio de estabilidad, utilizando tres catalizadores en ensayos consecutivos con lavado intermedio con hexano. El catalizador Nb₂O₅ mantuvo

su actividad en tres usos. Por su parte, las muestras ZS-A y ZS-D presentaron en el segundo uso una disminución en X_{PPP} de 12 y 23% respectivamente. En el tercer uso se mantuvieron constante.

4.11. Referencias

- [1] Fenema O.R., en *Química de los alimentos*, Acribia S.A. (Ed.), Capítulo 4 (1996).
- [2] Gouveia de Souza A., Oliveira Santos J.C., Conceição M.M., Dantas Silva M.C., Prasad S.; *Thermoanalytic and kinetic study of sunflower oil*. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 21 (2004) 265-273.
- [3] Dweck J., Sampaio C. M. S., *Analysis of the thermal decomposition of commercial vegetable oils in air by simultaneous TG/DTA*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 75 (2004) 385-391.
- [4] Buzas I., Kurucz E., Hollo J., *Study of the Thermooxidative Behavior of Edible Oils by Thermal Analysis*. *Journal of the American oil chemists' society* 56 (1978) 685-688.
- [5] Solís-Fuentes J.A., Amador-Hernández C., Hernández-Medel M.R., Durán-de-Bazúa M.C., *Caracterización fisicoquímica y comportamiento térmico del aceite de "almendra" de guanábana (Annona muricata, L)*. *Grasas y aceites* 61 (1) (enero-marzo 2010) 58-66.
- [6] https://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_US_CB9163652.aspx/ último acceso 9/7/2020.
- [7] Perry E.S., Weber W.H., Daubert B.F., *Vapor Pressures of Phlegmatic Liquids. I. Simple and Mixed Triglycerides*. *Journal of the American Chemical Society* 71 (1949) 3720-3726.
- [8]<https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C334485&Units=SI&Mask=FFFF&Type=ANTOINE&Plot=on#ANTOINE> / último acceso 9/7/2020.
- [9]<https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AR&language=es&productNumber=21410&brand=SIAL&PageToGoToURL=%2Fsafety-center.html> / último acceso 9/7/2020.
- [10] Rose A., Acciarri J., Curtis Johnson R., Sanders W., *Automatic Computation of Antoine Equation Constants-Caproic and Caprylic Acids and Methyl Esters*, *Industrial & Engineering Chemistry* 49 (1957) 104-109.

- [11] <https://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage.do?country=AR&language=es&productNumber=153745&brand=ALDRICH&PageToGoToURL=%2Fsafety-center.html> / último acceso 9/7/2020.
- [12] Fogler H., Scott L., Elements of chemical reaction engineering. 3rd ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999.
- [13] Dossin T., Reyniers M., Berger R., Marin G., *Simulation of heterogeneously MgO-catalyzed transesterification for fine-chemical and biodiesel industrial production*. Applied Catalysis. B: Environmental 67 (2006) 136-148.
- [14] Kimmel T., *Kinetic investigation of the basic-catalyzed glycerolysis of fatty methyl esters*. PhD Thesis, Institut für Chemie, TU, Berlin, Germany (2004).
- [15] Ferretti C., *Valoración catalítica de glicerol: síntesis de monoglicéridos*. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Litoral (2010).
- [16] Karabulut I., Durmaz G., Hayaloglu A. A., *Fatty Acid Selectivity of Lipases during Acidolysis Reaction between Triolein and Saturated Fatty Acids Varying from Caproic to Behenic Acids*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57 (2009) 7584-7590.
- [17] Karabulut I., Durmaz G., Hayaloglu A. A., *C18 Unsaturated Fatty Acid Selectivity of Lipases During the Acidolysis Reaction Between Tripalmitin and Oleic, Linoleic, and Linolenic Acids*. Journal of the American Oil Chemists' Society 87 (2010) 1301-1307.
- [18] Bischoff, K. B. Chemical reactor analysis and design. John Wiley & Sons Inc. (1990).
- [19] Gutierrez-Ortiz J. I., Lopez-Fonseca R., González-Ortiz de Elguea C., Gonzalez-Marcos M. P., Gonzalez-Velasco J. R., *Mass transfer studies in the hydrogenation of methyl oleate over a Ni/SiO₂ catalyst in the liquid phase*. Reaction Kinetics and Catalysis Letters 70 (2) (2000) 341-348.
- [20] Poling B., Prausnitz J., O'Connell J. En: *The properties of gases and liquids*. Fifth Edition. McGraw-Hill, (2001).
- [21] Gmehling J., Kleiber M., Kolbe B., Rarey J., En: *Chemical Thermodynamics for Process Simulation*, Ed. Wiley (2019) 134.

- [22] Wang X., Sun T., Teja A., *Density, Viscosity, and Thermal Conductivity of Eight Carboxylic Acids from (290.3 to 473.4) K*. Journal of Chemical & Engineering Data 61 (2016) 2651-2658.
- [23] Ullmann's Food and Feed, 3 Volume Set, Volumen 2, Wiley-VCH, 665.
- [24] http://www.lipico.com/technical_references_palm_oil_properties.html / último acceso 9/7/2020.
- [25] Doraiswamy L. K., Uner D. En: *Chemical Reaction Engineering: Beyond the Fundamentals*. CRC Press, Taylor and Francis Group (2014).
- [26] Sales-Cruz M., Aca-Aca G., Sánchez-Daza O., López-Arenas T., *Predicting critical properties, density and viscosity of fatty acids, triacylglycerols and methyl esters by group contribution methods*. 20th European Symposium on Computer Aided Process Engineering. 2010.
- [27] Camacho F., Robles A., Camacho B., González P., Esteban L., Molina E., *Modeling of the kinetic for the acidolysis of different triacylglycerols and caprylic acid catalyzed by Lipozyme IM immobilized in packed bed reactor*. Chemical Engineering Science 62 (2007) 3127-3141.
- [28] <https://hapman.com/news-and-knowledge/bulk-material-density-guide/>
- [29] Weisz P., Prater C., *Interpretation of measurements in experimental catalysis*. Advances in Catalysis 6 (1954) 143-196.
- [30] Zalewski D. J., Alerasool S., Doolin P. K., *Characterization of catalytically active sulfated zirconia*, Catalysis Today 53 (1999) 419-432.
- [31] Ahmed A.I., El-Hakam S.A., Samra S.E., EL-Khouly A.A., Khder A.S., *Structural characterization of sulfated zirconia and their catalytic activity in dehydration of ethanol*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 317 (2008) 62–70.
- [32] Ramu S., Lingaiah N., Prabhavathi Devi B., Prasad R., Suryanarayana I., Sai Prasad P., *Esterification of palmitic acid with methanol over tungsten oxide supported on zirconia solid acid catalysts: effect of method of preparation of the catalyst on its structural stability and reactivity*. Applied Catalysis A: General 276 (2004) 163-168.
- [33] Alab P., Sani Y., Daud W., *Efficient biodiesel production via solid superacid catalysis: a critical review on recent breakthrough*. RSC Adv. 6 (2016) 78351-78368.

- [34] Barbosa S., Dabdoub M., Hurtado G., Klein S., Baroni A., Cunha C., *Solvent free esterification reactions using Lewis acids in solid phase catalysis*. Applied Catalysis A: General 313 (2006) 146-150.
- [35] Reinoso D., Ferreira M. L., Tonetto G., *Study of the reaction mechanism of the transesterification of triglycerides catalyzed by zinc carboxylates*. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 377 (2013) 29-41.
- [36] Di Serio M., Tesser R., Pengmei L., Santacesaria E, *Heterogeneous catalysts for biodiesel production*. Energy & Fuels 22 (2007) 207-217.
- [37] Schuchardt U., Sercheli R., Vargas R., *Transesterification of Vegetable Oils: a Review*. Journal of the Brazilian Chemical Society 9 (3) (1998) 199-210.
- [38] Suwannakarn K., Lotero E., Goodwin J. G. Jr., Lu C., *Stability of sulfated zirconia and the nature of the catalytically active species in the transesterification of triglycerides*. Journal of Catalysis 255 (2008) 279-286.
- [39] Rocha A., Costa G. C., Tamiasso-Martinhon P., Sousa C., Rocha A. B., *Acidity enhancement of niobia by sulfation: An experimental and DFT study*. Materials Chemistry and Physics 186 (2017) 138-145.
- [40] Boldrini D., Tonetto G., Damiani D., *Experimental study of the deactivation of Pd on anodized aluminum monoliths during the partial hydrogenation of vegetable oil*. Chemical Engineering Journal 270 (2015) 378-384.
- [41] Guillen M., Cabo N., *Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats*. Journal of the Science of Food and Agriculture 75 (1997) 1-11.
- [42] Lerma-García M., Ramis-Ramos G., Herrero-Martínez J., Simó-Alfonso E., *Authentication of extra virgin olive oils by Fourier transform infrared spectroscopy*. Food Chem 118 (2010) 78-83.

5. ESTUDIO DE LAS VARIABLES DE OPERACIÓN A TRAVÉS DE UN DISEÑO DE EXPERIMENTOS

5.1. *Introducción*

Un conjunto de experimentos puede realizarse de forma más eficiente empleando métodos científicos en su planificación. El diseño experimental es una técnica estadística que permite identificar y cuantificar las causas de un efecto dentro de un estudio experimental. En un diseño experimental se manipulan deliberadamente una o más variables operativas, para medir el efecto que tienen en otra variable de interés. Básicamente, un diseño experimental consiste en desarrollar una serie de experimentos previamente planeados, en los que se varían los valores de las variables de entrada (variables independientes) y se miden los valores de respuesta (variables dependientes) a la salida, o sea luego de realizar el experimento. Más específicamente, diseños que involucran metodologías de superficie de respuesta (comúnmente abreviado RSM por su denominación en inglés *Response Surface Methodology*) permiten analizar simultáneamente varias variables con un mínimo número de ensayos, ya que se basan en diseños factoriales.

La RSM consiste en un grupo de técnicas matemáticas y estadísticas que pueden utilizarse para definir las relaciones entre la respuesta y las variables independientes. Esta metodología presenta ventajas en comparación con los métodos experimentales clásicos. En primer lugar, ofrece una gran cantidad de información a partir de un pequeño número de experimentos. De hecho, los métodos clásicos consumen mucho tiempo y se necesita un gran número de experimentos para explicar el comportamiento de un sistema. En segundo lugar, es posible observar el efecto de la interacción de los parámetros independientes sobre la respuesta [1,2,3].

El objetivo de este capítulo fue lograr una mayor comprensión del efecto de la variación de los parámetros de reacción en la conversión de PPP y selectividad a los TE

buscados. También se continúan investigando los fenómenos asociados a la estabilidad catalítica de las muestras.

5.2. *Diseño experimental*

La acidólisis enzimática ha sido motivo de investigación a través del diseño de experimento a fin de comprender el efecto de diferentes variables operacionales. Bektas y col. [4] analizaron el efecto de tres parámetros independientes, como la relación molar del sustrato, la carga de enzima y el tiempo de reacción sobre la cantidad de ácido graso incorporado en el triglicérido. Por su parte, Foresti y col. [5] extendieron la influencia de los parámetros de reacción elegidos (relación molar del sustrato, carga del biocatalizador y temperatura de reacción) a otras variables de respuesta tales como la conversión de triglicérido, selectividad y rendimiento a lípidos estructurados buscados, rendimiento de productos de hidrólisis e importancia de la migración de acilo. Este tipo de estudio no ha sido realizado para la acidólisis catalizada por sólidos inorgánicos.

En este trabajo, para la reacción de acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico mediante la aplicación de catalizadores heterogéneos, se seleccionó un diseño de experimento factorial con 3 factores y 3 niveles, para evaluar la influencia de los parámetros de reacción sobre los valores de respuesta. El mismo consistió en un diseño experimental 2^3 , con 2 repeticiones del punto central, dando lugar a 10 ensayos en un solo bloque y con un nivel de confianza del 95%. Los factores seleccionados fueron: temperatura (T [°C]), relación molar inicial C: PPP (RM [mol:mol]) y carga de catalizador (Cat [%] referido a PPP). Las respuestas estudiadas fueron: conversión de PPP (X_{PPP} [%]), selectividad a PPC (S_{PPC} [%]) y a PCC (S_{PCC} [%]). Estas dos últimas no son independientes, dado que PPC y PCC fueron los únicos dos productos formados.

La selectividad a CCC no fue incorporada en el diseño de experimentos debido a que no se registró su formación bajo las condiciones operacionales elegidas en este trabajo.

El diseño factorial y el análisis estadístico fueron realizados utilizando el software comercial Statgraphics Centurion®, Versión XV.2. Se asumió como nivel central (nivel 0) las condiciones de reacción utilizadas en el *Capítulo 4* ($T=180^{\circ}\text{C}$, $\text{RM}=4:1$ y $\text{Cat}=4\%$). Todas las reacciones se llevaron a cabo durante 4 h, con agitación magnética a 750 rpm. En todos los casos se utilizó el catalizador ZS-D. En la *Tabla 5.1*, se muestran los niveles propuestos para los factores seleccionados.

Tabla 5.1. Valores de los factores utilizados en cada nivel del diseño.

Parámetro	Nivel		
	-1	0	1
T [$^{\circ}\text{C}$]	160	180	200
RM [mol:mol]	2:1	4:1	6:1
Cat [%]	3	4	5

La combinación de los factores utilizados en cada experimento se presenta en la *Tabla 5.2*. El orden de los experimentos fue aleatorio para proporcionar protección contra los efectos de los factores desconocidos y no controlados, que podrían afectar a los resultados.

Las variables de respuesta se ajustaron por regresión múltiple, y se utilizaron los modelos generados para evaluar el efecto de los factores experimentales seleccionados. El efecto estadísticamente significativo de las variables se probó mediante la prueba estadística ANOVA [6]. La buena calidad del ajuste de los modelos propuestos se evaluó

mediante el coeficiente de determinación (R^2) y el coeficiente de determinación ajustado (R^2 ajustado). Ambos son una medida de la variación de la media explicada por el modelo. La significancia de los términos del modelo fue establecida por el valor p. Un valor p menor a 0,05 indica que la variable o el término del modelo es significativo. Los coeficientes no significativos son eliminados de los modelos. Los modelos se perfeccionan aplicando la prueba del valor F, también llamada test de Fisher o Fisher-Snedecor.

La Resolución de un diseño permite saber hasta qué nivel el modelo va a ser estadísticamente confiable. El diseño planteado en este capítulo presentó una Resolución V+, indicando que es capaz de asignar las estimaciones de interacciones de tres factores o mayor orden si se desea.

Tabla 5.2. Diseño experimental 2^3 para la reacción de acidólisis de PPP con C.

Experimento	T	RM	Cat
1	-1	-1	-1
2	0	0	0
3	-1	1	1
4	-1	1	-1
5	1	1	-1
6	-1	-1	1
7	1	1	1
8	1	-1	1
9	0	0	0
10	1	-1	-1

5.3. Resultados del diseño experimental y análisis estadístico

Los ensayos se llevaron a cabo según el diseño experimental planteado en la Sección 5.2. La Tabla 5.3 presenta los factores experimentales y las respuestas obtenidas, correspondientes a mediciones realizadas a 4 h de reacción. Los resultados experimentales y los modelos derivados para cada variable de respuesta se analizan en detalle en los siguientes apartados.

Tabla 5.3. Diseño experimental 2³ para la reacción de acidólisis de PPP con C catalizada por ZS-D (tiempo de reacción: 4 h).

Experimento	Factores experimentales			Variables de respuesta		
	T [°C]	RM [mol:mol]	Cat [%]	X _{PPP} [%]	S _{PPC} [%]	S _{PCC} [%]
1	160	2:1	3	8,8	95,8	4,2
2	180	4:1	4	21,1	93,2	6,8
3	160	6:1	5	19,0	95,1	4,9
4	160	6:1	3	18,5	96,4	3,6
5	200	6:1	3	28,0	90,2	9,8
6	160	2:1	5	9,4	93,9	6,1
7	200	6:1	5	35,7	87,7	12,3
8	200	2:1	5	39,9	84,6	15,4
9	180	4:1	4	23,3	91,3	8,7
10	200	2:1	3	28,9	90,3	9,7

5.3.1. Conversión de PPP

Los valores de conversión de PPP se encontraron entre 8,8 y 39,9% (Tabla 5.3) bajo las condiciones experimentales investigadas. La Tabla 5.4 presenta los resultados

del análisis de varianza para la variable de respuesta X_{PPP} . En este caso, cinco factores tienen valores p menores a 0,05, indicando que hay una relación estadísticamente significativa entre los factores y la respuesta, con un nivel de confianza mayor que 95%. Ellos son la temperatura, la relación molar, la carga de catalizador y los productos $T*RM$ y $T*Cat$. La *Figura 5.1* muestra el gráfico de Pareto estandarizado para dicho caso, donde la longitud de cada barra es proporcional a la significancia estadística tanto de los efectos principales como de las interacciones. De esta figura es claro que la temperatura es el parámetro que más influye en la conversión de PPP.

Tabla 5.4. Análisis de varianza para la variable de respuesta X_{PPP} .

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor p
T	737,28	1	737,28	339,81	0,0003
RM	25,205	1	25,205	11,62	0,0422
Cat	49,005	1	49,005	22,59	0,0177
T*RM	74,42	1	74,42	34,3	0,0099
T*Cat	38,72	1	38,72	17,85	0,0243
RM*Cat	1,445	1	1,445	0,67	0,4742
Error total	6,509	3	216,967	-	-
Total (corr.)	932,584	9	-	-	-

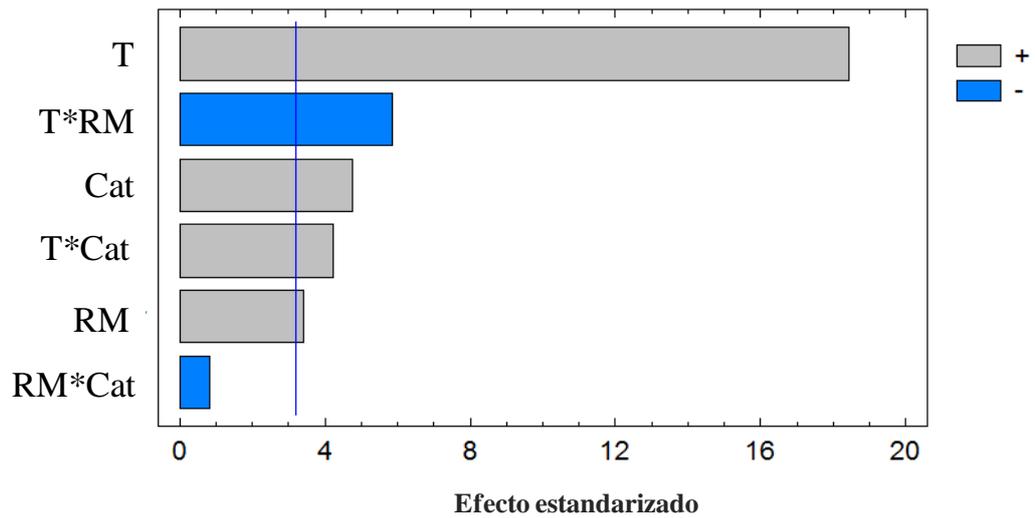


Figura 5.1. Gráfico de Pareto estandarizado para la conversión de PPP.

Luego de identificar los principales efectos, se aplicó un modelo cuadrático para el ajuste de los datos experimentales por regresión múltiple. El modelo de ajuste cuadrático que contiene todas las variables y combinaciones de las mismas está representado por la *Ecuación 5.1*.

$$X_{PPP} = A_0 + A_1.T + A_2.Cat + A_3.RM + A_4.T.Cat + A_5.T.RM + A_6.Cat.RM + A_7.T^2 + A_8.Cat^2 + A_9.RM^2 \quad (Ec. 5.1)$$

Como se indicó en la *Sección 5.2*, el modelo fue refinado aplicando el Test de Fisher con el fin de simplificarlo mediante la supresión de factores estadísticamente no significativos. Para lograr esto se van eliminando variables mediante una selección por pasos. En cada paso, el algoritmo elimina del modelo la variable que es estadísticamente de menor importancia. Cuando todas las variables restantes tienen valores significativos, el procedimiento se detiene. La *Ecuación 5.2* se obtuvo después de realizar la selección por pasos. Dado que el valor de p para el modelo resultó menor a 0,05, se puede decir que

existe una relación estadísticamente significativa entre las variables y la respuesta con un nivel de confianza superior al 95%.

$$X_{PPP} = -22,5324 + 0,00098846.T^2 - 16,9532.Cat + 14,7055.RM - 0,0767665.RM.T + 0,107934.T.Cat \quad (Ec. 5.2)$$

El modelo de segundo orden con la temperatura e interacción entre variables logró el mejor ajuste de las respuestas obtenidas, con un valor de F de 113,18 y un valor de p igual a 0,0002. De acuerdo con el coeficiente de determinación, el modelo refinado explica el 99,30% de la variabilidad en la X_{PPP} , lo que indica que el modelo ajustado tiene cualidades aceptables en la expresión del total de la conversión de tripalmitina. El coeficiente de determinación ajustado, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, fue 98,42%.

La *Figura 5.2* muestra los gráficos de superficie de respuesta para el modelo de segundo orden representado por la ecuación anterior. En ellos se presentan los efectos de la temperatura, la relación molar y la carga de catalizador sobre la conversión de tripalmitina, manteniendo uno de los factores constantes en su valor central. En la *Figura 5.2 (a)* se observa que el aumento de RM y Cat conduce a una mayor conversión de tripalmitina. En este caso, la superficie es representada por un plano dado que el término cuadrático del modelo presenta un valor constante ($T=180^{\circ}\text{C}$). La *Figura 5.2 (c)* muestra que el aumento de T y la carga de catalizador también genera un aumento en el valor de la conversión. Por el contrario, a 200°C y con 4% de catalizador, la *Figura 5.2 (b)* muestra que la conversión disminuye levemente con el aumento de RM.

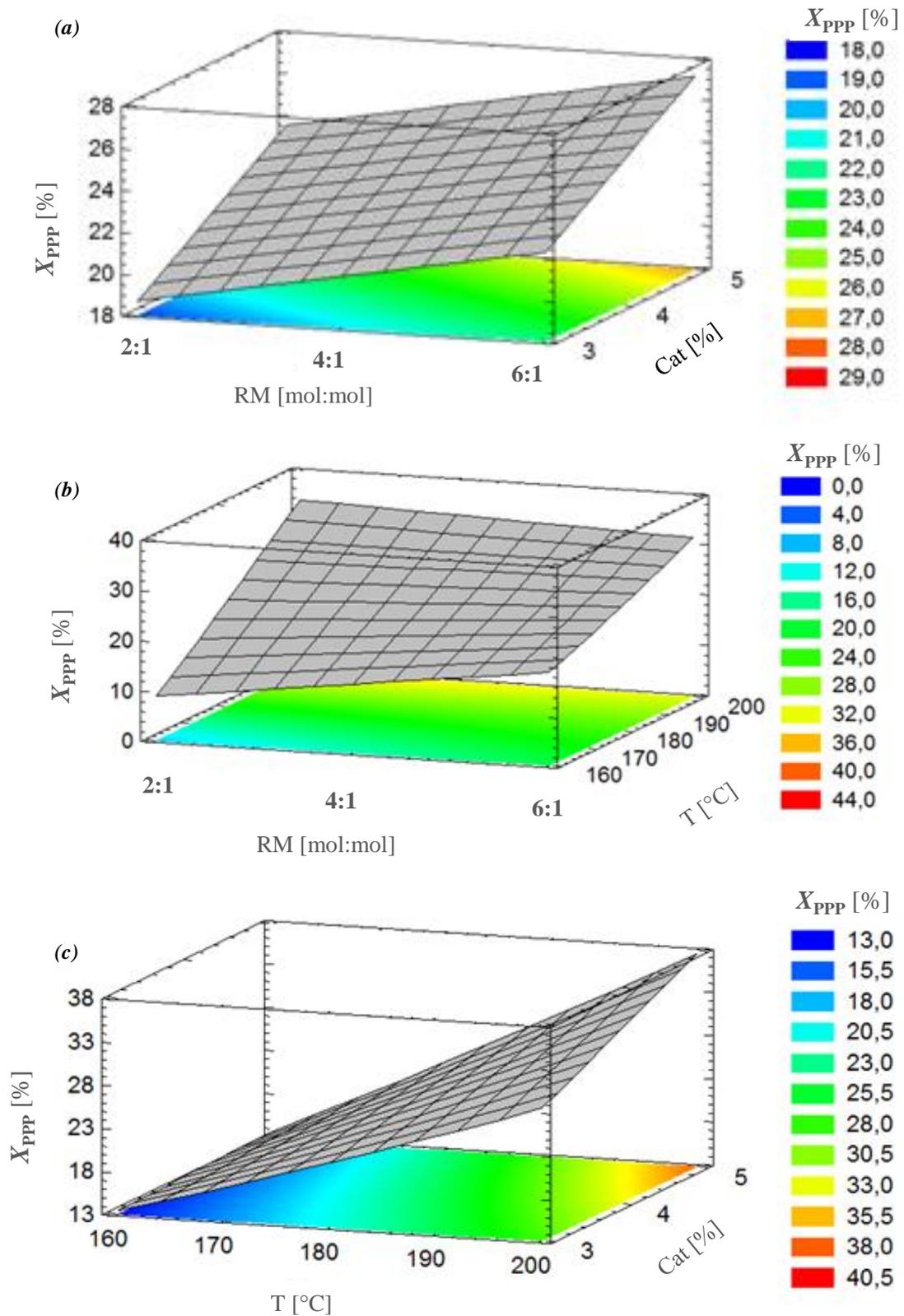


Figura 5.2. Gráficos de superficie de respuesta para X_{PPP} (tiempo de reacción: 4h) (a) $T=180^{\circ}\text{C}$; (b) $\text{Cat}=4\%$; (c) $\text{RM}=4:1$.

Tal como se pudo observar en el gráfico de Pareto para la conversión (*Figura 5.1*), la temperatura resulta el factor más significativo. En consecuencia, se presentan los gráficos de superficie de respuesta para las otras dos temperaturas de reacción estudiadas (160 y 200°C), variando la relación molar y la carga de catalizador. La *Figura 5.3* muestra el efecto de dichos factores experimentales sobre la conversión de PPP. Si se observan las *Figuras 5.3* y *5.2 (a)*, la conversión de PPP aumenta conforme se incrementa la carga de catalizador, pero no ocurre lo mismo con la RM. Las *Figuras 5.2 (a)* y *5.3 (a)* muestran una tendencia creciente de la X_{PPP} con RM, pero a 200°C se invierte la tendencia (*Figura 5.3 (b)*). La máxima conversión de PPP se encontró a 200°C, 5% de catalizador y una relación molar C:PPP igual a 2:1.

A la mayor temperatura de trabajo, el aumento de la concentración de ácido cáprico genera una leve disminución en la conversión de PPP. Si se analiza sólo la *Figura 5.3 (b)* se observa un efecto inhibitor del ácido en la reacción y podría explicarse suponiendo que ocurre una adsorción competitiva del ácido frente al triglicérido. Previamente se mostró que no hay formación de otros productos de reacción a 200°C, y posteriormente se mostrará que tampoco hay desactivación del catalizador. La adsorción competitiva se produce debido a que algún componente se adsorbe más fuertemente e impiden la adsorción de otros que se adsorben más débilmente, en el mismo sitio activo [7]. En este caso, la PPP competiría con el C por los sitios ácidos sobre el catalizador, haciendo que, a relaciones molares C:PPP altas, la reacción se ve desfavorecida por la dificultad de uno de los reactivos de acceder al sitio activo. Un resultado semejante fue reportado por Bharti y col. [8] en la síntesis de biodiesel catalizada por CaO a 65°C. A dicha temperatura la conversión de triglicérido aumenta con el aumento de la RM alcohol: triglicérido, pero a 55°C el fenómeno se da a la inversa, la conversión de triglicérido disminuye con el aumento de la RM.

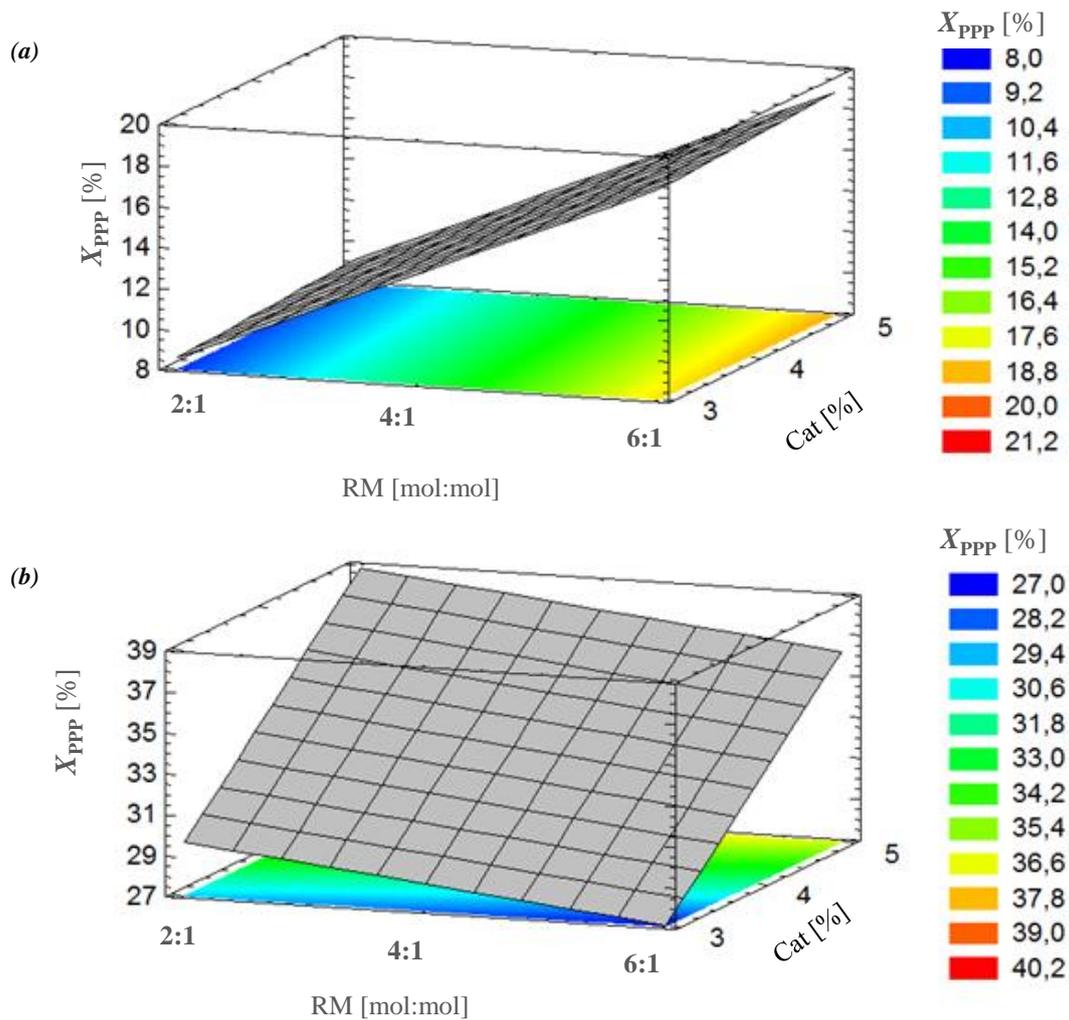


Figura 5.3. Gráficos de superficie de respuesta para para X_{PPP} (tiempo de reacción: 4h),
(a) $T=160^{\circ}\text{C}$; (b) $T=200^{\circ}\text{C}$.

5.3.2. Selectividad a PPC y PCC

En la *Tabla 5.3* se presentaron los valores de selectividad a PPC y PCC obtenidas para las distintas condiciones de reacción estudiadas, según el diseño experimental propuesto. La selectividad a PPC varió entre 84,6 y 96,4% mientras que la correspondiente a PCC estuvo entre 3,6 y 15,4%.

La *Tabla 5.5* presenta los resultados del análisis de varianza para estas dos variables, dado que no son independientes ($\text{PPC}\% = 100 - \text{PCC}\%$). La temperatura (valor

$p = 0,0022$) y la carga de catalizador (valor $p = 0,0281$) fueron los únicos factores que presentaron una relación estadísticamente significativa con la selectividad.

Tabla 5.5. Análisis de varianza para la variable de respuesta S_{PPC} .

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Valor p
T	100,82	1	100,82	99,17	0,0022
RM	2,88	1	2,88	2,83	0,1909
Cat	16,245	1	16,245	15,98	0,0281
T*RM	0,18	1	0,18	0,18	0,7022
T*Cat	3,125	1	3,125	3,07	0,1778
RM*Cat	1,805	1	1,805	1,78	0,2749
Error total	3,05	3	1,01667	-	-
Total (corr.)	128,105	9	-	-	-

La *Figura 5.4* muestra el gráfico de Pareto estandarizado para este caso. En dicha figura se puede notar que la selectividad a PCC varía en forma positiva o creciente con la temperatura y el porcentaje de catalizador. Esto está indicando que, si cualquiera de estos parámetros aumenta, genera un aumento en la selectividad a este TE. En el caso de la selectividad a PPC, el efecto de estos factores es de igual magnitud y signo contrario.

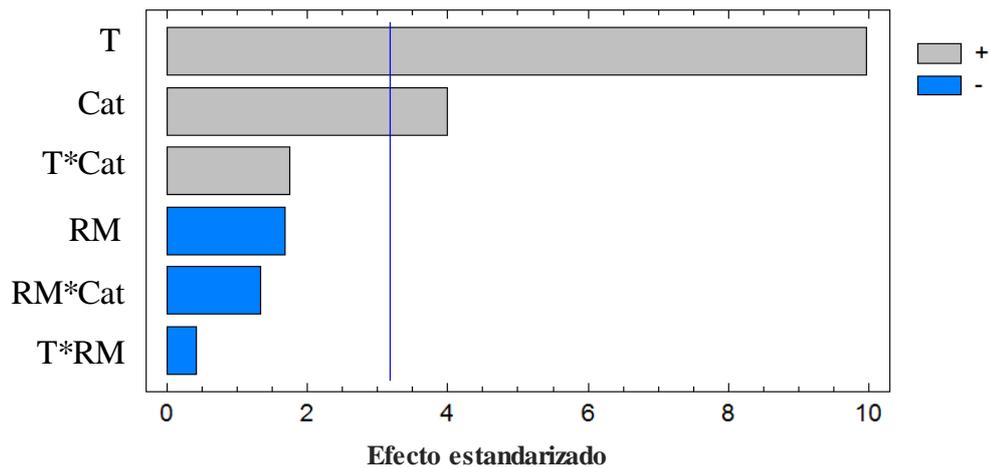


Figura 5.4. Gráfico de Pareto estandarizado para la selectividad a PCC.

Nuevamente, un modelo de segundo orden fue adoptado para ajustar esta respuesta (*Ecuación 5.1*). Se realizó la prueba de Fisher con el fin de obtener una expresión que contenga sólo variables estadísticamente significativas. Las *Ecuaciones 5.3* y *5.4* muestran las expresiones obtenidas para ajustar los datos de las selectividades a los triglicéridos estructurados.

$$S_{PCC} = 2,45 - 6,42353.Cat + 0,0436029.T.Cat \quad (Ec. 5.3)$$

$$S_{PCC} = 97,55 + 6,42353.Cat - 0,0436029.T.Cat \quad (Ec. 5.4)$$

La regresión múltiple generó un modelo que presentó un valor p de 0,0001, con una relación estadísticamente significativa entre las variables y la respuesta con un nivel de confianza superior al 95%. Este modelo fue capaz de explicar 93,42% de la variabilidad de las distintas selectividades (basado en el coeficiente R^2). El valor del estadístico R^2 ajustado fue 91,54%. Para este caso, el valor de F obtenido luego de realizar el test de Fisher, resultó 49,66.

En la *Figura 5.5* se presentan los gráficos de superficie de respuesta para el modelo lineal con interacción entre variables, para ambas selectividades, presentando los efectos de la temperatura y la carga de catalizador. Tal como lo muestra el gráfico de Pareto (*Figura 5.4*), la variable de respuesta S_{PCC} aumenta con la temperatura y la carga de catalizador (*Figura 5.5 (a)*). La máxima concentración de PCC se encontró a 200°C, 5% de catalizador y una relación molar C:PPP igual a 2:1. En el caso de PPC, su máxima generación se dio a 160°C, con 3% de catalizador y RM de 6:1.

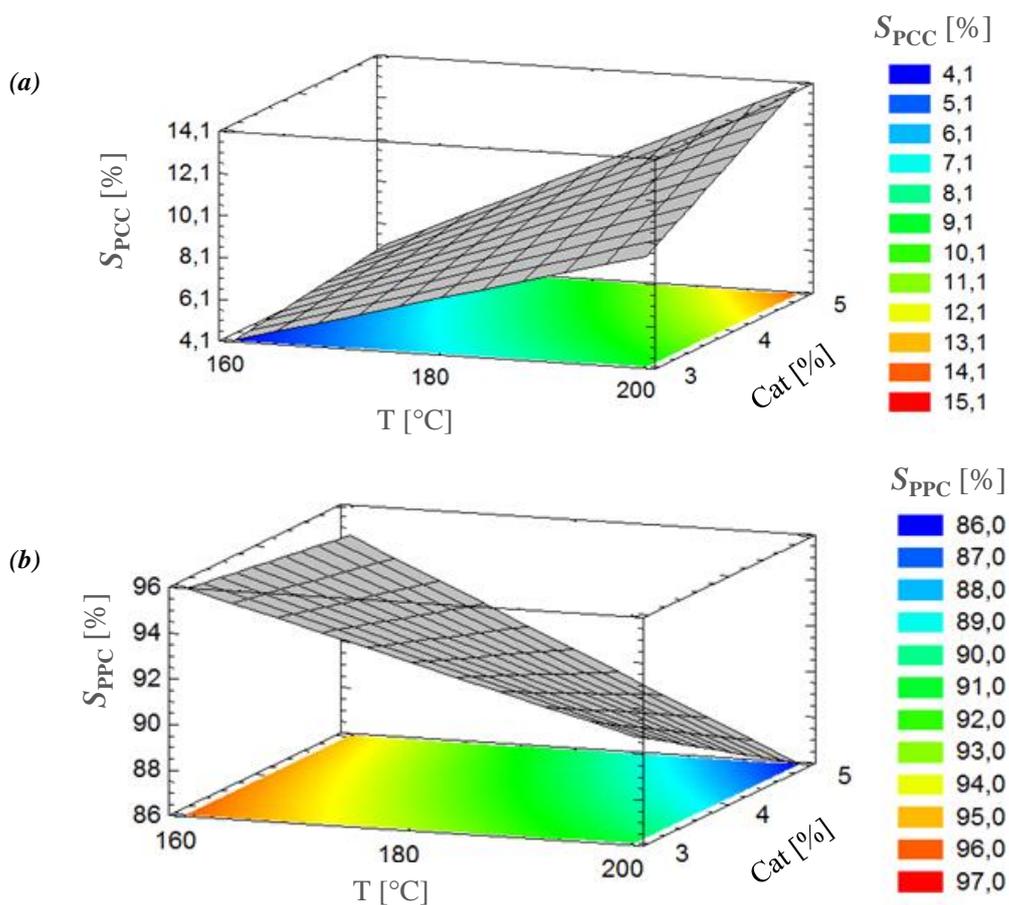


Figura 5.5. Gráfico de superficie de respuesta para (a) la selectividad a PCC y (b) la selectividad a PPC, con RM =4:1 (tiempo de reacción: 4h).

5.3.3. Validación del modelo

Los modelos de superficie de respuesta se validaron mediante un experimento adicional. Se realizó una reacción con las siguientes condiciones de operación: 180°C, 6:1 y 5% de catalizador. El valor obtenido experimentalmente para la conversión de PPP a 4 h fue 24,9% mientras que el determinado por el modelo (*Ecuación 5.2*) fue 27,2%, con un error de 9,2%. Para la selectividad a PCC el valor hallado experimentalmente fue 10,2%, mientras que el obtenido mediante la predicción del modelo (*Ecuación 5.3*) fue 9,6%, de esta manera el error resultó ser 5,9%. Estos valores demuestran un comportamiento satisfactorio de los modelos matemáticos obtenidos.

5.4. Ensayos de actividad catalítica: Comparación en distintas condiciones

Una vez encontradas las condiciones óptimas de reacción mediante el diseño de experimento (que identificaremos como C-OpRx), se llevaron a cabo reacciones de acidólisis a distintos tiempos de reacción (4, 24, 48 y 72 h). Los resultados experimentales fueron comparados con ensayos llevados a cabo en ausencia de catalizador (con T y RM según C-OpRx) y con los obtenidos en condiciones de operación implementadas en el *Capítulo 4* (que denominaremos C-Cap4). En la *Tabla 5.6* se presentan, a manera de resumen, las variables operativas empleadas en ambos casos.

Tabla 5.6. Condiciones experimentales empleadas en la reacción de acidólisis.

Variable	C-Cap4	C-OpRx
T [°C]	180	200
RM [mol:mol]	4:1	2:1
Cat [%]	4	5

En la *Figura 5.6* se presenta la conversión de PPP en función del tiempo de reacción cuando los ensayos se realizaron con y sin catalizador, según las condiciones C-OpRx. Se puede observar una elevada velocidad de conversión en las primeras 4 h en la reacción catalítica, siendo la X_{PPP} igual a 39,9% y 6,6% en la reacción sin catalizador. A tiempos mayores, la reacción procede con una menor velocidad. A las 72 h, las conversiones fueron 76,1 y 63,5% en presencia y ausencia de catalizador, respectivamente.

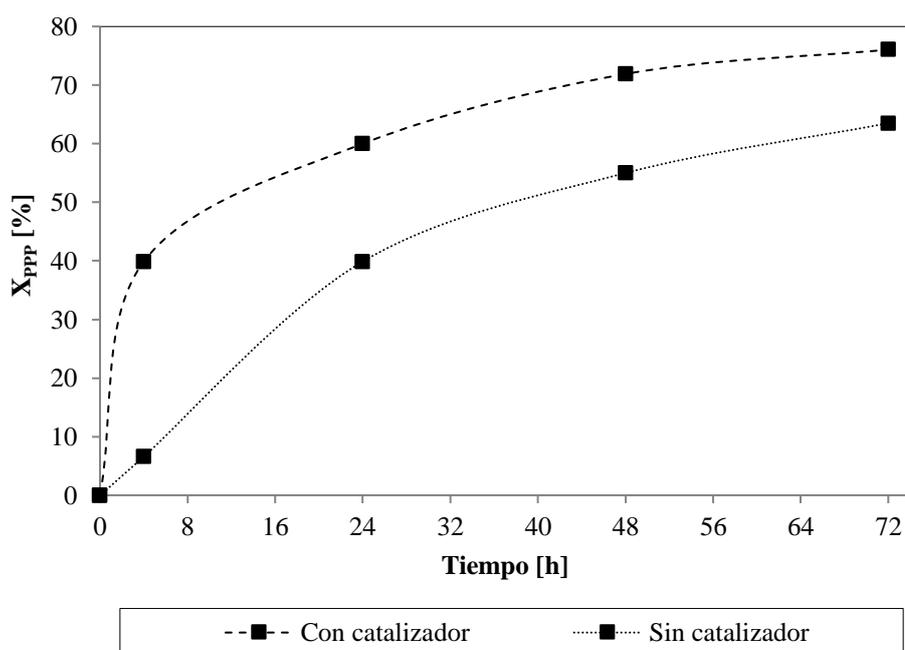


Figura 5.6. Conversión de PPP en función del tiempo en la reacción de acidólisis, empleando las condiciones C-OpRx, con y sin catalizador (ZS-D).

En la *Figura 5.7* se muestra la conversión de PPP en función del tiempo de reacción, para las dos condiciones de reacción presentadas en la *Tabla 5.4*. La mayor diferencia se observa en las primeras 24 h, ya que a partir de las 48 h el valor de conversión para ambas condiciones es similar y aproximadamente constante, sugiriendo que se acerca a un valor de equilibrio. A las 4 h de reacción se observa que la conversión

se duplica, alcanzándose un valor de 39,9% cuando se emplean los valores de variables operativas de C-OpRx, en comparación con el 21,1% que se alcanza con C-Cap4.

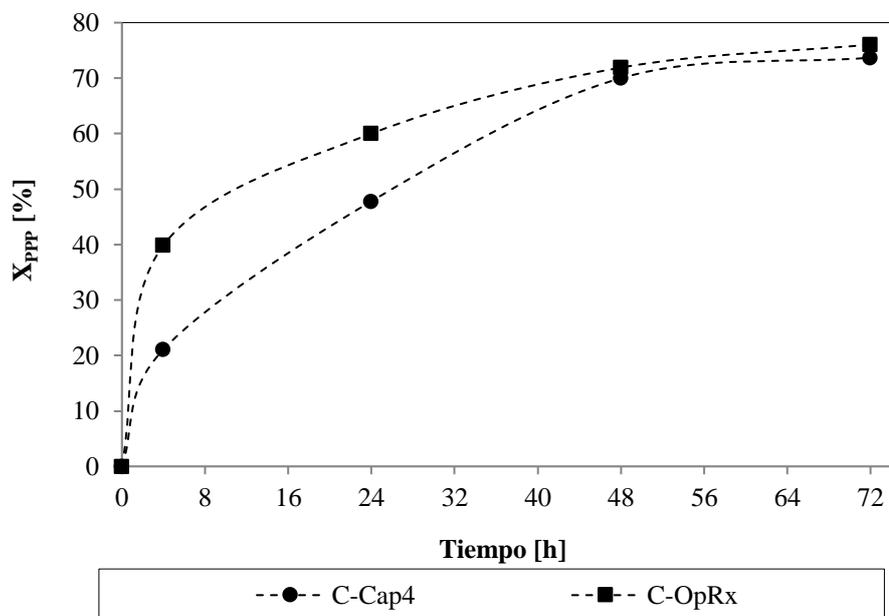


Figura 5.7. Conversión de PPP en función del tiempo en la reacción de acidólisis, para C-Cap4 y C-OpRx (catalizador: ZS-D).

En la *Tabla 5.7* se presentan los resultados de selectividad a los TE buscados, para las reacciones con y sin catalizador obtenidas para C-Cap4 y C-OpRx para un tiempo de 4 h. Nótese que el mejor resultado se obtuvo para C-OpRx y mediante la utilización de catalizador, lo cual concuerda con lo buscado en este diseño de experimentos en donde se deseaba maximizar las variables de respuesta X_{PPP} y S_{PCC} .

Tabla 5.7. Selectividades a los TE buscados, a 4 h de reacción y distintas condiciones (ZS-D).

	C-Cap4		C-OpRx	
	Sin catalizador	Con catalizador	Sin catalizador	Con catalizador
S_{PPP} [%]	98,1	93,2	91,7	84,6
S_{PCC} [%]	1,9	6,8	8,3	15,4

Para comprobar que la reacción realmente había alcanzado el equilibrio, se realizó un ensayo en condiciones óptimas con una duración de 72 h. Luego de transcurrido ese tiempo se abrió el vial y se agregó catalizador fresco, continuando la reacción por 4 h más. Se comprobó, mediante cromatografía gaseosa, que la conversión después de 76 h de reacción (77%) coincidía con la encontrada a las 72 h (76%). De esta manera se pudo verificar que realmente la reacción no seguía avanzando, sino que se había llegado a la condición de equilibrio termodinámico.

5.5. Optimización del reuso

En la *Sección 4.9 del Capítulo 4*, se presentaron resultados del estudio de la estabilidad de los catalizadores sintetizados. Las muestras fueron utilizadas en tres reacciones consecutivas de 20 h cada una, bajo condiciones de operación C-Cap4 (*Tabla 5.6*). Además, para su acondicionamiento, luego de cada uso los catalizadores eran lavados con hexano y centrifugado para eliminar reactivos y productos remanentes. Posteriormente se secaba en una corriente de nitrógeno.

Una vez determinadas las condiciones C-OpRx, se investigó si el catalizador podría ser reutilizado en ellas. El estudio se realizó en el dispositivo presentado en la *Figura 5.8*, diseñado con el objetivo de permitir la fácil separación del catalizador del medio de reacción, y subsanar los inconvenientes reportados en el capítulo anterior. Tal como puede observarse en la *Figura 5.8 (a)*, el reactor estaba constituido por dos tubos concéntricos. Los reactivos (PPP y C) eran colocados en el tubo externo, mientras que el catalizador era depositado dentro del tubo interno, cuyo fondo estaba constituido por una frita. Una vez que los reactivos fundían, percolaban por la frita e ingresaban al tubo interno donde se contactaban con el catalizador. Sobre el fondo del tubo exterior se

ubicaba un agitador magnético mediante el cual se lograba el mezclado. El sistema podía cerrarse afín de asegurar que la reacción se llevara a cabo en atmósfera de nitrógeno. El sistema de tubos concéntricos era ubicado en un horno de bronce, y el conjunto era colocado sobre una placa agitadora. El sistema se completaba con termocupla y un controlador de temperatura.

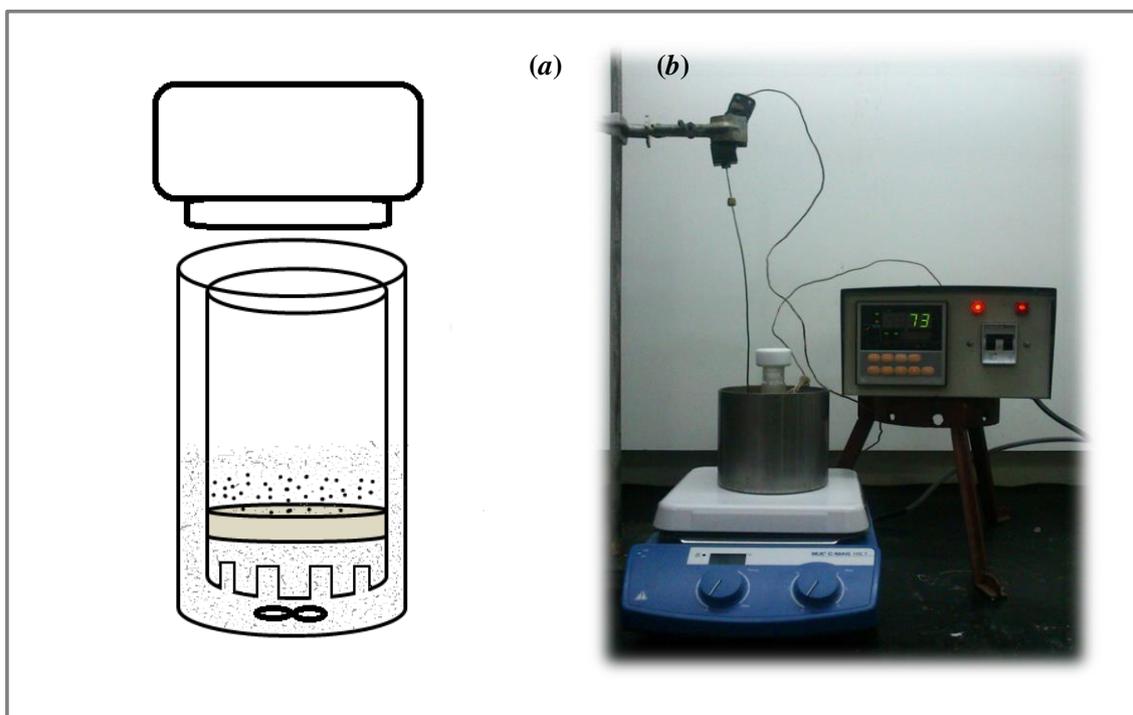


Figura 5.8. Sistema de reacción: **(a)** Reactor de tubos concéntricos, **(b)** Sistema completo de reacción utilizado en los ensayos de reúso.

El tiempo de reacción de cada ensayo fue 4 h. Concluida cada reacción, se separaba el tubo interno del externo. El lavado del catalizador consistía en hacer circular hexano a 60°C por el interior del tubo interno, de manera de arrastrar los reactivos y productos a través de la frita. Para evaporar el solvente remanente en el catalizador, se utilizó una corriente de nitrógeno. Para proseguir con el ensayo de estabilidad, el tubo externo se limpiaba y se cargaba con reactivo fresco. A continuación, ambos tubos eran

llevados a estufa de vacío por 30 minutos y luego a cámara de nitrógeno para concluir con el pretratamiento necesario para comenzar la nueva reacción.

En la *Figura 5.9* se muestran los resultados obtenidos para dichas reacciones, donde se presenta la conversión de PPP normalizada. Se observa que la conversión es notoriamente constante en los ensayos sucesivos.

Se verificó una disminución en la conversión (40%) con respecto a lo presentado en la *Figura 5.7*, debido a que se trabajó en condiciones limitadas de transferencia de masa consecuencia de que la agitación no fue completamente eficiente.

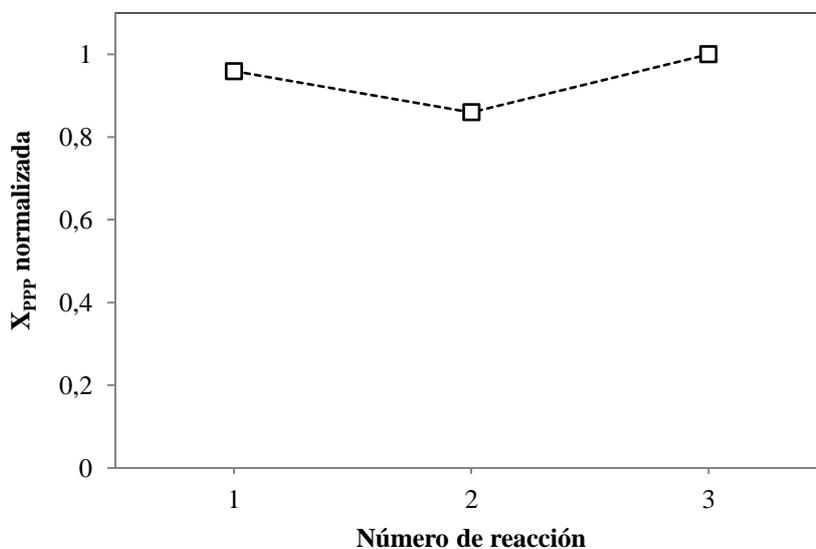


Figura 5.9. Ensayos de reúso implementando sistema de reacción de tubos concéntricos. Pretratamiento del catalizador: lavado con hexano.

Como segunda estrategia de reúso se planteó reutilizar el catalizador sin tratamiento previo, evitando así el uso de solvente para el lavado. En este caso, una vez finalizada la primera reacción, el tubo interno se separó del externo. El tubo externo fue vaciado, lavado y cargado nuevamente con reactivo fresco, mientras que el interno fue limpiado externamente, para retirar el exceso de grasas en las paredes, sin afectar el

catalizador que quedaba retenido sobre la fritta. Luego se repitió el procedimiento antes descrito y se comenzó la siguiente reacción. Nuevamente, el tiempo de reacción fue 4 h. En la *Figura 5.10* pueden apreciarse los resultados obtenidos para un total de 10 usos consecutivos del catalizador.

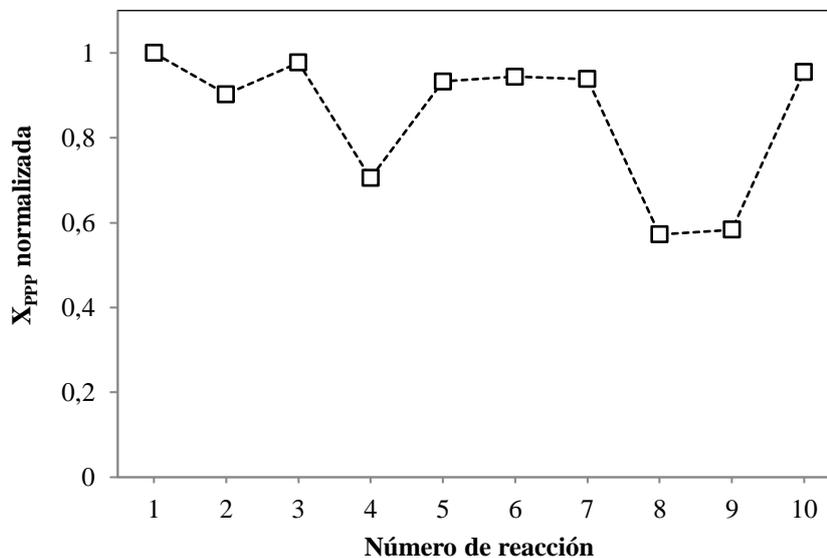


Figura 5.10. Ensayos de reúso implementando sistema de reacción de tubos concéntricos. Catalizador reutilizado sin tratamiento intermedio.

Como se puede observar, el catalizador mantuvo su actividad durante los primeros 3 usos y luego en el quinto, sexto, séptimo y último uso. Es notoria la caída de la actividad en el cuarto, octavo y noveno uso. Dicha disminución en la conversión de PPP pudo atribuirse a que el catalizador quedó muy compacto o “aglomerado” sobre la fritta al final de las reacciones previas. Cuando se consigue la separación del sólido, el catalizador recupera su actividad. Después de 10 usos consecutivos, el catalizador mantuvo el 95,5% de la actividad inicial.

Es interesante comparar y discutir estos resultados con los encontrados en el estudio de estabilidad del capítulo anterior. De ambos estudios se puede determinar:

- La caída de la conversión en las reacciones consecutivas puede relacionarse con la pérdida de catalizador en los sucesivos lavados.

- La reacción es sensible a un mal acondicionamiento del catalizador (por ejemplo, que se encuentre aglomerado), y al ineficiente mezclado, que impida el contacto entre reactivos y catalizador. Se trata de moléculas voluminosas y reactivos y productos viscosos.

- Podría descartarse la hipótesis planteada previamente que relacionaba la caída de la conversión en los sucesivos reusos como consecuencia de la deposición de especies sobre la superficie del catalizador.

- Por último, estos resultados indicarían que la pérdida de azufre en reacción (determinada en el *Capítulo 4*) no es responsable por la pérdida de actividad catalítica.

El catalizador recuperado luego de los 10 reusos fue caracterizado mediante difracción de rayos X. La *Figura 5.11* muestra los difractogramas del catalizador fresco y usado. El análisis permitió comprobar que no se encontraban diferencias en las fases cristalográficas de ambas muestras.

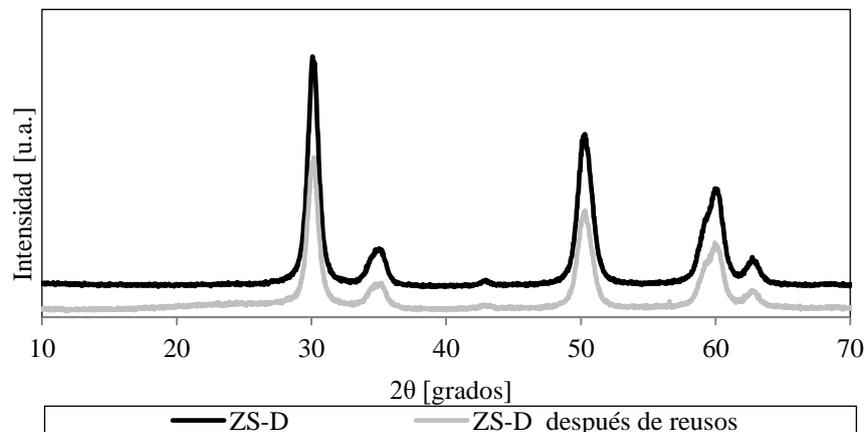


Figura 5.11. Difractogramas de rayos X correspondientes al catalizador ZS-D fresco y utilizado en 10 ensayos consecutivos.

Para el catalizador usado, también se determinó, la cantidad de S presente en la muestra. Se pudo, entonces, conocer que la pérdida de S fue de 13,8% luego de 40 h de usos total. Este valor está en concordancia con el reportado en el *Capítulo 4 Sección 4.9*, donde el catalizador usado experimentó una pérdida de S de 15,6% luego de 60 h de uso.

5.6. Conclusiones

Con el objetivo de evaluar la influencia de los parámetros de reacción (temperatura, relación molar C:PPP y carga de catalizador) sobre las variables de respuesta seleccionadas (conversión de PPP, selectividad a PPC y selectividad a PCC), se planteó un diseño experimental 2^3 , con 2 repeticiones del punto central. Los valores experimentales fueron ajustados mediante regresión múltiple, y se obtuvieron los correspondientes modelos matemáticos. Las condiciones de operación que permitieron maximizar X_{PPP} (39,9%) y S_{PCC} (15,4%) utilizando el catalizador ZS-D fueron: $T=200^{\circ}\text{C}$, $RM=2:1$ y $Cat=5\%$.

Cuando se compararon las distintas condiciones operacionales de reacción analizadas, C-Cap4 y C-OpRx, a distintos tiempos, se encontró que a 4 h la conversión se duplicaba, alcanzándose un valor de 39,9% para C-OpRx y 21,1% con C-Cap4. En ausencia de catalizador, la conversión alcanzada fue 6,6% (C-OpRx).

Uno de los problemas más frecuentes de la catálisis heterogénea es la pérdida de actividad catalítica que tiene lugar conforme se efectúa la reacción. El estudio de estabilidad permitió determinar que el catalizador ZS-D puede ser reusado sin previo acondicionamiento, manteniendo el 95,5% de su actividad inicial luego de 10 ciclos de reacción consecutiva.

En términos generales, el catalizador heterogéneo ZS-D demostró ser eficiente, selectivo, fácil de separar y reutilizable en la reacción estudiada.

5.7. Referencias

- [1] Araujo M.E., Campos P.R., Noso T.M., Alberici R.M., da Silva Cunha I.B., Simas R.C., Eberlin M.N., Carvalho P.O., *Response surface modelling of the production of structured lipids from soybean oil using Rhizomucor miehei lipase*. Food Chemistry 127 (2011) 28-33.
- [2] Bas D., Boyac I. H., *Modeling and optimization I: Usability of response surface methodology*. Journal of Food Engineering 78 (2007) 836-845.
- [3] Osorio N.M., Ferreira-Dias S., Gusmao J.H., da Fonseca M.M.R., *Response surface modelling of the production of ω -3 polyunsaturated fatty acids-enriched fats by a commercial immobilized lipase*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 11 (2001) 677-686.
- [4] Bektas I., Yucel S., Usttun G., Aksoy H., *Production of reduced calories structured lipid by acidolysis of tripalmitin with capric acid: optimization by response surface methodology*. J.Sci. Food Agric 88 (2008) 1927-1931.
- [5] Foresti M.L., Ferreira M.L., *Lipase-Catalyzed Acidolysis of tripalmitin with capric acid in organic solvent medium: Analysis of the effect of experimental conditions through factorial design and analysis of multiple response*. Enzyme and Microbial Technology 46 (2010) 419-429.
- [6] Stahle L., Wold S., *Analysis of variance (ANOVA)*. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems 6 (1989) 259-272.
- [7] Moulijn, J.A., Van Diepen A.E., Kapteijin F., *Catalyst deactivation: is it predictable? What to do?*. Applied Catalysis A: General 212 (2001) 3-16.
- [8] Bharti P., Singh B., Dey R. K., *Process optimization of biodiesel production catalyzed by CaO nanocatalyst using response surface methodology*. Journal of Nanostructure in Chemistry 9 (2019) 269-280.

6. CARACTERIZACIÓN DE LOS TRIGLICÉRIDOS ESTRUCTURADOS SINTETIZADOS

6.1. Introducción

Como se vio en el *Capítulo 1*, los TE reducidos en calorías provocan un gran interés en la sociedad moderna. Esto se debe a que los consumidores han demostrado una mayor toma de conciencia sobre los riesgos asociados con la ingesta excesiva de grasas en la dieta.

Como se mencionó, los TE de bajo contenido calórico se obtienen mediante la combinación de ácidos grasos de cadena corta (SCFA) o ácidos grasos de cadena media (MCFA), y ácidos grasos saturados de cadena larga (LCFA) en misma molécula [1]. Estos están diseñados tomando como ventaja la absorción limitada de los LCFA saturados y el bajo valor calórico de los SCFA y MCFA.

La mayoría de las grasas reducidas en calorías que se encuentran disponibles en la actualidad, contienen ácidos grasos que no están presentes en forma natural en los aceites y grasas comestibles, sin embargo, éstos pueden coincidir con la química y las funciones de las grasas naturales.

Hasta el momento, en el desarrollo de este trabajo experimental se ha reportado la síntesis de TE reducidos en calorías por la combinación de un triglicérido con LCFA como la tripalmitina y un MCFA como el ácido cáprico. En este capítulo se planteó como objetivo obtener, también mediante la reacción de acidólisis, otro tipo de TE reducido en calorías. En este caso se decidió mantener el mismo triglicérido y variar el ácido graso, considerando que se deseaba trabajar con un SCFA. Como se mencionó en el *Capítulo 1*, se considera la clasificación adoptada por expertos de la FAO [2] en la cual se considera que los ácidos grasos de cadena corta son los que presentan de 3 a 7 átomos de carbono. El ácido graso elegido fue el ácido hexanoico o caproico, que tiene una cadena saturada

de 6 carbonos, y en este capítulo se utilizará el símbolo \mathcal{C} para referenciarlo. Se sintetizarán los TE $PP\mathcal{C}$ y $P\mathcal{C}\mathcal{C}$ (y sus estereoisómeros).

Este capítulo tiene como objetivo obtener un nuevo tipo de TE reducido en calorías, por acidólisis y empleando las condiciones de operación óptimas obtenidas en el capítulo anterior. También se buscará separar los triglicéridos de ambas reacciones ($PPP + PPC + PCC$ y $PPP + PP\mathcal{C} + P\mathcal{C}\mathcal{C}$), con la finalidad de realizar sobre ellos una serie de determinaciones físicas de manera de caracterizar las distintas mezclas y hacer una comparación entre ellas.

6.2. Acidólisis de tripalmitina con ácido caproico

En la reacción de PPP con \mathcal{C} se empleó como catalizador ZS-D, el mismo que se utilizó en el *Capítulo 5* para encontrar las condiciones óptimas de trabajo. El sistema de reacción utilizado y la forma de operación fueron las que se describieron en la *Sección 2.3.2*. Las condiciones utilizadas en reacción fueron las óptimas encontradas en el diseño de experimentos del capítulo anterior (*Tabla 5.6*).

El tiempo de reacción varió entre 4 y 72 horas. La masa de PPP empleada fue 250 mg, mientras que el volumen de \mathcal{C} utilizado fue 78 μl (densidad de $\mathcal{C}=0,927\text{g}/\text{cm}^3$ a 25°C). Las reacciones en todos los casos, se realizaron por duplicado.

La *Figura 6.1* presenta la variación en el tiempo de la X_{PPP} y de las selectividades a ambos TE ($S_{PP\mathcal{C}}$ y $S_{P\mathcal{C}\mathcal{C}}$). Puede observarse que la conversión de PPP aumenta rápidamente en las primeras 4 h, alcanzando un valor de 56,5%, y luego lo hace más lento, hasta llegar a un valor de 76,5% después de 72 h de reacción. Las selectividades a $PP\mathcal{C}$ y $P\mathcal{C}\mathcal{C}$ siguen el perfil típico de las reacciones en serie: se forma $PP\mathcal{C}$ hasta alcanzar una

concentración máxima, y luego esta concentración comienza a bajar para dar lugar a la formación de PCC. No se detectó la formación del triglicérido tricaproina (CCC).

Los valores finales de conversión de PPP y selectividades reportadas en la *Figura 6.1*, son muy similares a los encontrados para la reacción de PPP con C en las mismas condiciones de reacción.

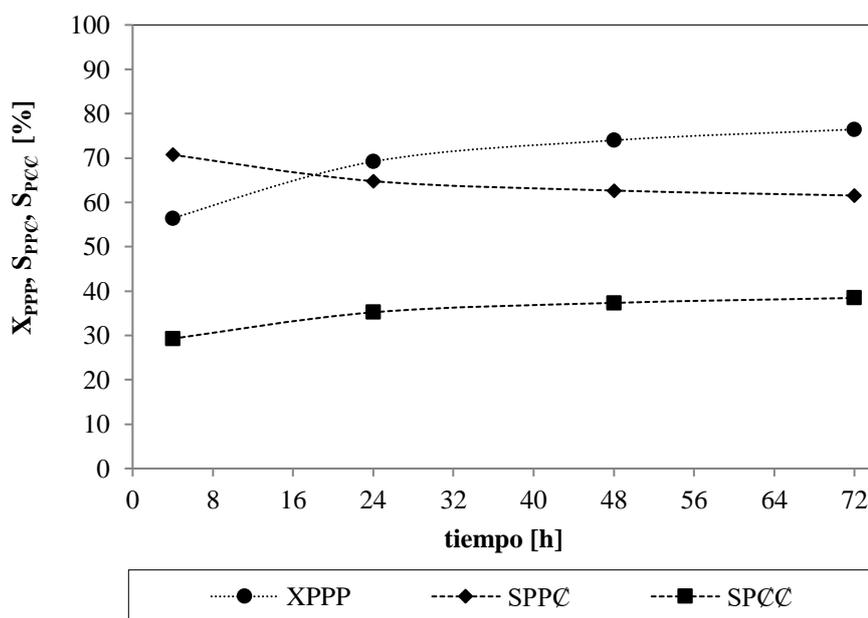


Figura 6.1. Conversión de PPP y selectividades a PPC y PCC en la reacción de acidólisis catalizada por ZS-D (condiciones de operación: C-OpRx (Tabla 5.6)).

6.3. Purificación de los triglicéridos estructurados

Como se comentó, uno de los objetivos de este capítulo fue obtener la mezcla de los productos de reacción deseados, lo más pura posible para aplicar sobre ella distintas técnicas de caracterización. Las reacciones de acidólisis de PPP con ácido cáprico y caproico se llevaron a cabo en viales de mayor tamaño (10 ml de capacidad), a fin de obtener la cantidad de productos necesaria para llevar a cabo su caracterización. Las condiciones operacionales aplicadas fueron C-OpRx (Tabla 5.6) y el tiempo de reacción

fue 72 h a fin de obtener una mayor conversión de PPP. En el *Anexo C* se reportan las masas iniciales de los reactivos y catalizador empleadas en las distintas reacciones, además de las masas de productos y PPP sin reaccionar, obtenidas después de realizar la separación.

Después de transcurrida la reacción se separó, en una primera instancia, el catalizador, y luego se separaron los ácidos grasos libres de los triglicéridos. Se obtuvo así una mezcla que contenía los TE sintetizados y la PPP que no reaccionó. A continuación, se describe en forma detallada la metodología de trabajo que se siguió.

Con el objetivo de separar el catalizador de las grasas (TE, PPP y ácidos grasos libres) se hicieron 3 lavados sucesivos, con 10 ml de n-heptano cada uno. El vial con la mezcla (catalizador-grasas-heptano) fue calentado en un baño con agua a temperatura de ebullición para facilitar que las grasas fueran satisfactoriamente disueltas en el heptano. Para mejorar la separación, el vial fue llevado a centrífuga a una velocidad de 8000 rpm por espacio de 10 minutos. De esta manera la fase líquida formada por las grasas disueltas en el heptano quedó separada del catalizador. El sobrenadante fue transvasado a un tubo limpio, quedando el catalizador con algo de grasa y heptano. Sobre esta mezcla se realizaron dos lavados más. De esta manera se logró separar la totalidad de catalizador, quedando las grasas en el heptano.

En un siguiente paso se neutralizaron los ácidos grasos remanentes. Los ácidos grasos libres que contenían las mezclas (P, C o \mathcal{C} , según la reacción), fueron neutralizados empleando una técnica similar a la descrita por Hita y col. [3]. A la mezcla final obtenida luego de separar el catalizador, se le adicionó n-heptano hasta alcanzar los 25 ml y luego se agregaron 25 ml de una solución 0,25 M de KOH. El vial fue sometido a intensa agitación manual por unos minutos y luego se lo centrifugó a 8000 rpm durante 20

minutos. Luego de retirar el vial de la centrifuga se pudieron observar 2 fases diferentes, tal como lo muestra la *Figura 6.2*. En la fase superior (Fase 1 en la imagen) se encontraban los triglicéridos junto al heptano, mientras que la parte inferior (Fase 2) correspondía a la fase acuosa. En la interfase se ubicaron los carboxilatos de potasio formados, debido a la reacción de neutralización. Se puede notar en la figura la gran variación de color entre las Fases 1 y 2.

La Fase 1, conteniendo la mezcla de PPP, TE (PPC + PCC o PPC + PCC) y heptano, fue recuperada y llevada a un nuevo tubo. Sobre ella se hizo circular una corriente de nitrógeno con la finalidad de evaporar el solvente y obtener la mezcla pura en los triglicéridos. En el *Anexo C* se muestran los cromatogramas correspondientes a las mezclas de reacción antes y después de realizar la separación de los ácidos grasos libres. Allí se puede notar que, luego de realizada la neutralización, no quedaron ácidos grasos libres remanentes en la mezcla de triglicéridos.

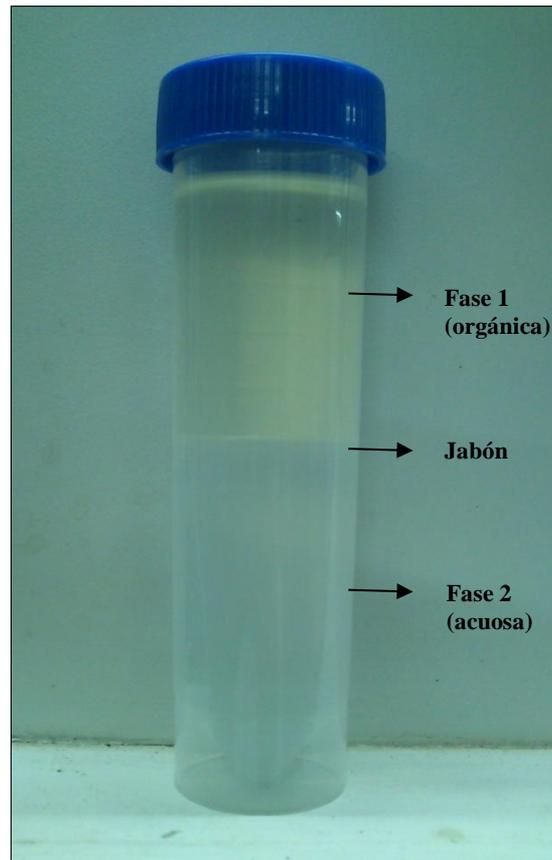


Figura 6.2. Fotografía que muestra la separación de las dos fases obtenidas en el proceso de neutralización de los ácidos grasos.

6.4. Determinación de las propiedades físicas de los triglicéridos

La modificación de grasas y aceites tiene por finalidad alcanzar cierta funcionalidad, por ejemplo, obtener un punto de fusión específico, o un particular contenido de grasa sólida. Es importante conocer las características térmicas, reológicas, de textura, y apariencia de un nuevo TE para utilizar en una determinada aplicación [4].

Las propiedades físicas de las grasas se deben en gran medida a su estructura cristalina. En la mayoría de los productos alimenticios grasos como chocolate, manteca, crema y margarinas, la cristalización de las grasas es un punto muy importante. La

comprensión del proceso de cristalización desempeña un papel importante en la determinación de la calidad general de los productos [5].

En este capítulo, el estudio de las propiedades se ha enfocado en los procesos de cristalización y fusión, en el polimorfismo y la proporción de grasa sólida que se presenta a diferentes temperaturas, tanto en triglicéridos puros como en las mezclas de TE sintetizados.

Se caracterizaron 4 muestras de triglicéridos: las Muestras 1 y 2 corresponden a los triglicéridos puros CCC y PPP, mientras que las Muestras 3 y 4 corresponden a las mezclas de PPP y TE sintetizados. Todas las muestras se presentan en estado sólido a temperatura ambiente. El triglicérido CCC se encuentra en estado líquido a 20°C, razón por la cual no fue caracterizado. En la *Tabla 6.1* se muestran los componentes y las proporciones que presentan las distintas muestras a analizar. Las composiciones de las Muestras 3 y 4 resultaron ser muy similares.

Tabla 6.1. Composiciones correspondientes a las muestras de triglicéridos a ser caracterizadas.

Muestra	Componentes (fracción másica)					
	CCC	PPP	PPC	PCC	PPC	PCC
1	1	-	-	-	-	-
2	-	1	-	-	-	-
3	-	0,254	0,492	0,254	-	-
4	-	0,276	-	-	0,470	0,254

6.4.1. Caracterización de la estructura cristalina de los triglicéridos por DRX

6.4.1.1. Introducción

El polimorfismo se define como la existencia de varias formas cristalinas, con la misma composición química pero diferente estructura, que al fundirlas dan fases líquidas idénticas. El polimorfismo permite la existencia de múltiples puntos de fusión. Cada forma polimórfica se caracteriza por poseer propiedades específicas, como distancia reticular, volumen específico y punto de fusión, que hacen que se puedan distinguir. Existen varios factores que determinan que forma polimórfica adopta un compuesto a la hora de cristalizar, como son la pureza, la temperatura, la velocidad de enfriamiento o la presencia de núcleos cristalinos, entre otros.

Para triglicéridos se considera que pueden adoptar tres formas polimórficas principales: α , β' y β . Este es un tema aún en debate, y la existencia de múltiples subformas también ha sido considerada por varios autores [6,7]. Las formas polimórficas están asociadas con diferentes tipos de empaquetamiento de las cadenas de ácidos grasos y diferentes ángulos de inclinación.

* La forma α tiene un empaquetamiento hexagonal, resulta ser la menos estable y posee el punto de fusión más bajo. En general, se forma a bajas temperaturas y altas velocidades de enfriamiento. En esta forma, las cadenas de ácidos grasos son perpendiculares al plano del grupo metilo terminal, y oscilan con un alto grado de libertad molecular. Esta forma tiene una duración muy corta (de 10 segundos a 2 horas) pero en grasas completamente hidrogenadas puede mantenerse por años a temperatura ambiente [8].

* La forma polimórfica β' presenta una estabilidad intermedia y se asocia con un empaquetamiento ortorrómbico. En este caso las cadenas de ácidos grasos se encuentran

inclinadas respecto al plano del grupo metilo terminal y las cadenas en zigzag adyacentes están en diferentes planos.

* La forma β es la forma más estable de todas, tiene el punto de fusión más alto y presenta simetría triclinica. A diferencia del arreglo ortorrómbico, todas las cadenas de ácidos grasos en zigzag están en el mismo plano [5].

En la *Figura 6.3* se muestra el empaquetamiento que presentan las distintas formas polimórficas, mientras que en la *Figura 6.4* se observa el ordenamiento de las cadenas en el espacio, cuando los tres ácidos grasos son idénticos.

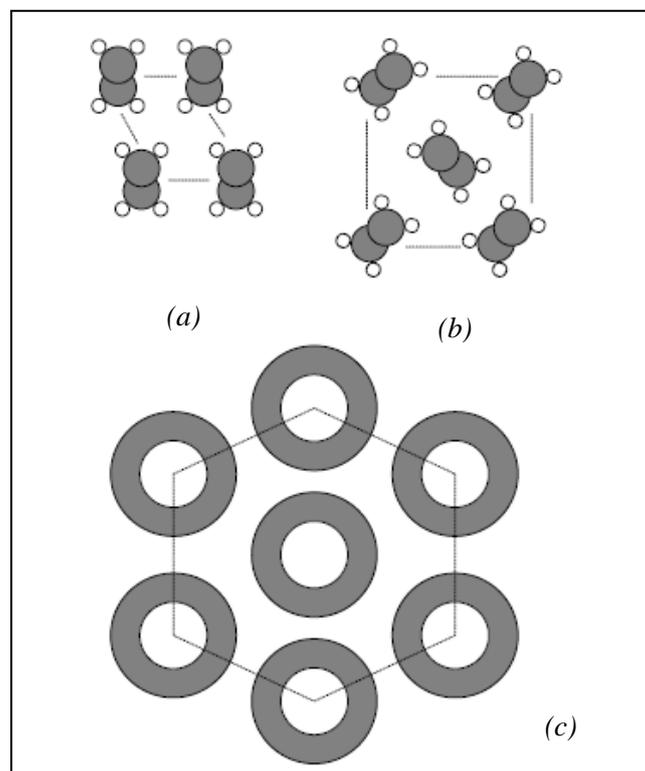


Figura 6.3. Empaquetamiento característico en las formas polimórficas β , β' y α , (a) triclinico (b) ortorrómbico y (c) hexagonal. Fuente: Wright y col. [9].

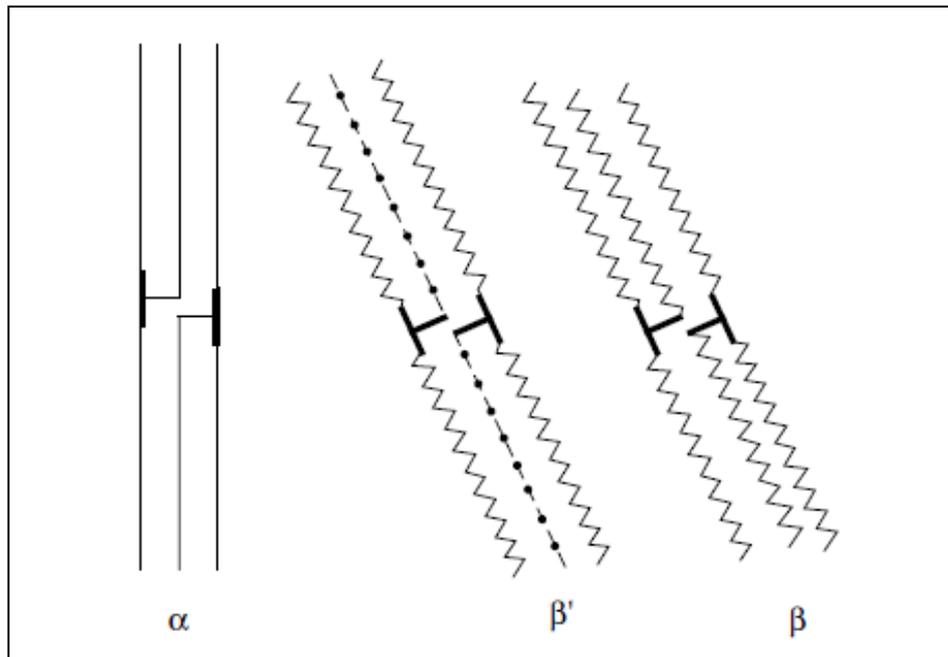


Figura 6.4. Diagrama comparativo del ordenamiento de las cadenas en el espacio para las distintas formas polimórficas, cuando los AG del triglicérido son iguales. Fuente: Timms [6].

Algo interesante a considerar tiene que ver con cómo se genera el acomodamiento de las moléculas en el espacio para lograr tener una configuración altamente ordenada. Las moléculas de triglicéridos tienen forma de diapasón modificado o estructura de silla, y tienden a empaquetarse en una de dos configuraciones posibles que se muestran en la *Figura 6.5*, en estructuras de dobles o triples longitudes de cadena.

Las formas β' y β pueden existir ya sea como estructuras dobles o triples, mientras que la forma α normalmente sólo puede existir en una estructura de doble longitud de la cadena. Esta última normalmente se produce cuando la naturaleza química de los tres ácidos grasos es la misma o muy similar, por ejemplo, para la CCC [10]. Por el contrario, si los ácidos grasos son muy diferentes entre sí, por ejemplo, si se tiene un triglicérido con ácidos grasos saturados e insaturados, se forma una estructura de triple longitud de cadena [11,12].

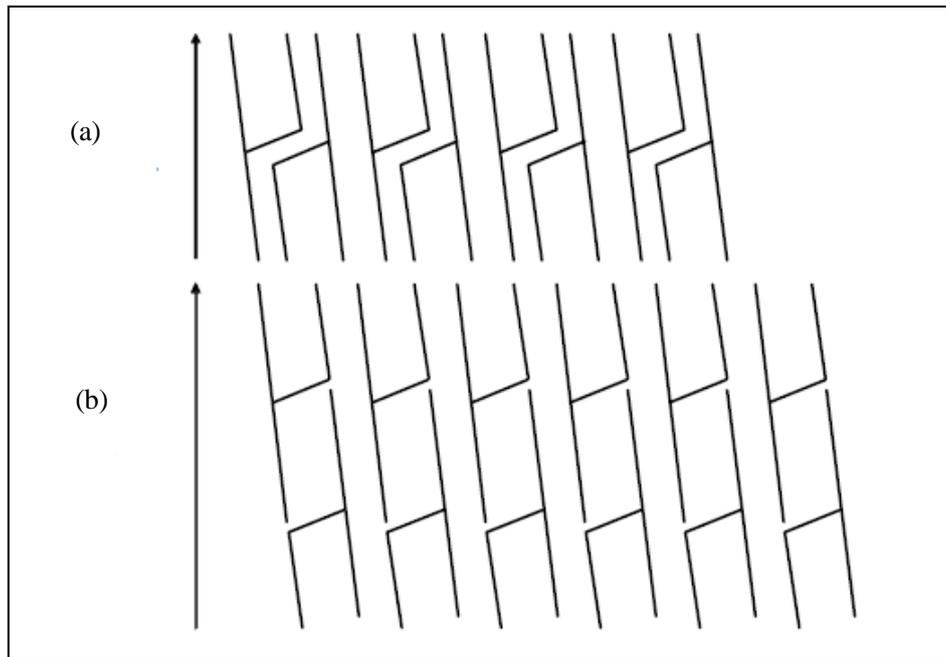


Figura 6.5. Esquema del empaquetamiento en capas en triglicéridos. (a) doble, (b) triple. Fuente: Wright y col [9].

Los lípidos pueden presentar polimorfismo enantiotrópico o monotrópico [11,13]. Un polimorfismo es enantiotrópico cuando una fase polimórfica es termodinámicamente la más estable en un rango particular de temperatura. Cambiando la temperatura se favorece la transformación a otra fase polimórfica, la cual será la más estable bajo las nuevas condiciones. Por su parte, en un polimorfismo monotrópico, una determinada fase polimórfica es siempre la más estable. La transformación puede ocurrir en la dirección de la forma más estable solamente. Además, esta transformación es posible con o sin fusión del sólido [14], solo brindándole suficiente tiempo. En el polimorfismo enantiotrópico, cualquier forma puede ser la estable y la transformación puede ir en cualquier dirección dependiendo de ciertas condiciones.

Las grasas naturales son invariablemente monotrópicas. Como se ha dicho, en este tipo de polimorfismo, la transformación de una forma en otra es solamente posible en la dirección de la forma más estable (de α a β' , y de β' a β) y es irreversible. La *Figura 6.6*

muestra claramente esta situación, ya que resume lo que ocurre en la cristalización y recristalización de las grasas comestibles.

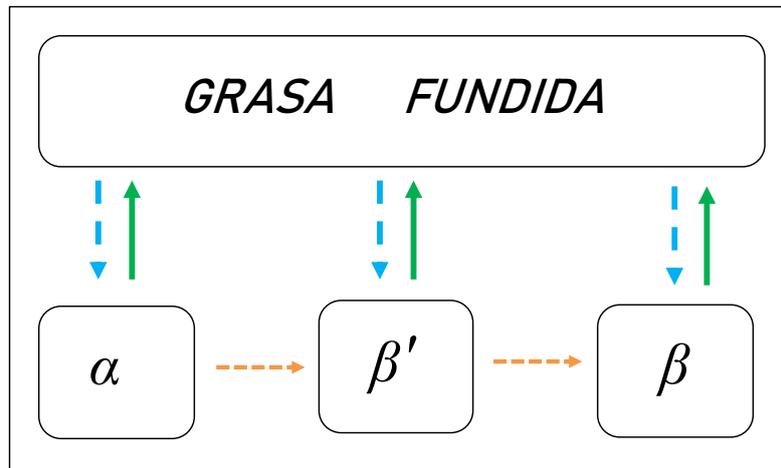


Figura 6.6. Transformaciones polimórficas producidas en grasas.
Referencias: Flechas celestes: cristalización, Flechas verdes: fusión,
Flechas rojas: transformación.

Por encima de la temperatura de fusión de la grasa, no hay un ordenamiento de sus moléculas y la misma se encuentra en estado líquido. Cuando un triglicérido monoácido fundido es rápidamente enfriado, la forma α es la primera en obtenerse. Esta es la forma menos densa y tiene el punto de fusión más bajo, la misma suele ser normalmente inestable a temperatura ambiente y se convierte dando la forma β' , ya que las cadenas se van empaquetando más estrechamente y se produce la transición gradual a esa forma. La forma β' también puede obtenerse directamente enfriando la grasa fundida, manteniendo la temperatura unos grados por encima del punto de fusión de la forma α . La forma β' puede transformarse a la más estable β dándole el tiempo suficiente. Esta fase también puede ser alcanzada a partir de la cristalización de grasa fundida bajo condiciones apropiadas.

En general no siempre la forma α es la menos estable, algunos triglicéridos manifiestan las formas β' y β como inestables. En otros casos, solo es estable la forma β'

y no la β , o al revés, la β' es inestable y la β es la estable [5,6]. Por ejemplo, en la grasa de la leche, la forma β' se considera la forma más estable, ya que incluso después de un almacenamiento prolongado, la mayoría de los cristales en la grasa permanece en esa forma [15]. Notoriamente, también en la grasa de la leche, la forma α que es metaestable, puede mantenerse por un largo período de tiempo a bajas temperaturas [16].

El comportamiento polimórfico de una grasa está fuertemente influenciado por la composición y por la distribución posicional de los ácidos grasos en el esqueleto de glicerol [5,13]. En general, las grasas formadas por un número relativamente bajo de triglicéridos estrechamente relacionados, evolucionan rápidamente hacia formas β estables, e inversamente, las grasas heterogéneas tienden a transformarse más lentamente en formas estables. Para triglicéridos puros con ácidos grasos saturados o insaturados, la forma β' está usualmente relacionada con los triglicéridos asimétricos, o sea, cuando tienen las posiciones 1, 2 o 2, 3 ocupadas por dos ácidos grasos saturados o insaturados y la tercera posición ocupada por un ácido graso insaturado o saturado, respectivamente. La forma β se observa en triglicéridos simétricos, o sea, en aquellos que tienen las 3 posiciones ocupadas por ácidos grasos similares o las posiciones 1, 3 ocupadas por dos ácidos grasos saturados o insaturados y un ácido insaturado o saturado en la posición 2 [5,17,18]. Los requerimientos de empaquetamiento para la forma β' son menos estrictos que para la forma β de modo que las mezclas de triglicéridos con varios tipos de ácidos grasos tienden a presentarse en formas β' [6].

La forma polimórfica que una grasa presenta, influye en distintas propiedades físicas como, por ejemplo, la consistencia y el punto de fusión. Además, se sabe que el tamaño y la forma de los cristales de una grasa están estrechamente asociados con su estado polimórfico. La importancia práctica del polimorfismo en las grasas industriales se relaciona con las grandes diferencias en textura y propiedades funcionales que se

producen cuando una grasa cambia de una forma a otra [17]. Por ello, son necesarias diferentes formas polimórficas en distintas aplicaciones alimentarias. Por ejemplo, el polimorfismo en su forma β debe evitarse en margarinas, dado que genera gránulos en el producto final. Sin embargo, esta misma forma cristalina es la más deseada en la producción de chocolates. Los cristales β' , que están asociados con el ablandamiento y bajos puntos de fusión en chocolates, son los deseados en la producción de shortenings, margarinas y productos de panadería [4]. En la preparación de estos productos los cristales β' son deseados ya que ayudan a la incorporación de gran cantidad de aire en forma de pequeñas burbujas, dando lugar a productos con mayor plasticidad y cremosidad [13]. La forma β' en shortenings y margarinas se caracteriza por tener pequeños cristales, del orden de 3 a 5 μm , lo cual resulta en una textura cremosa y suave. Cuando dichos productos se someten a ciertas fluctuaciones de temperatura durante el almacenamiento, los cristales pueden cambiar parcial o totalmente a la forma β , generándose consecuencias no deseadas en el producto. Los cristales de la forma β tienden a ser grandes, a menudo de más de 50 μm , con lo cual el producto resulta granuloso, frágil y antiestético [17].

Tanto la microscopía de luz polarizada, como la espectroscopía infrarroja o el análisis térmico han sido utilizados en el estudio del polimorfismo, pero estos métodos no permiten la identificación inequívoca de las formas polimórficas. El método más ampliamente aceptado para la identificación de las formas cristalinas es la difracción de rayos X [5,6,19]. Al analizar los cristales de grasa por esta técnica, se pueden reconocer dos tipos de espaciamentos: cortos y largos. Los espaciamentos largos son observados en el rango 2θ de 1 a 15°, mientras que los espaciamentos cortos se encuentran en el rango de 16 a 25°. Los espaciamentos largos corresponden a los planos formados por los grupos metilos terminales de los triglicéridos y son dependientes de la longitud de la cadena y del ángulo de inclinación del ácido graso que lo compone. Los espaciamentos

cortos están relacionados con la sección transversal de las cadenas empaquetadas y son independientes de la longitud de la cadena. Estos espaciamentos cortos son comúnmente utilizados para caracterizar las formas polimórficas de las grasas [17].

En la *Tabla 6.2* se muestran los espaciamentos cortos que se utilizaron en esta tesis para identificar las correspondientes fases polimórficas. Es importante destacar que dependiendo del autor que se cite [17,18,20,21,22] los valores presentan ciertas variaciones, en este trabajo se emplearon como referencia los valores propuestos por Kellens y col. [22]. En general, la forma α es fácilmente identificable ya que exhibe una única línea fuerte de difracción, mientras que la forma β' se caracteriza por dos líneas fuertes. En el caso de la forma β , puede dar una línea fuerte y otras dos de menor intensidad.

Tabla 6.2. Formas polimórficas y valores de d para los espaciamentos cortos.

Forma Polimórfica	d [Å]
α	4,15
β'	4,20
	3,80
β	4,60
	3,85
	3,70

Muchos trabajos de investigación [19,23,24] se han focalizado en estudiar las diferencias entre los patrones de difracción obtenidos cuando se cristalizan las grasas con distintas velocidades de enfriamiento. Woodrow [19] y de Man [24] coincidieron que, al

realizar un enfriamiento lento, las formas cristalinas que se evidenciaban en la grasa de la leche eran las formas β' y β . Sin embargo, las formas obtenidas luego de un enfriamiento rápido eran otras. Esto se debió a que en ambos casos se utilizaron distintas velocidades de enfriamiento y distintas temperaturas finales. En un caso, el tratamiento consistió en enfriar la muestra lo más rápido posible de 40 a 0°C, mientras que en el otro la muestra se mantuvo a temperatura de -20°C durante toda la noche. Ten Grotenhuis y col. [23] también determinaron el número y la ocurrencia de las formas polimórficas en la grasa de la leche después de diferentes tratamientos.

6.4.1.2. Resultados y discusión.

Para determinar la estructura cristalina en las distintas muestras de triglicéridos se empleó la técnica de difracción de rayos X ya que, como se mencionó, además ser una técnica simple, rápida y no destructiva, es el único método que permiten la identificación inequívoca de las formas polimórficas.

Como se indicó en la *Sección 2.3.5.2.1*, la cristalización de las grasas se llevó a cabo utilizando tres velocidades de enfriamiento distintas:

Caso A: el tratamiento más lento (*Enfriamiento Suave*) implicó que la cristalización de las grasas se produjera a temperatura ambiente a una velocidad aproximada de 4°C/min.

Caso B: el *Enfriamiento Intermedio*, a una velocidad media de 8°C/min, se logró llevando las muestras a heladera.

Caso C: el *Enfriamiento Rápido* consistió en llevar la muestra al freezer, con una velocidad de enfriamiento aproximada de 12°C/min.

Caso D: contempla las muestras de los triglicéridos comerciales puros, sin tratamiento alguno.

Las intensidades de las líneas de difracción en los difractogramas se obtuvieron en un intervalo de $1,7$ a 60° de 2θ , pero debido a que la mayoría de las señales fueron registradas entre los 10 y los 30° solo se mostraran los picos característicos obtenidos en esta región, dentro de los que se incluyen los picos obtenidos en los espaciados cortos (16 a 25°) utilizados para caracterizar las formas polimórficas de las grasas.

Gran parte del conocimiento sobre el polimorfismo de los triglicéridos se ha obtenido a partir del estudio de triglicéridos simples. Las mezclas complejas de triglicéridos presentan a menudo mayores dificultades en términos de análisis e interpretación. Por lo tanto, se comenzará presentando los difractogramas obtenidos para las muestras puras CCC y PPP. Los patrones de difracción obtenidos para ambos triglicéridos expuestos a las distintas velocidades de enfriamiento se muestran en las *Figuras 6.7* y *6.8*. Además, se presentan en las *Figuras 6.7* y *6.9*, los difractogramas obtenidos para las muestras sin tratamiento (Caso D).

Con respecto a CCC (*Figuras 6.7*), este triglicérido solo cristalizó cuando el enfriamiento se produjo a $12^\circ\text{C}/\text{min}$, no así cuando fue enfriado a temperatura ambiente o en heladera. Si se comparan los difractogramas correspondientes a los Casos C y D se puede apreciar que sus picos coinciden en forma, aunque no en intensidad.

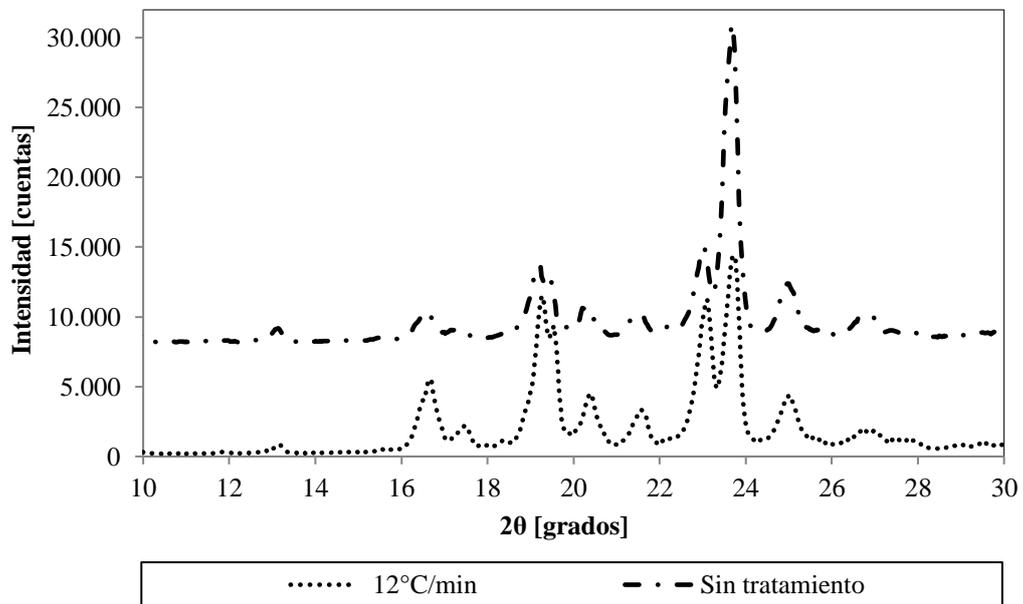


Figura 6.7. Difractograma de rayos X obtenidos para CCC sin tratamiento (Caso D) y cuando fue enfriada a 12°C/min (Caso C).

La *Figura 6.8* presenta los difractogramas para PPP para los Casos A, B y C; se observa en ellos un único pico en 21,5° de 2θ. A su vez, la *Figura 6.9* muestra el difractograma de PPP correspondiente al Caso D, donde se observan cuatro señales, una de ellas (en 2θ 19,3°) de mayor intensidad que la presentada en la *Figura 6.8*.

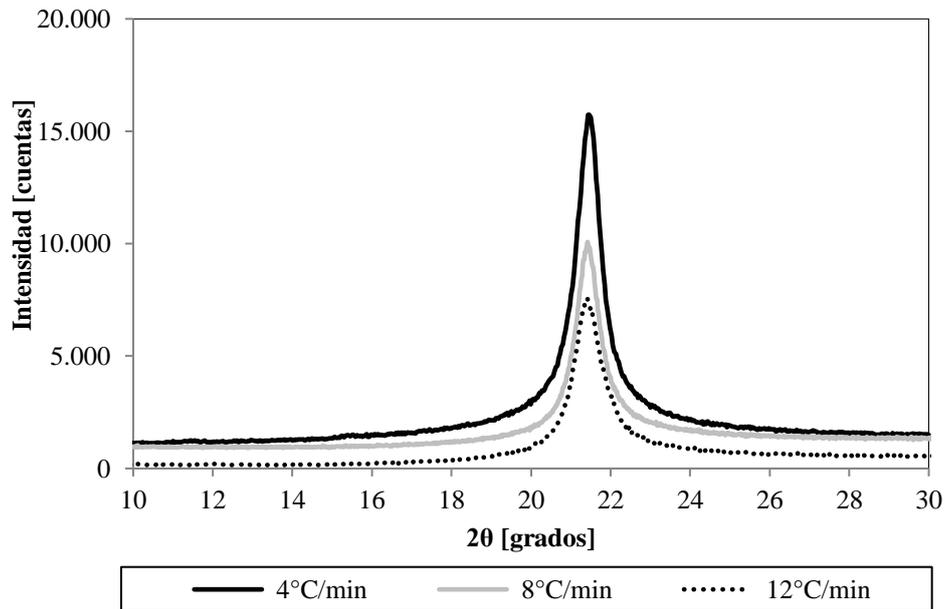


Figura 6.8. Difractograma de rayos X para PPP a distintas velocidades de enfriamiento.

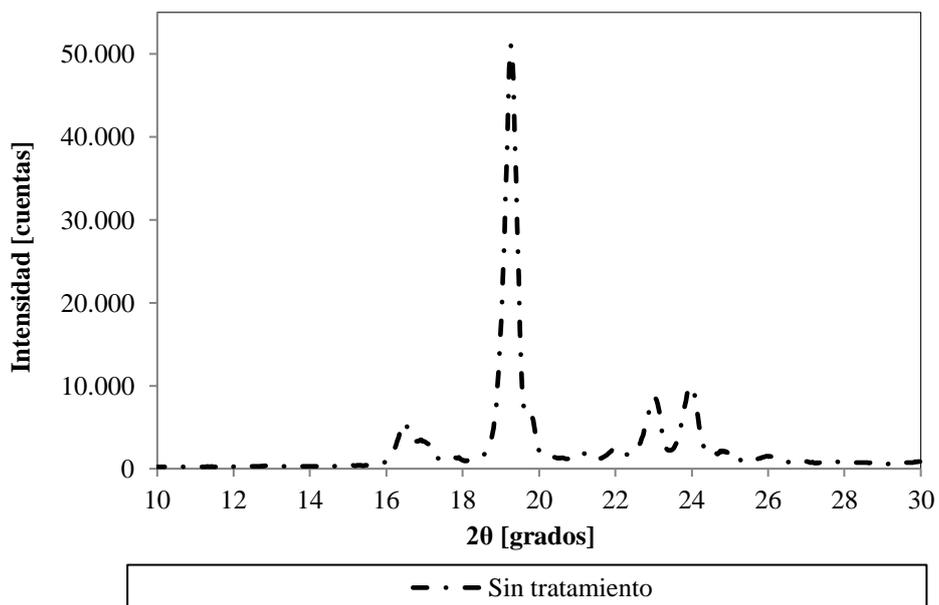


Figura 6.9. Difractograma de rayos X para PPP sin tratamiento (Caso D).

En las *Figuras 6.10 y 6.11* se muestran los difractogramas de las Muestras 3 y 4, respectivamente. Como se observa las señales se ubicaron entre los 19 y 24°. Se puede

notar que no existe parecido entre los patrones obtenidos para los triglicéridos puros (Muestras 1 y 2) y las mezclas (Muestras 3 y 4).

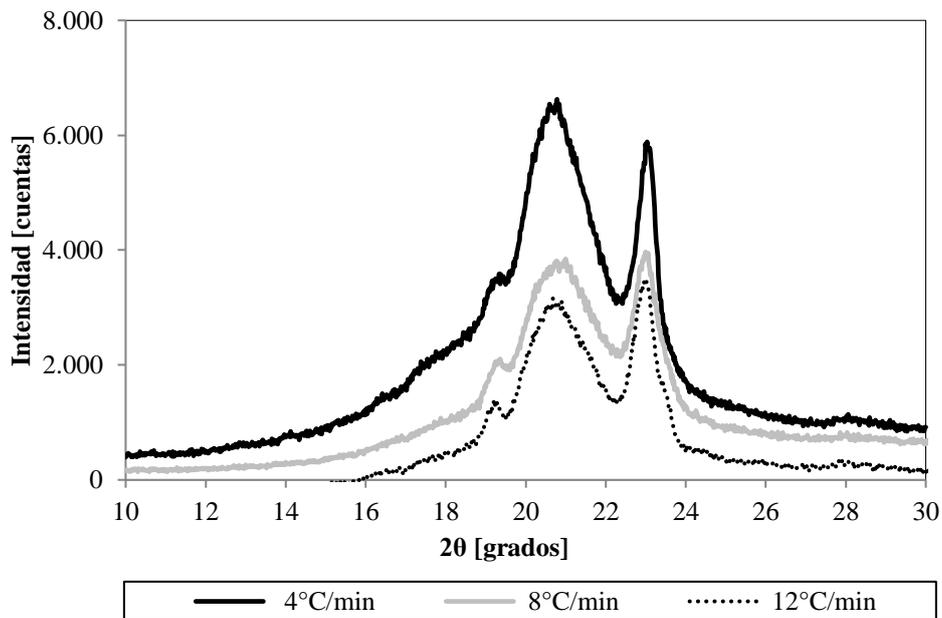


Figura 6.10. Diffractograma de rayos X para la Muestra 3 a distintas velocidades de enfriamiento.

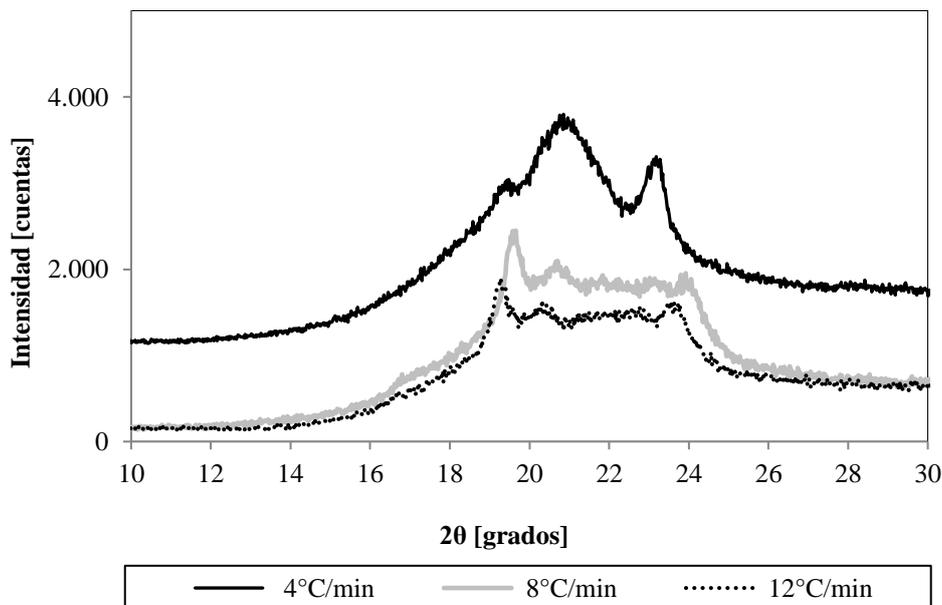


Figura 6.11. Diffractograma de rayos X para la Muestra 4 a distintas velocidades de enfriamiento.

En las *Tablas 6.3, 6.4, 6.5, y 6.6* y se muestran los resultados del análisis realizado por DRX para las muestras estudiadas. En ellas se presentan los valores correspondientes a los ángulos de las líneas de difracción y las intensidades de las mismas, así como también los valores de d calculados mediante la Ley de Bragg (según lo detallado en el *Capítulo 2, Ecuación 2.10*) y la correspondiente forma polimórfica.

Tabla 6.3. Análisis de los difractogramas de rayos X para la Muestra 1 (tricaprina).

Caso	Velocidad de enfriamiento [°C/min]	Intensidad de la señal	2 θ [grados]	d [Å]	Forma polimórfica
A	4	-	-	-	-
B	8	-	-	-	-
C	12	F	19,285	4,60	β
		F	23,100	3,85	
		F	23,805	3,74	
D	-	F	19,190	4,62	β
		F	23,060	3,85	
		MF	23,735	3,75	

MF: muy fuerte, F: fuerte

Tabla 6.4. Análisis de los difractogramas de rayos X para la Muestra 2 (tripalmitina).

Caso	Velocidad de enfriamiento [°C/min]	Intensidad de la señal	2 θ [grados]	d [Å]	Forma polimórfica
A	4	F	21,465	4,14	α
B	8	F	21,420	4,15	α
C	12	F	21,400	4,15	α
D	-	MF	19,290	4,60	β
		F	23,120	3,85	
		F	24,055	3,70	

MF: muy fuerte, F: fuerte

Tabla 6.5. Análisis de los difractogramas de rayos X para la Muestra 3.

Caso	Velocidad de enfriamiento [°C/min]	Intensidad de la señal	2θ [grados]	d [Å]	Forma polimórfica
A	4	D	20,800	4,27	β'
		D	23,130	3,84	
B	8	D	20,855	4,26	β'
		D	23,050	3,86	
C	12	D	20,840	4,26	β'
		D	23,260	3,82	

D: débil

Tabla 6.6. Análisis de los difractogramas de rayos X para la Muestra 4.

Caso	Velocidad de enfriamiento [°C/min]	Intensidad de la señal	2θ [grados]	d [Å]	Forma polimórfica
A	4	D	20,740	4,28	β'
		D	23,285	3,82	
B	8	D	18,935	4,68	-
		MD	19,935	4,45	
		MD	23,345	3,81	
C	12	D	19,175	4,63	-
		MD	20,37	4,36	
		MD	23,645	3,76	

MD: muy débil, D: débil

Los difractogramas de la *Figura 6.7* correspondientes a la muestra CCC indican que este triglicérido cristalizó en la forma β para los Casos C y D (*Tabla 6.3*). Ambos difractogramas coinciden en forma, pero no en intensidad. Esta disparidad puede

atribuirse a diferencias en la estabilidad de la fase, tal como fue reportado por Kellens [22].

Muchos trabajos han sido presentados acerca del polimorfismo, la cristalización y las transiciones de fase para PPP [22,25,26], no ocurriendo lo mismo para CCC. A pesar de ser un triglicérido simple simétrico, sus formas polimórficas no han sido muy investigadas, a excepción de la fase β [10,27].

Para la muestra PPP, se encontró que independientemente de la velocidad de enfriamiento empleada para lograr la cristalización, en los Casos A, B y C, se obtuvo únicamente la forma α , ya que en los tres casos se presentó en los difractogramas el pico característico de dicha fase en $\sim 21,4^\circ$ para $d = 4,15 \text{ \AA}$ (*Figura 6.8*). Para PPP se ha reportado que la fase β' no puede generarse bajo ninguna circunstancia a partir de la fase α , debido a que cinéticamente es mucho más rápida la cristalización en la forma β [22,25]. La fase β' , en PPP, sólo puede ser obtenida correctamente cristalizando la grasa fundida a 47°C , y luego manteniéndola dentro de un rango de temperatura de 44 a 52°C [22].

Para el Caso D de la muestra PPP (*Figura 6.9*), se pueden observar tres reflexiones en $4,60$; $3,85$ y $3,70 \text{ \AA}$ (*Tabla 6.4*) las cuales son indicativas, de la presencia de la forma β [22,25,26].

Los difractogramas para las Muestras 3 y 4 presentados en las *Figura 6.10* y *6.11* muestran cierta similitud en cuanto a la ubicación de las señales y sus intensidades, en especial para el Caso A. A su vez, las intensidades de las señales en los difractogramas correspondientes a las mezclas de triglicérido son menores a las correspondientes a los triglicéridos puros (*Figura 6.7* y *6.8*).

En la *Figura 6.10* se presentan los difractogramas correspondientes a la Muestra 3 (mezcla de PPC, PCC y PPP). Puede observarse que las señales registradas para las tres

velocidades de enfriamiento (Casos A - C) fueron las mismas. Los picos obtenidos para los tres casos corresponden a la forma intermedia β' (Tabla 6.5). Tal como se mencionó anteriormente, las grasas en las que los ácidos grasos están distribuidos totalmente al azar, como es este caso, presentan formas β' y esta forma se va transformando lentamente a una forma más estable [13].

La Figura 6.11 presenta los difractogramas correspondientes a la Muestra 4 (mezcla de PPC, PCC y PPP). Para el Caso A, la menor velocidad de enfriamiento, se observan señales características que indican la formación de la forma β' (Tabla 6.6). Cuando la muestra es enfriada a 8 y 12°C/min (Casos B y C), solo se encontró una serie de pequeños picos. Este estudio fue repetido con idénticos resultados. Se puede hipotetizar que, en ambos casos, la muestra presenta una estructura en transición a una fase más estable. Parecería que, al enfriarse bajo estas condiciones, ambas velocidades resultaron ser “muy rápidas” y las moléculas no lograron acomodarse, causando una transformación incompleta de la estructura.

6.4.2. Estudio de la cristalización y fusión de los triglicéridos por DSC

6.4.2.1. Introducción

En esta sección se plantea el estudio de los procesos de cristalización y fusión de las Muestras 1 a 4 mediante calorimetría diferencial de barrido. Por esta razón, se comenzará haciendo una breve revisión acerca de estos importantes procesos que afectan a las grasas.

La cristalización de las grasas es un proceso complejo, no sólo por el polimorfismo, sino también porque normalmente se produce a partir de una masa fundida de múltiples componentes. Importantes esfuerzos se han realizado para entender el

comportamiento que presentan los sistemas de las grasas. Los estudios sobre cristalización que emplean grasas naturales son numerosos, sólo por mencionar algunos ejemplos más destacados, pueden citarse trabajos para el aceite de palma [28,29], la grasa de la leche [9,30,31] o la manteca de cacao [32,33,34,35].

Por cristalización se entiende el cambio del estado líquido al sólido con una correspondiente liberación de calor, por ser un proceso exotérmico. Como se sabe, esta transición líquido-sólido no se produce de forma espontánea, sino más bien se considera un proceso complejo en el que las moléculas deben entrar primero en contacto, luego orientarse y después interaccionar hasta formar estructuras altamente ordenadas. Al igual que en las reacciones químicas, existe una barrera energética que las moléculas deben vencer para formar los cristales. La magnitud de esta barrera de energía aumenta, al aumentar la estabilidad de la forma polimórfica. Cuanto más compleja y estable sea la forma polimórfica, es decir más ordenada, compacta y con un punto de fusión más elevado, más difícil será la formación de cristales. Esto se debe a que los cristales estables no se forman generalmente a temperaturas justo por debajo de los puntos de fusión, y las grasas persisten durante algún tiempo en un estado sobreenfriado metaestable. Por otro lado, la forma menos estable, menos ordenada (α) cristaliza fácilmente a una temperatura solo ligeramente por debajo del punto de fusión [13].

El proceso de cristalización comprende varios pasos como la nucleación, el crecimiento de los cristales y su reordenamiento [36].

Cuando la grasa es enfriada a una temperatura menor a su punto de fusión, las moléculas se encuentran sobreenfriadas. Este sobreenfriamiento es la fuerza impulsora termodinámica para que la cristalización ocurra. En este estado de no equilibrio, los cristales comienzan a agregarse en pequeños clusters, los cuales continuamente se forman

y se disuelven hasta que alcanzan un tamaño crítico. Recién en este punto, el cluster puede nombrarse como núcleo. Cuando se ha superado esta etapa, el núcleo irá creciendo, y al hacerlo formará una superficie. Debido a la agregación de los aglomerados y la formación de puentes entre los núcleos se establecerá finalmente la red de cristales. En la *Figura 6.12*, se presentan las distintas jerarquías de la organización estructural que se encuentran presentes en la grasa cristalizada.

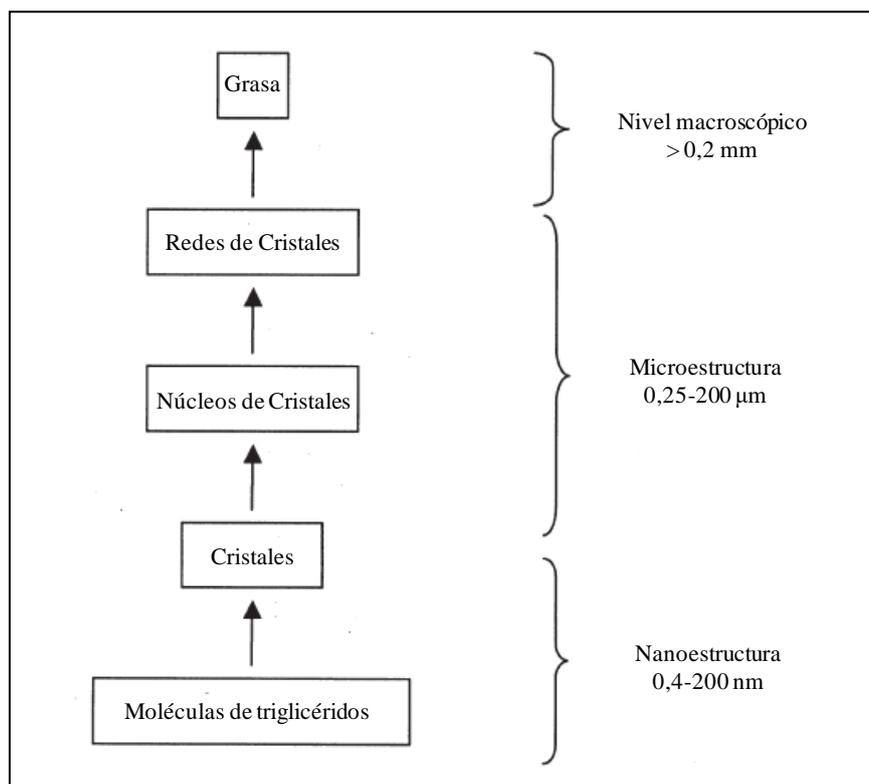


Figura 6.12. Niveles de la estructura presente en una grasa cristalizada.
Fuente: Adaptación trabajo de Tang y col. [37].

En las grasas se pueden diferenciar tres tipos de nucleación: la nucleación primaria, la cual puede dividirse en homogénea y heterogénea, y la nucleación secundaria. La nucleación homogénea sólo ocurre en soluciones puras en ausencia de materiales extraños o interfaces. En general este tipo de nucleación solo ocurre a temperaturas muy bajas de subenfriamiento. La nucleación heterogénea, que suele presentarse más a

menudo, es catalizada por la presencia de partículas o interfaces extrañas como polvo, paredes del recipiente y moléculas de diferentes compuestos [9]. La nucleación secundaria se produce en presencia de cristales del material que está siendo cristalizado, y sólo puede ocurrir después de la nucleación primaria homogénea o heterogénea [5].

La nucleación es probablemente el factor más importante en el control de la cristalización. La velocidad de nucleación afecta el número y tamaño de cristales formados y su forma polimórfica. Si el enfriamiento es rápido se favorecerá la formación de un gran número de cristales pequeños. En cambio, si el enfriamiento es más lento, las moléculas de grasa tienen tiempo para organizarse en laminillas y formar pocos cristales de gran tamaño [38,24].

El crecimiento de los cristales se produce por la unión de las moléculas a la superficie del cristal. La velocidad de crecimiento de los cristales está determinada por el grado de sobresaturación, la velocidad de difusión molecular a la superficie del cristal y el tiempo requerido por las moléculas de triglicéridos para encajar en la red cristalina que va creciendo [9]. En comparación con la nucleación, la fuerza impulsora necesaria para el crecimiento del cristal es relativamente baja [36].

Aunque en general se plantea el proceso de nucleación y crecimiento de cristales como eventos consecutivos, se debe señalar que la nucleación no se detiene cuando se inicia el crecimiento. Así, en la cristalización de las grasas, la nucleación y el crecimiento ocurren de manera simultánea [5].

La última etapa del proceso de cristalización, es la etapa más lenta ya que consiste en llegar a la forma termodinámicamente más estable mediante el reordenamiento de los cristales.

La cristalización se utiliza a menudo para modificar las propiedades de una grasa. El control apropiado de la microestructura cristalina conduce a obtener productos con ciertas características físicas y propiedades texturales deseadas. Es por ello que el control de la cristalización de una grasa es de crucial importancia en la calidad final de un producto. Además, el tamaño del cristal es un parámetro importante en la calidad de los alimentos. En muchos alimentos sólidos blandos, en general no es deseable que los cristales se sientan en la boca, esta sensación que puede describirse como “arenosidad”, se da cuando los cristales son grandes y exhiben un alto punto de fusión. Para evitar esto, los cristales deben ser, generalmente, más pequeños que 10 μm .

El punto de fusión puede definirse como el punto en el cual el material cambia del estado sólido al líquido. El comportamiento en la fusión de los triglicéridos saturados monoácidos depende en gran medida de la longitud de cadena del ácido graso. Cuanto mayor es la longitud de la cadena, mayor será el punto de fusión. En la *Figura 6.13* se muestra la evolución del punto de fusión para diferentes formas polimórficas de triglicéridos saturados monoácidos, en función de la longitud de cadena del ácido graso. En la figura se puede notar que los puntos de fusión de la forma α aumenta suavemente con el incremento de la longitud de cadena, mientras que las formas β' y β presentan fluctuaciones según el número de átomos de carbono sea par o impar. Para la forma β , los puntos de fusión aumentan en forma de zigzag, con lo cual los triglicéridos con número par de átomos de carbono presentan puntos de fusión más altos. En el caso de la forma β' , la evolución del punto de fusión también aumenta con oscilaciones, pero son más suaves.

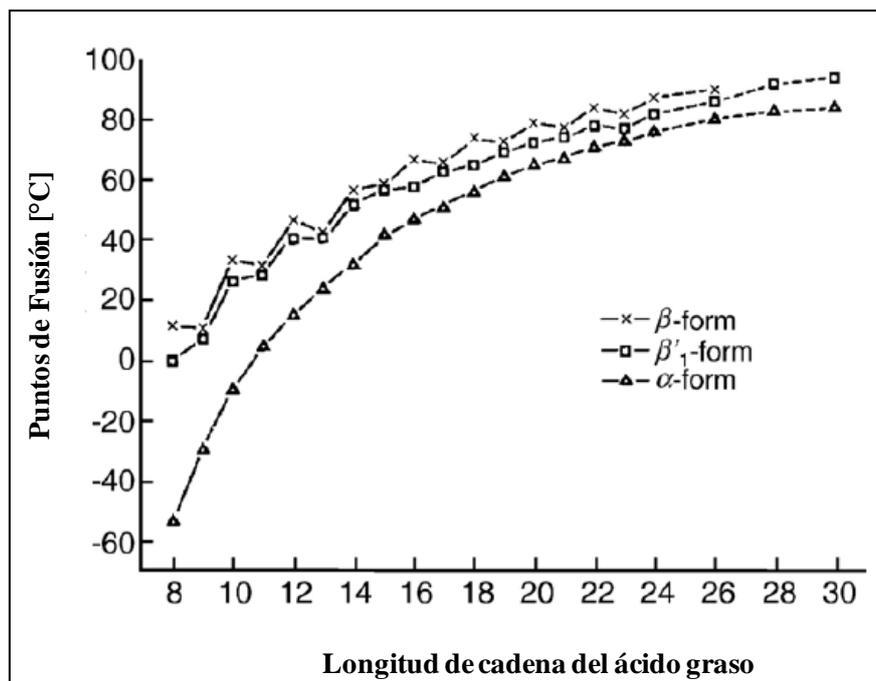


Figura 6.13. Temperaturas de fusión de triglicéridos saturados monoácidos para las distintas fases polimórficas dependiendo de la longitud de cadena del ácido graso. Fuente: Adaptación trabajo de Hagemann y col. [39].

Comúnmente como las grasas o aceites contienen varios ácidos grasos distintos y, por lo tanto, comprenden una gran variedad de triglicéridos diferentes, estas mezclas no presentan un único punto de fusión, sino que tiene un intervalo de fusión. Solo por encima de la temperatura del componente de mayor punto de fusión, toda la grasa funde y se encuentra en estado líquido. El proceso de fusión resulta, además, complejo por el hecho de que los cristales de grasa pueden exhibir diferentes polimorfismos.

Existen variados métodos para determinar una amplia gama de puntos de fusión. Entre ellos se encuentran el Punto de Fusión Completo (AOCS Cc 1-25), el Punto de Fusión de Wiley (AOCS Cc 2-38), el Punto de Caída (AOCS Cc 18-80) y el Punto de Deslizamiento (AOCS Cc 3-25, 3b-92). Uno de los métodos más utilizados es el del Punto de Fusión Completo, que puede determinarse mediante el uso de un tubo capilar. Debido a que la técnica suele ser muy laboriosa y puede dar información no del todo precisa, ya

que se debe registrar la temperatura a la cual la muestra se torna totalmente translúcida, este método no ha sido utilizado en esta tesis. En su lugar se decidió utilizar la técnica de DSC con el objetivo de minimizar la apreciación subjetiva del analista y lograr de esta forma mayor precisión en las determinaciones.

La calorimetría diferencial de barrido ha sido ampliamente utilizada para estudiar, tanto la cristalización como la fusión de las grasas [23,40,41]. El programa tiempo-temperatura utilizado en esta técnica en general consta de tres etapas: en primer lugar, la muestra se calienta y se mantiene a una temperatura alta durante algunos minutos para destruir todos los núcleos de cristales. Mediante este proceso se logra borrar la historia térmica que la muestra haya tenido. A continuación, la misma se enfría a una velocidad específica hasta lograr la cristalización, y finalmente la muestra se vuelve a calentar hasta que la fusión se completa. El instrumento monitorea el flujo de calor como función del tiempo. El resultado del análisis por DSC es un termograma que muestra las transiciones que ocurren en el material en estudio.

6.4.2.2. Resultados y discusión

Mediante calorimetría diferencial de barrido se obtuvieron los termogramas de los triglicéridos estudiados, a partir de los cuales fueron analizados los procesos de cristalización y fusión de las distintas muestras. Se debe tener en cuenta que mediante esta técnica se tiene un mayor control de la temperatura y de las velocidades de enfriamiento, con lo cual se logra una mejor comprensión de los procesos dinámicos que ocurren durante la cristalización y la fusión. Tal como se describió en el *Capítulo 2 Sección 2.3.5.2.2*, las muestras se mantuvieron por 2 min a 15°C, luego se las calentó de 15 a 100°C a una velocidad de 10°C/min, seguidamente se las mantuvo por 5 min a 100°C

para asegurar que se encuentren completamente fundidas. Para estudiar la cristalización, las muestras se enfriaron de 100 a 15°C, con velocidades variables (4, 8 y 12°C/min). Luego, se mantuvo la temperatura constante por 2 min a 15°C y por último se realizó un segundo calentamiento de 15 a 100°C a una velocidad fija (8°C/min). En esta última etapa fue cuando se analizaron los picos de fusión.

La Muestra 1 no pudo ser cristalizada en el rango de temperaturas disponibles para realizar el ensayo (el equipo sólo permitía trabajar hasta 15°C). Esto fue indistinto de la velocidad de enfriamiento utilizada. Para las Muestras 2, 3 y 4 las curvas de fusión se obtuvieron sin problemas, pero en el caso particular de la cristalización, se pudo observar que en la mayoría de las muestras el proceso no se logró completar, consecuencia también de la restricción del equipo utilizado.

En las *Figuras 6.14, 6.15 y 6.16* se muestran las curvas obtenidas en el proceso de cristalización para las Muestras 2, 3 y 4, respectivamente. En la etapa de cristalización los picos se representan por debajo de la línea de base, por resultar un proceso exotérmico, mientras que, en la etapa de fusión los picos endotérmicos se representarán como señales positivas, por encima de la línea de base.

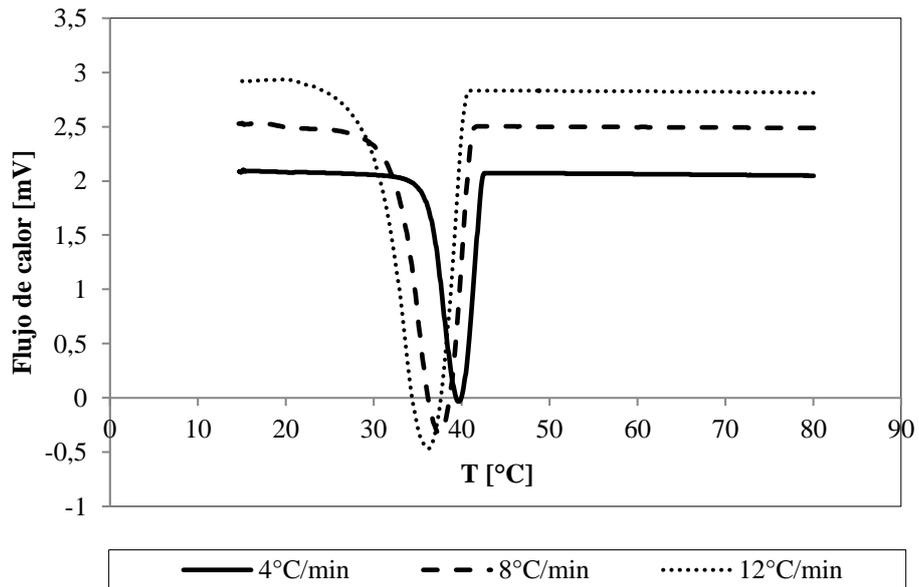


Figura 6.14. Curvas de cristalización para la Muestra 2, para las distintas velocidades de enfriamiento analizadas.

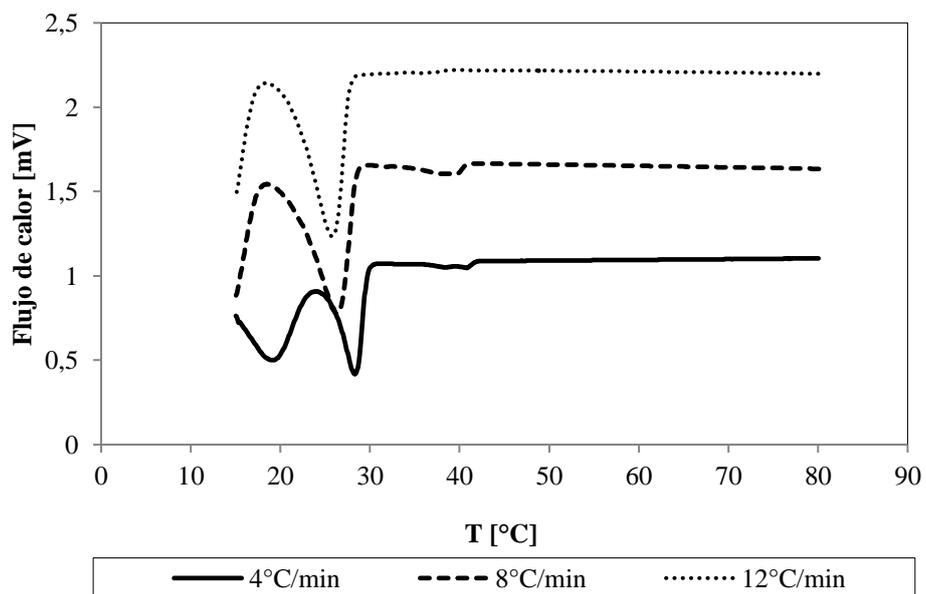


Figura 6.15. Curvas de cristalización para la Muestra 3, para las distintas velocidades de enfriamiento analizadas.

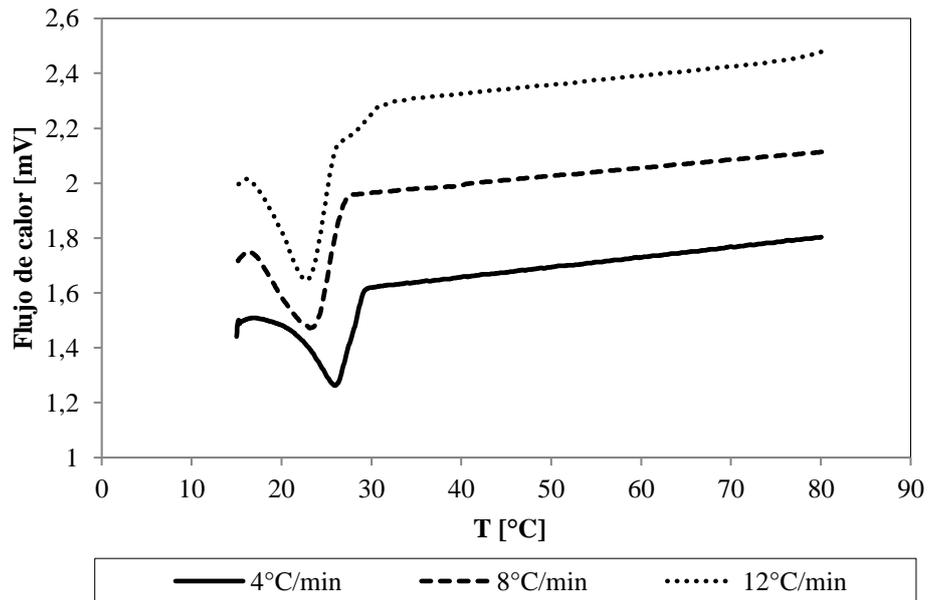


Figura 6.16. Curvas de cristalización para la Muestra 4, para las distintas velocidades de enfriamiento analizadas.

En la *Tabla 6.7* se muestran los datos más relevantes obtenidos para las diferentes curvas. Los valores de Onset y End corresponden a las temperaturas a la cuales comienza y finaliza la cristalización, la temperatura máxima ($T_{m\acute{a}x}$) se considera como la temperatura de cristalización propiamente dicha, y la entalpía de cristalización (ΔH) corresponde al área total del pico.

Tabla 6.7. Datos obtenidos por DSC para el proceso de cristalización de las muestras estudiadas.

Muestra	Velocidad [°C/min]	1er pico cristalización				2do pico cristalización			
		Onset [°C]	End [°C]	T _{máx} [°C]	ΔH [J/g]	Onset [°C]	End [°C]	T _{máx} [°C]	ΔH [J/g]
2	4	42,3	36,3	39,7	-119,88	-	-	-	-
	8	41,0	32,7	37,5	-120,20	-	-	-	-
	12	40,3	30,4	36,2	-124,44	-	-	-	-
3	4	29,7	25,6	28,4	-23,12	22,6	15,50	19,4	-
	8	28,4	21,5	26,3	-29,74	-	-	-	-
	12	27,7	21,7	25,8	-27,91	-	-	-	-
4	4	29,1	20,8	25,9	-25,10	-	-	-	-
	8	26,6	17,6	23,5	-15,87	-	-	-	-
	12	25,8	20,9	22,9	-16,62	-	-	-	-

Cuando se comparan las curvas de las tres figuras, se observa que la temperatura a la cual comienza la cristalización disminuye con el incremento de la velocidad de enfriamiento.

Al analizar la *Figura 6.14* se puede observar que, la forma de las curvas no es dependiente de la velocidad de enfriamiento, ya que para los tres casos las curvas presentan la misma forma. Se registra la formación de un único pico obtenido en 39,7; 37,5 y 36,2°C para 4, 8 y 12°C/min, respectivamente. El valor de la entalpía de cristalización, que corresponde al área total del pico, aumenta al incrementarse la velocidad de enfriamiento (ver *Tabla 6.7*). Esto mismo fue observado por ten Grotenhuis y col. [23]. En estos termogramas se puede apreciar el final del proceso de cristalización, ya que la curva reingresa a la línea base.

La *Figura 6.15* presenta las curvas de cristalización para la Muestra 3. Cuando la velocidad de enfriamiento fue 4°C/min, la cristalización comienza a los 29,7°C y se observan dos picos. El segundo pico no logró verse completo, pero es suficiente para asegurar que en el rango de temperaturas de trabajo se presentaban dos cristalizaciones. El primer pico se encuentra en 28,4°C y presenta un valor de ΔH de -23,12 J/g. El segundo pico se registra en 19,4°C, y no se pudo determinar el ΔH debido a que no se completó el proceso de cristalización. Para las velocidades de enfriamiento 8 y 12°C/min, la cristalización comenzó a 28,4 y 27,7°C y muestran un primer pico en 26,3 y 25,8°C, respectivamente. Se observa la formación de un segundo pico, pero el rango de temperatura aplicado no permitió que se completara.

La Muestra 3 está formada por una mezcla de triglicéridos cuyos ácidos grasos tienen longitudes de cadena C16 y C10. La diferencia en el número de carbonos origina que el perfil mostrado en la *Figura 6.15* sea muy diferente al encontrado para el compuesto puro PPP, que al cristalizar generó un único pico estrecho.

La *Figura 6.16* presenta las curvas de cristalización para la Muestra 4. Se puede notar que todas las curvas obtenidas presentan un comportamiento similar, donde la cristalización comienza a los 29,1, 26,6 y 25,8°C para las velocidades de enfriamiento de 4, 8 y 12°C/min, respectivamente. En este caso la cristalización tampoco se completó. En las tres curvas, a bajas temperatura, se insinúa la aparición de un nuevo pico.

Comparando la cristalización para las Muestras 3 y 4 se puede notar que para la Muestra 3, la cual posee triglicéridos con ácidos grasos de cadena más larga (C10), el primer pico de cristalización se encuentra entre los 28,4 y los 25,8°C, mientras que para la Muestra 4, que posee ácidos grasos más cortos (C6) esta señal se encuentra a menor temperatura (entre 26 y 23°C, aproximadamente), mostrando que la diferente

composición de triglicéridos da lugar a comportamientos diferente y propiedades distintas.

Se debe resaltar que los resultados de los estudios realizados por DRX y DSC no son completamente compatibles para realizar un análisis global, porque comparten (en forma aproximada) las velocidades de enfriamiento, pero no las temperaturas finales de cristalización.

Para obtener las curvas de fusión, las muestras fueron sometidas a un segundo calentamiento a una velocidad fija para todos los casos de 8°C/min, luego de que las mismas fueran enfriadas a diferentes velocidades. En las *Figuras 6.17, 6.18 y 6.19* se muestran las curvas obtenidas para dicho proceso para las Muestras 2, 3 y 4, respectivamente.

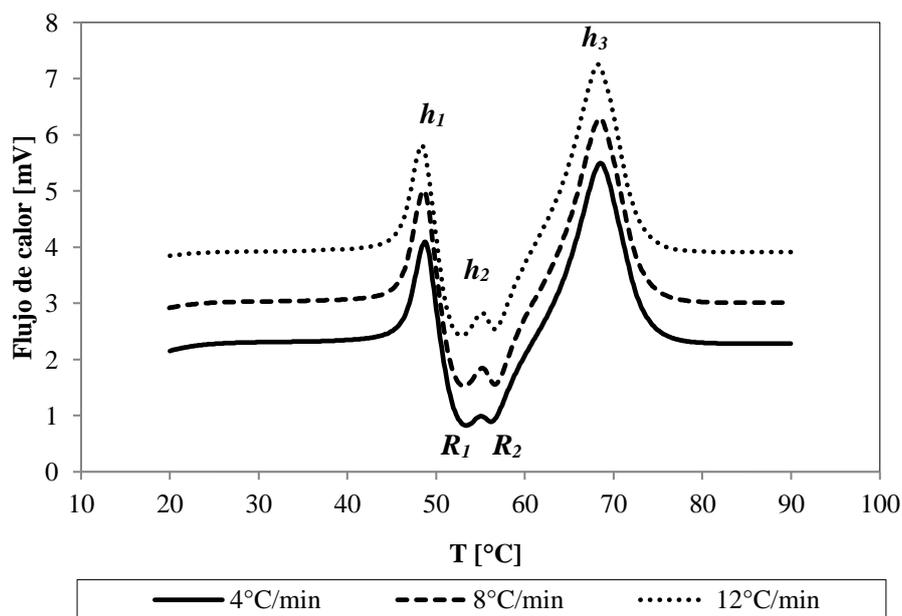


Figura 6.17. Curvas de fusión para la Muestra 2. Calentamiento a 8°C/min después de cristalizar a distintas velocidades.

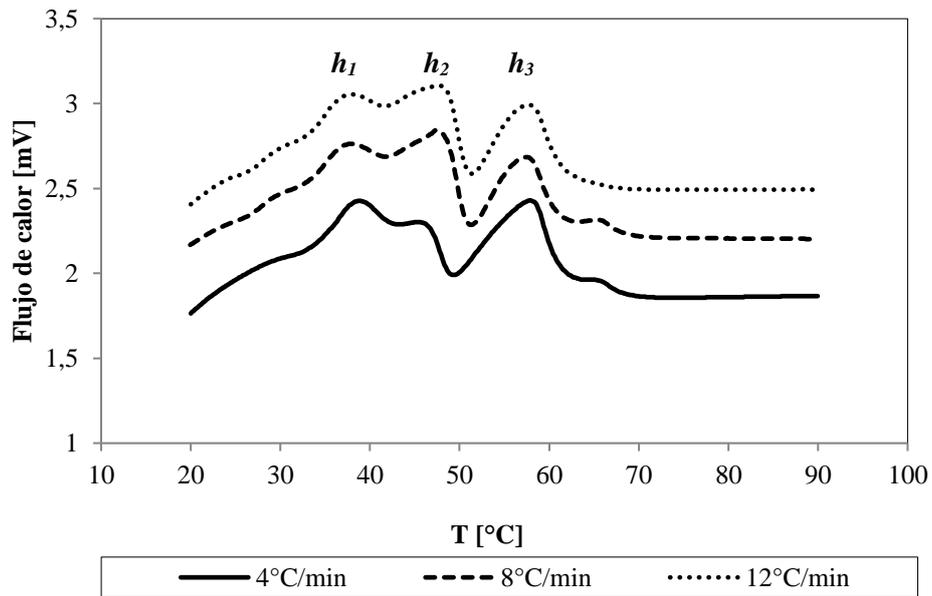


Figura 6.18. Curvas de fusión para la Muestra 3. Calentamiento a 8°C/min después de cristalizar a distintas velocidades.

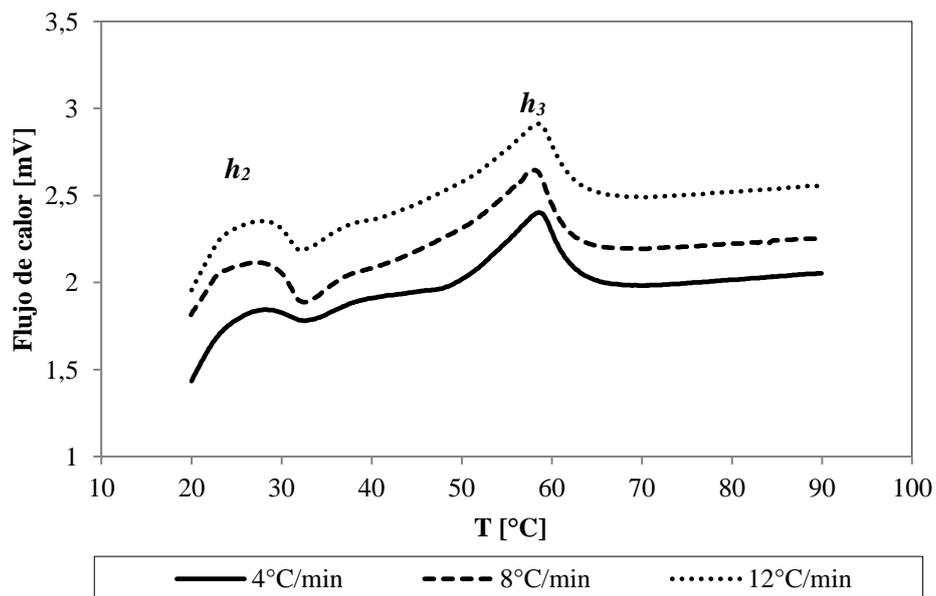


Figura 6.19. Curvas de fusión para la Muestra 4. Calentamiento a 8°C/min después de cristalizar a distintas velocidades.

Para la Muestra 2 (Figura 6.17) se distingue el inicio y final del proceso de fusión, entre los 45 y 75°C. Por el contrario, para las Muestras 3 y 4 (Figuras 6.18 y 6.19), no se

aprecia de manera clara el comienzo del proceso. Otra observación que resulta de la comparación de las tres figuras es que, para las tres velocidades de enfriamiento previas, las curvas de fusión obtenidas presentan un comportamiento muy similar.

La *Figura 6.17* está en concordancia con lo encontrado por Awad y col. [42] y Kellens y col. [22]. En los termogramas de fusión para PPP se presentan una serie de picos endotérmicos y exotérmicos, los cuales pueden ser asignados a las transiciones de fases. El pico endotérmico h_1 corresponde a la fusión de la forma α , mientras que el pico exotérmico R_1 , corresponde a la recristalización de la forma α en una forma más estable β' , a su vez el pequeño pico endotérmico h_2 corresponde a la fusión de la forma β' . El segundo pico exotérmico R_2 , indica la recristalización de la forma α en la forma más estable β . Por último, el pico endotérmico h_3 corresponde a la fusión de la forma β . El calor de fusión encontrado para PPP en fase α y β (*Tabla 6.8*) está dentro de los rangos de valores reportados en la bibliografía [22,39,43].

En las *Figuras 6.18* y *6.19* se puede observar que las Muestras 3 y 4 funden en un amplio rango de temperaturas, debido a que estas presentan una mezcla de triglicéridos. Por tal motivo se pueden notar varios picos de fusión en el intervalo entre 20 y 70°C.

En el caso de la Muestra 3, en las tres curvas se observan tres picos bien definidos (h_1 , h_2 y h_3), mientras que para la Muestra 4 solo se observan dos picos (h_2 y h_3). En algunos estudios [23,44,45], estos picos de fusión en las curvas de DSC se interpretan en términos de fracciones de grasas, sobre la base de sus puntos de fusión. Estas son llamadas fracciones de bajo (BPF), medio (MPF) y alto punto de fusión (APF). La fusión independiente de estas fracciones se supone que es la razón para los picos endotérmicos en las curvas de calentamiento. Se ha reportado que el tamaño relativo y la posición de los picos varían con la historia térmica de la grasa y la composición de triglicéridos [6].

Se asume que la fracción de BPF se presenta entre 0 y 20°C, la de MPF entre 20 y 40°C y la fracción de APF tiene un rango entre 40 y 60°C. Así, el perfil térmico para la Muestra 3 presenta tres principales componentes de fusión, un componente con MPF y dos componentes con APF. El perfil térmico para la Muestra 4, exhibe un componente con MPF y uno con APF.

En la *Tabla 6.8* se muestran una serie de datos obtenidos para las curvas de fusión, como temperaturas de inicio y final de fusión, ΔH y temperaturas de los picos h_1 , h_2 y h_3 .

Tabla 6.8: Datos obtenidos por DSC para el proceso de fusión de las muestras estudiadas.

Muestra	Velocidad [°C/min]	1er pico fusión			2do pico fusión			3er pico fusión					
		Onset [°C]	End [°C]	T _{h1} [°C]	ΔH [J/g]	Onset [°C]	End [°C]	T _{h2} [°C]	ΔH [J/g]	Onset [°C]	End [°C]	T _{h3} [°C]	ΔH [J/g]
2	4	45,5	51,5	48,8	84,83	53,8	55,9	55,0	1,03	61,1	74,1	68,5	262,90
	8	45,4	51,4	48,7	89,12	53,6	56,2	55,2	3,80	61,1	73,9	68,4	270,10
	12	45,2	51,2	48,4	91,87	53,5	56,4	55,2	4,23	61,0	73,3	68,3	253,45
3	4	34,2	42,3	37,5	7,82	42,8	48,5	46,3	4,31	49,9	61,1	57,9	22,82
	8	33,4	41,2	37,3	5,41	42,7	50,4	47,9	15,0	51,9	60,7	57,4	16,40
	12	33,4	41,3	37,2	5,62	42,0	50,5	48,2	14,25	50,6	61,2	57,8	16,30
4	4	-	-	-	-	18,2	32,2	24,6	19,53	50,4	62,5	58,6	25,07
	8	-	-	-	-	17,3	32,0	23,6	26,43	51,3	61,9	58,1	37,39
	12	-	-	-	-	18,0	31,8	24,0	23,88	47,8	62,7	58,5	30,11

En la *Tabla 6.9* se presentan las temperaturas de los picos de fusión determinadas para las muestras analizadas. Dado que, para las tres muestras, todos los termogramas obtenidos presentaron un comportamiento similar, sin corrimientos significativos en las señales, se reporta un promedio de los tres valores h_1 , h_2 y h_3 .

Tabla 6.9. Valores de temperatura promedios para los picos de fusión.

Muestra	Picos de Fusión [°C]		
	h_1	h_2	h_3
2	48,6	55,1	68,4
3	37,4	47,5	57,7
4	-	24,1	58,4

Comparando los valores mostrados en la *Tabla 6.9* para las Muestras 3 y 4 se puede notar que la Muestra 3 presenta, tal como era de esperar, picos de fusión a mayores temperaturas debido a que la mezcla contiene triglicéridos con ácidos grasos de cadena más largas. De esta manera, el pico h_3 de la Muestra 3 en 57,7°C podría pensarse que es la contribución de la PPP en la mezcla, mientras que los picos h_2 y h_1 , en 47,5 y 37,4°C, podrían atribuirse a los triglicéridos PPC y PCC, respectivamente. En el caso de la Muestra 4, solo se observa la presencia de dos picos, h_3 en 58,4°C que podría ser debido a la contribución de la PPP y h_2 en 24,1°C que podría atribuirse al triglicérido de peso molecular intermedio en la mezcla de reacción, o sea, PPC. Posiblemente exista un tercer pico por debajo de 15°C, debido a la presencia del triglicérido PCC, que en este estudio no pudo ser observado debido a la restricción de temperatura ya mencionada.

En la *Tabla 6.10* se muestran los puntos de fusión reportados en la literatura, para las distintas formas polimórficas de los triglicéridos puros CCC y PPP. Los valores para

CCC fueron obtenidos por Hagemann y col. [39], mientras que los valores para PPP determinados por Kellens y col. [22].

Tabla 6.10. Puntos de fusión teóricos para las distintas formas polimórficas de CCC y PPP.

Muestra	Puntos de Fusión [°C]		
	α	β'	β
1	-10	26 ^Δ	33
2	45	58 ^Δ	67 [*]

Δ Punto de fusión correspondiente a la forma β' más estable (β'_1). *Punto de fusión correspondiente a la forma β más estable.

En la *Figura 6.20* se muestran los termogramas de fusión para un primer calentamiento de CCC y PPP, partiendo de los sólidos comerciales. Los puntos de fusión encontrados fueron 33 y 67°C para CCC y PPP, respectivamente. Esto indica que, según lo señalado en la *Tabla 6.10*, ambos triglicéridos se encuentran en forma β , acorde a lo determinado por DRX.

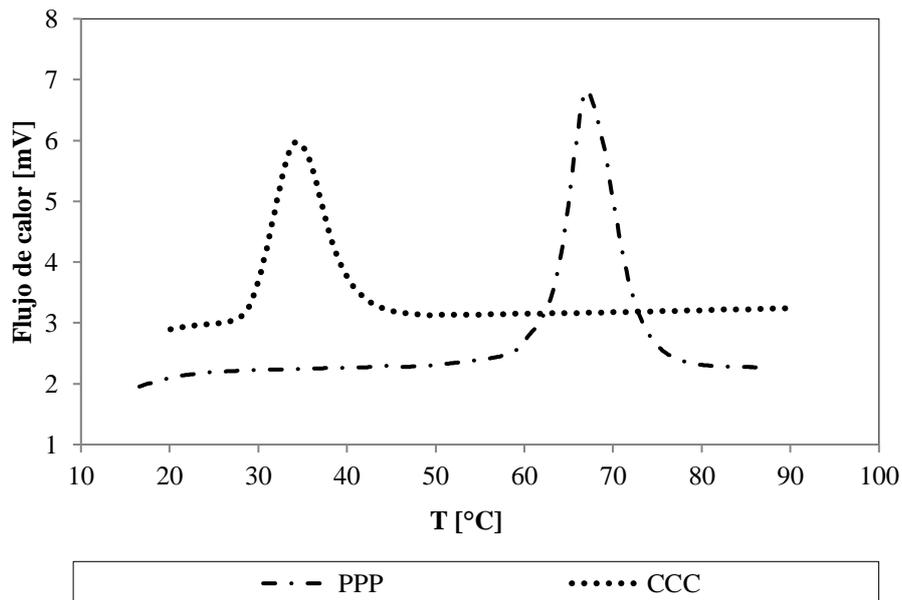


Figura 6.20. Curva de fusión para PPP y CCC partiendo de las muestras sin tratamiento (Caso D).

6.4.3. Determinación del contenido de grasa sólida por RMN

6.4.3.1. Introducción

Uno de los principales parámetros que caracterizan las propiedades físicas de las grasas es el contenido de grasa sólida (SFC) [46].

La resonancia magnética nuclear es una herramienta que se utiliza ampliamente en el análisis de grasas y aceites. La determinación del contenido de grasa sólida por esta técnica se emplea actualmente como método de rutina, dado que es un método rápido y preciso. Esta determinación se basa en la medición directa de la proporción entre las fases sólidas y líquidas de la muestra, y se expresa como un porcentaje entre 0 y 100%.

Como se vio en la sección anterior, cuando las grasas presentan una mezcla de diferentes triglicéridos, estas no funden a una temperatura fija, sino que lo hacen a lo largo de un intervalo de temperaturas, a medida que van fundiendo sus componentes

individuales. De esta forma, el comportamiento de la grasa ante la fusión no está definido completamente por su punto de fusión final (momento en que todos los componentes son líquidos), por lo que es necesario un gráfico en el que se represente el porcentaje de los componentes sólidos frente a la temperatura.

El valor del contenido de grasa sólida para una mezcla resulta, no solo de considerar dicho valor para cada triglicérido presente en la mezcla a una temperatura determinada, sino también de la de interacción existente entre los componentes [47].

El contenido de grasa sólida es responsable de muchas características importantes en las grasas como el aspecto general, las propiedades organolépticas, la extensibilidad y la exudación de aceite. Este parámetro también se puede utilizar para estudiar la compatibilidad de grasas en una mezcla mediante la determinación de los cambios en el porcentaje de sólidos en diferentes proporciones de una grasa [48].

Diferentes aplicaciones de un producto requieren distintas curvas de sólidos. La relación entre el contenido de grasa sólida y el grado de cristalización es muy importante para predecir las propiedades sensoriales que le impartirán a un producto. La información representada en la curva de sólidos permite conocer el grado de fusión de una grasa y su comportamiento a temperaturas de refrigeración, ambiente y en el paladar. El contenido de grasa sólida entre 4 y 10°C determina la facilidad del esparcimiento de un producto graso a la temperatura de refrigeración. Un nivel de sólidos alto a esta temperatura indicaría una textura dura y quebradiza. A su vez los valores entre 20 y 22°C determinan la estabilidad y la resistencia del producto a la exudación de aceite a temperatura ambiente. En este caso, un valor no menor al 10% es esencial para prevenir el exudado [49]. Tal como lo muestra la *Figura 6.21*, el contenido de grasa sólida presente a temperaturas entre 20 y 25°C tiene que ver con la dureza de la grasa, entre los 25 y 30°C

se relaciona con la resistencia al calor, entre los 30 y 35°C indica la rapidez de la fusión y finalmente la presencia de sólidos grasos a 35°C o más se relaciona con la cerosidad o sensación de que la grasa no funde en la boca. Se debe considerar que a la temperatura corporal (36°C), las grasas deben ser completamente fundibles, si se desea emplearlas para fines alimenticios.

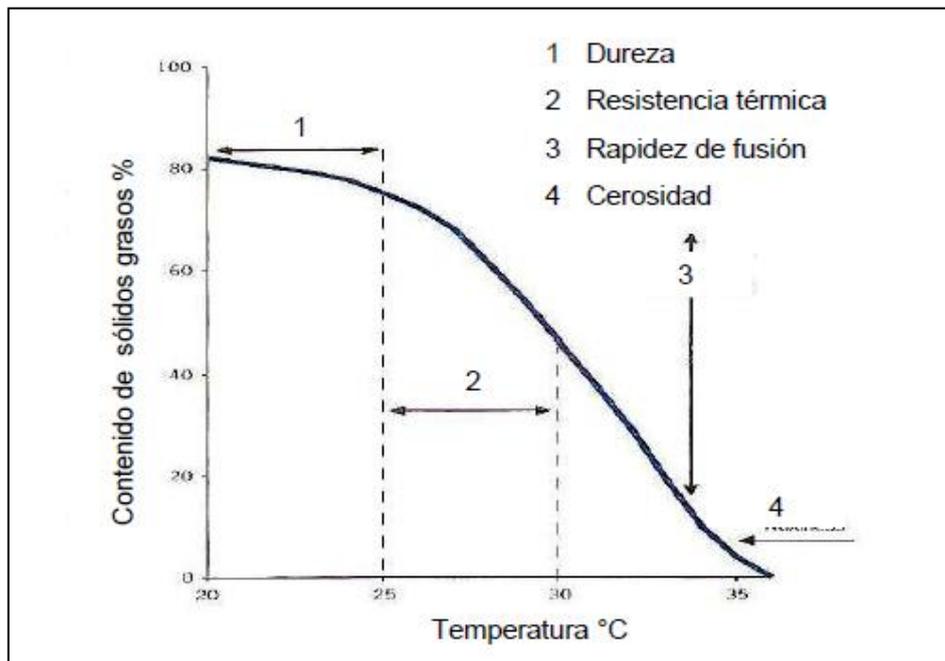


Figura 6.21. Relación entre el contenido de grasa sólida y los atributos sensoriales.
Fuente: Adaptación trabajo de Nilsson y col. [50].

La pendiente de la curva en el intervalo 30 a 35°C se relaciona con la rápida o lenta fusión de la grasa. Si la pendiente es muy pronunciada esto indicará que el triglicérido o la mayoría de ellos, dependiendo si se trata de una mezcla, tendrán sus puntos de fusión en este intervalo de temperatura y por lo tanto los mismos habrán fundido casi completamente, observándose que la curva es cercana a cero. Si, por el contrario, superados los 35°C aún quedaran una gran cantidad de sólidos grasos, una sensación cerosa se percibirá en la boca. De aquí la importancia que las grasas utilizadas, por

ejemplo, en la elaboración del chocolate, tengan pendientes muy pronunciadas en esta zona y puntos de fusión cercanos a la temperatura corporal.

6.4.3.2. Resultados y discusión

El contenido de grasa sólida se determinó a distintas temperaturas entre 20 y 70°C. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado informándose el promedio de ambas. En la *Figura 6.22* se muestran las curvas de sólidos para las distintas muestras analizadas.

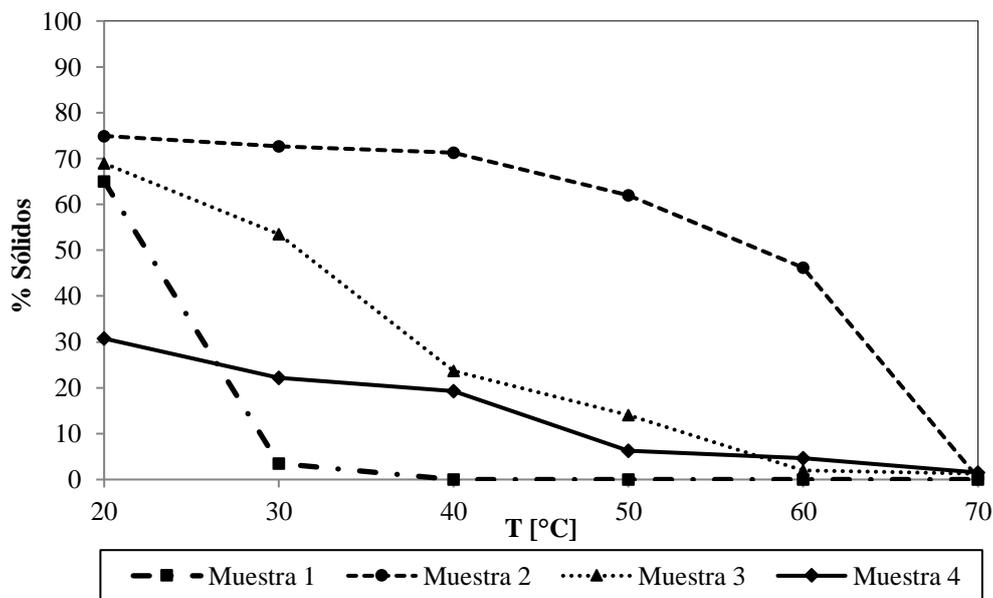


Figura 6.22. Perfiles del contenido de grasa sólida de las muestras estudiadas en función de la temperatura.

Haciendo un análisis general de las curvas entre los 30 y los 70°C, se puede observar que las curvas para las Muestras 3 y 4 se encuentran acotadas superiormente por la curva perteneciente a PPP, e inferiormente por la curva correspondiente a CCC. Para temperaturas menores a 30°C, esta tendencia no se cumple. Si se consideran los extremos térmicos del estudio, se puede observar en el gráfico que a 70°C todas las muestras

presentan valores de sólidos grasos menores a 0,5%, lo cual indica que las mismas se encuentran casi totalmente fundidas, mientras que a una temperatura de 20°C todas las muestras, a excepción de la Muestra 4, presentan altos contenidos de sólidos grasos (mayores a 65%).

En la curva para CCC, se puede notar que el descenso que la misma presenta con el incremento térmico es muy abrupto, debido a que la grasa se hace líquida a baja temperatura (30°C). Por su parte, la curva correspondiente a PPP presenta la particularidad que hasta los 60°C el contenido de grasa sólida es muy elevado, de alrededor del 50%.

Si se consideran las curvas para las Muestras 3 y 4, se puede notar que la mezcla que contiene triglicéridos con ácido grasos saturados con mayor peso molecular (Muestras 3) presenta valores de contenido de sólidos mayores que los de la Muestra 4. Esto es válido hasta los 57°C, donde la curva para la Muestra 3 presenta valores de sólidos que superan en más del doble a los de la Muestra 4. Después de los 57°C las curvas se cruzan, se invierte la tendencia y permanece así hasta alcanzar los 70°C. Este comportamiento puede ser atribuido a que la Muestra 4 presenta una mayor proporción del triglicérido de mayor peso molecular, 27,6% de PPP, mientras que la Muestra 3 posee un 25,4%. De manera que, la Muestra 4 al contener un mayor porcentaje del componente que posee el mayor punto de fusión, presenta un porcentaje más elevado de sólidos a mayores temperaturas.

Hasta el momento se ha realizado una descripción de las curvas en general para todas las muestras estudiadas. A continuación, se considerarán distintas zonas de temperaturas y se mostrarán los valores que presentan diversas grasas naturales utilizadas

en aplicaciones alimenticias y se analizará el comportamiento de las distintas mezclas obtenidas en reacción.

Algunas grasas como la manteca de cacao que presentan muy altos valores de contenido de sólidos a bajas temperaturas (alrededor de 90% a 0°C), funden muy rápidamente en un estrecho intervalo de temperatura (25-35°C). Otras grasas naturales, como la grasa de la leche, tienen bajos contenidos de sólidos a bajas temperaturas (alrededor de 50% a 0°C) y funden gradualmente con el aumento de la temperatura.

Existen ciertas especificaciones sobre el contenido de sólidos grasos en la manteca de cacao que son utilizadas como referencia. El perfil indica que a la temperatura de 20°C el contenido de sólidos grasos debe ser de 72 a 89%, a 30°C el contenido de sólidos debe ser de 40 a 65% y, finalmente a 35°C, el valor debe estar entre 0 y 3%. Emplear una manteca de cacao de bajo contenido de sólidos en la elaboración de productos puede afectar la funcionalidad y la calidad de los mismos. Por ejemplo, un chocolate hecho con manteca de cacao de estas características, necesitaría una temperatura más baja de enfriamiento para lograr la solidificación y a temperatura ambiente seguramente estaría derretido o completamente reblandecido.

Según Díaz Gamboa y col. [51], un contenido de sólidos no superior al 32% a una temperatura de 10°C es imprescindible para garantizar la performance ideal de esparcimiento de un producto graso a la temperatura de refrigeración. En la *Figura 6.22* se observa a 20°C que, mientras la Muestras 3 presenta un contenido de grasa sólida superior a dicho porcentaje (68,9%), la Muestra 4 posee un valor de 30,8%. Por lo tanto, sin dudas la Muestras 3 no puede ser utilizada en la elaboración de margarinas unttables. En el caso de la Muestra 4, aunque se pueda confirmar que el valor del contenido de sólidos a 10°C fuese menor a 32%, esto no alcanzaría para afirmar que esta mezcla podría

tener potencial para dicha aplicación, ya que la curva no tiende a cero al alcanzar la temperatura corporal. Pero si se lograra separar la PPP de la Muestra 4, sin dudas la mezcla podría ser empleada en la elaboración de margarinas untables.

Entre los 20 y 25°C las curvas de sólidos indican la esparcibilidad, la estabilidad física y la dureza que una grasa presenta a temperatura ambiente. A dicha temperatura, la consistencia que las mezclas estudiadas muestran es bastante diferente. Comparativamente, la Muestra 4 presenta una consistencia mucho más “blanda” (con 30 a 25% de sólidos) que la Muestras 3 (69 a 65%). Considerando la *Tabla 6.9* donde se reportan los puntos de fusión, se deduce que la Muestra 4 presenta la mayor proporción de sus componentes (72,4% proveniente de la suma de PCC y PPC) en estado líquido, ya que sus puntos de fusión se encuentran por debajo de los 25°C. Por su parte, la Muestra 3 presenta puntos de fusión de sus componentes individuales mucho mayores a 25°C, brindando una consistencia más dura a la mezcla.

Como se dijo anteriormente, la determinación del contenido de sólidos entre los 35 y los 37°C, da información de las características de fusión a temperatura corporal, la cual influye en la respuesta organoléptica al consumir un producto. Por lo tanto, velocidad de variación del contenido de sólidos entre 30 y 35°C se relaciona con la rápida o lenta fusión de la grasa. En la *Figura 6.22* se puede observar que, en esta zona, la Muestra 3 presenta una mayor rapidez de fusión que la Muestra 4. De esta manera, se podría considerar que la Muestra 3 podría presentar una posible aplicación en alimentos, pero se debe tener en cuenta que además de este hecho, otra consideración importante y fundamental para que la evaluación sensorial sea satisfactoria, es que la curva tienda a cero a los 35°C, cosa que aquí no ocurre.

Aunque la Muestra 4 no presenta la pendiente tan pronunciada en la zona entre 30 y 35°C, posee sin dudas mucha menor cantidad de sólidos en dicho rango. Sabiendo que los puntos de fusión para los TE de esta mezcla son bajos (24,1°C para PPC y una temperatura menor que 15°C para PCC), si se pudiera separar PPP (por destilación molecular) de la mezcla, se estaría ante una grasa con posibles aplicaciones alimenticias y con reducido contenido calórico.

6.5. Conclusiones

Las condiciones de operación óptimas encontradas para la reacción de acidólisis de PPP con C resultaron convenientemente aplicadas cuando el triglicérido se intercambió con ácido caproico. Se encontraron valores de conversión de PPP equivalentes a los obtenidos en el Capítulo 4.

Una vez llevadas a cabo ambas reacciones, se realizó con éxito la separación del catalizador y los ácidos grasos libres, obteniéndose las mezclas de triglicéridos (PPP + PPC + PCC y PPP + PPC + PCC). Las muestras a caracterizar, por medio de distintas técnicas, fueron las dos mezclas de triglicéridos y los dos triglicéridos puros (PPP y CCC).

Mediante difracción de rayos X se pudo determinar las formas polimórficas de las grasas luego de ser cristalizadas con diferentes velocidades de enfriamiento. En el caso de los triglicéridos puros, inicialmente se encontraron en la forma más estable (β). Para los tres casos estudiados (velocidades de enfriamiento de 4, 8 y 12°C/min), la muestra PPP cristalizó en la forma α , mientras que la Muestra 3 lo hizo en la forma β' . La Muestra 4 presentó diferente comportamiento, para la menor velocidad de enfriamiento, el difractograma presentó picos característicos de la fase β' y para los otros dos casos se obtuvieron estructuras en transición a una fase más estable.

La calorimetría diferencial de barrido constituyó una herramienta de gran utilidad para investigar los procesos de fusión y cristalización de los triglicéridos sintetizados. En el sistema de triglicéridos puros donde todos los ácidos grasos eran idénticos y saturados (PPP y CCC) el comportamiento en la cristalización y la fusión resultó ser simple, pero cuando las grasas fueron una mezcla de triglicéridos, ambos procesos resultaron más complejos. Además, las propiedades de fusión y cristalización de los triglicéridos fueron sensibles a las diferencias en la composición de sus ácidos grasos.

La muestra CCC no cristalizó en el rango de temperatura disponible para el estudio. En el resto de las muestras se encontró un desplazamiento de los picos de cristalización hacia menores temperaturas al aumentar la velocidad de enfriamiento. La cristalización de PPP ocurrió en el intervalo de temperatura entre 36,2 y 39,7°C. Para las Muestra 3 y 4, el proceso de cristalización comenzó entre los 28-30°C y 26-29°C, respectivamente. Solo para la Muestra 3 se observaron dos picos de cristalización, pero el correspondiente a baja temperatura no pudo desarrollarse completamente debido a limitaciones del equipamiento utilizado.

En el caso de los procesos de fusión, se determinó los puntos de fusión y formas polimorfas de CCC y PPP comerciales, y para ésta última se investigó también su comportamiento ante diferentes velocidades de enfriamiento. Para las Muestras 3 y 4 se encontró que funden entre los 20 y 70°C, aunque para la Muestras 4, el rango de temperatura de operación del equipo utilizado no permitió investigar el comienzo del proceso. Los termogramas de fusión no fueron afectados por las diferentes velocidades de cristalización investigadas. En la Muestra 3, el pico en 57,7°C podría corresponderse a la contribución de PPP en la mezcla, por su parte, los picos en 47,5 y 37,4°C, podrían atribuirse a los triglicéridos PPC y PCC, respectivamente. En el caso de la Muestra 4, el pico en 58,4°C podría corresponder a PPP en la mezcla, mientras que el que aparece en

24,1°C se podría atribuir al triglicérido de peso molecular intermedio en la mezcla de reacción, PPC. El pico correspondiente al triglicérido PCC, no pudo ser observado debido a la restricción de temperatura.

En las curvas correspondientes al contenido de grasa sólida determinadas por RMN, se observó que las Muestra 3 y 4 (que contenían los TE sintetizados) evidenciaron un comportamiento intermedio entre los compuestos puros, entre los 27 y 70°C. A 70°C todas las muestras presentaron valores de sólidos grasos menores a 0,5%, por lo tanto, las grasas se encontraron casi totalmente fundidas. A 20°C todas las muestras, a excepción de la Muestra 4, presentan altos contenidos de sólidos grasos (mayores a 60%).

La Muestra 3, que contiene los TE con mayor peso molecular, presenta valores de grasas sólidas mayores a los de la Muestra 4, en el intervalo térmico 20-57°C. Luego la tendencia se invierte debido al mayor contenido de PPP presente en la mezcla de la Muestra 4.

A temperatura ambiente la Muestra 4 presentó una consistencia mucho más blanda que la Muestra 3, esto se debió a que sus componentes mayoritarios (PPC + PCC) presentaron puntos de fusión menores a 25°C. La Muestra 4 presenta potencial uso en la industria de alimentos si se separa PPP de la mezcla.

6.6. Referencias

- [1] Senanayake N., Shahidi F. *Dietary Fat Substitutes*. En: Bailey's Industrial Oil and Fats Products, Fereidoon Shahidi Ed., John Wiley and Sons Inc., Sixth Edition Vol. 3 (2005) 503-534.
- [2] *Grasas y ácidos grasos en nutrición humana*. Consulta de expertos. Estudio FAO alimentación y nutrición. <http://www.fao.org/docrep/017/i1953s/i1953s.pdf>
- [3] Hita E., Robles A., Camacho B., Ramírez A., Esteban L., Jiménez M.J., Muñío M.M., González P.A., Molina E., *Production of structured triacylglycerols (STAG) rich in docosahexaenoic acid (DHA) in position 2 by acidolysis of tuna oil catalyzed by lipases*. *Process Biochemistry* 42 (2007) 415-422.
- [4] Osborn H.T., Akoh C.C., *Structured Lipids-Novel fats with medical, nutraceutical, and food applications*. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 1 (2002) 93-103.
- [5] Foubert I., Dewettinck K., Van de Walle D., Dijkstra A. J., Quinn P. J. *Physical properties: structural and physical characteristics*. En: *The Lipid Handbook*, 3rd edition, Ed. F.D. Gunstone J.L. Harwood, A.J. Dijkstra, CRC Press Taylor & Francis Group (2007) 471-534.
- [6] Timms R. E., *Phase behaviour of fats and their mixtures*. *Progress in Lipid Research* 23 (1984) 1-38.
- [7] D'Souza V., deMan J.M., deMan L., *Short Spacings and Polymorphic Forms of Natural and Commercial Solid Fats: A Review*. *Journal of the American Oil Chemists Society* 67 (11) (1990) 835-843.
- [8] Marangoni A. G. *Crystallography*. En: *Fat Crystal Networks*. Ed. Marangoni A. G. Marcel Decker, (2005) 1-20.
- [9] Wright A.J., Marangoni A.G., *Crystallization and Rheological Properties of Milk Fat*. En: *Advanced Dairy Chemistry, Volume 2, Lipids*, 3rd edition, Ed. P.F. Fox, P.L. McSweeney, Springer, New York, (2006) 245-291.
- [10] Jensen L. H., Mabis A. J., *Crystal Structure of β -Tricaprin*. *Nature* 167 (1963) 681-682.
- [11] Himawan C., Starov V.M., Stapley A.G.F., *Thermodynamic and kinetic aspects of fat crystallization*. *Advances in Colloid and Interface Science* 122 (2006) 3-33.

- [12] Sato K., *Crystallization behaviour of fats and lipids-a review*. Chemical Engineering Science 56 (2001) 2255-2265.
- [13] Nawar W.W. *Lípidos*. En: Química de los alimentos, Ed. O Fennema 1era edición. Editorial Acribia. (1996) 157-275.
- [14] Marangoni A G., Wesdorp L.H., *Crystallography and polymorphism*. En: Structure and Properties of Fat Crystal Networks, 2nd edition (2012).
- [15] Timms R.E., *The physical properties of blends of milk fat with beef tallow and beef tallow fractions*. Australian Journal of Dairy Technology. 34 (1979) 60-65.
- [16] Walstra, P., van Vliet, T., Kloek, W. *Crystallization and rheological properties of milk fat*. En: Advanced Dairy Chemistry, Volume 2, Lipids, 2nd edition, Ed P.F. Fox, Chapman and Hall, London, (1994) 179-212.
- [17] deMan J.M., *X-ray diffraction spectroscopy in the study of fat polymorphism*. Food Research International 25 (1992) 471-476.
- [18] D'Souza V., deMan J.M., deMan L., *Short Spacings and Polymorphic Forms of Natural and Commercial Solid Fats: A Review*. Journal of the American Oil Chemists Society 67 (11) (1990) 835-843.
- [19] Woodrow I.L., deMan J. M., *Polymorphism in Milk Fat Shown by X-ray Diffraction and Infrared Spectroscopy*. Journal of Dairy Science 51 (7) (1968) 996-1000.
- [20] Lutton E.S., *The Polymorphism of Tristearin and Some of its Homologs*. Journal of the American Oil Chemists Society 67 (1945) 524-527
- [21] Larsson, K., *Classification of glyceride crystal forms*, Acta Chemica Scandinavica 20 (1966) 2255-2260.
- [22] Kellens M., Meeussen W., Reynaers H., *Crystallization and phase transition studies of tripalmitin*. Chemistry and Physics of Lipids 55 (1990) 163-178.
- [23] ten Grotenhuis E., van Aken G.A., van Malssen K.F., Schenk H., *Polymorphism of Milk Fat Studied by Differential Scanning Calorimetry and Real-Time X-ray Powder Diffraction*. Journal of the American Oil Chemist Society 76 (1999)1031-1039.

- [24] de Man, J.M., *Physical Properties of Milk Fat. II. Some Factors Influencing Crystallization*. Journal of Dairy Research 28(1961) 117-122.
- [25] Sato K., Kuroda T., *Kinetics of Melt Crystallization and Transformation of Tripalmitin Polymorphs*. Journal of the American Oil Chemists Society 64 (1) (1987) 124-127.
- [26] Kellens M., Meeussen W., Reynaers H., *Study of the Polymorphism and the Crystallization Kinetics of Tripalmitin: A Microscopic Approach*. Journal of the American Oil Chemists Society 69 (9) (1992) 906-911.
- [27] Jensen L. H., Mabis A. J., *Refinement of the Structure of β -Tricaprin*. Acta Crystallographica 21 (1966) 770-781.
- [28] Litwinenko J.W., Rojas A.M., L.N. Gerschenson L.N., Marangoni A.G., *Relationship Between Crystallization Behavior, Microstructure, and Mechanical Properties in a Palm Oil-Based Shortening*. Journal of the American Oil Chemist Society 79 (2002) 647-654
- [29] Jacobsberg B., Chuan ho O., *Studies in Palm Oil Crystallization*. Journal of the American Oil Chemist Society 53 (1976) 609-617.
- [30] Campos R., Narine S.S., Marangoni A.G., *Effect of cooling rate on the structure and mechanical properties of milk fat and lard*. Food Research International 35 (2002) 971-981.
- [31] Lopez C., Lavigne F., Lesieur P., Keller G., Ollivon M., *Thermal and Structural Behavior of Anhydrous Milk Fat. 2. Crystalline Forms Obtained by Slow Cooling*. Journal of Dairy Science 84 (2001) 2402-2412.
- [32] Marangoni A.G., McGauley S.E., *Relationship between Crystallization Behavior and Structure in Cocoa Butter*. Crystal Growth & Design 3 (1) (2003) 95-108.
- [33] Van Langevelde A., Van Malssen K., Peschar R., Schenk H., *Effect of Temperature on Recrystallization Behavior of Cocoa Butter*. Journal of the American Oil Chemist Society 78 (2001) 919-925.
- [34] Loisel C., Keller G., Lecq G., Bourgaux C., Ollivon M., *Phase Transitions and Polymorphism of Cocoa Butter*. Journal of the American Oil Chemist Society 75 (1998) 425-439.

- [35] Chapman G.M, *Cocoa Butter and Confectionery Fats. Studies Using Programmed Temperature X-Ray Diffraction and Differential Scanning Calorimetry*. Journal of the American Oil Chemist Society 48 (1971) 824-830.
- [36] Sato K., Yoshimoto N., Arishima T., *Crystallization phenomena in fats and lipids*. Journal of Dispersion Science and Technology 10 (1989) 363-392.
- [37] Tang D., Marangoni A. G., *Microstructure and Fractal Analysis of Fat Crystal Networks*. Journal of the American Oil Chemist Society 83 (2006) 377-388.
- [38] de Man J. M., Wood F. W. *Proc. XVth Int. Dairy Congr.* 2 (1959) 1010.
- [39] Hagemann J.W., Rothfus J.A., *Polymorphism and Transformation Energetics of Saturated Monoacid Triglycerides from Differential Scanning Calorimetry and Theoretical Modeling*. Journal of the American Oil Chemist Society 60 (6) (1983) 1123-1131.
- [40] Foubert I., Fredrick E., Vereecken J., Sichien M., Dewettinck K., *Stop-and-return DSC method to study fat crystallization*. Thermochemica Acta 471 (2008) 7-13.
- [41] Vereecken J., Foubert I., Smith K.W., Dewettinck K, *Relationship between Crystallization Behavior, Microstructure, and Macroscopic Properties in trans-Containing and trans-Free Filling Fats and Fillings*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55 (2007) 7793-7801.
- [42] Awad T.S., Helgason T., Weiss J., Decker E.A., McClements D.J., *Effect of Omega-3 Fatty Acids on Crystallization, Polymorphic Transformation and Stability of Tripalmitin Solid Lipid Nanoparticle Suspensions*. Crystal Growth & Design 9 (8) (2009) 3405-3411.
- [43] Ollivon M, Perron R., *Measurements of enthalpies and entropies of unstable crystalline forms of saturated even monoacid triglycerides*. Thermochem. Acta 53 (1982) 183-194.
- [44] Deffense E., *Milk Fat Fractionation Today: A Review*. Journal of the American Oil Chemist Society 70 (12) (1993) 1193-1201.
- [45] Lohman M.H., Hartel R.W., *Effect of Milk Fat Fractions on Fat Blooming Dark Chocolate*. Journal of the American Oil Chemist Society 71(3) (1994) 267-276.
- [46] Ghotra B.S., Dyal S.D., Narine S.S., *Lipid shortenings: a review*. Food Research International 35 (2002) 1015-1048.

- [47] Braipson-Danthine S., Deroanne C., *Determination of Solid Fat Content (SFC) of Binary Fat Blends and Use of These Data to Predict SFC of Selected Ternary Fat Blends Containing Low-Erucic Rapeseed Oil*. Journal of the American Oil Chemist Society 83 (2006) 571-581.
- [48] Karabulut I., Turan S., Gürol E., *Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends*. European Food Research and Technology 218 (2004) 224-229.
- [49] Lida H.M.D.N., Ali A.R.M., *Physicochemical characteristics of palm-based oil blends for the production of reduced fat spreads*. Journal of the American Oil Chemist Society 75 (1998) 1625-1631.
- [50] Nilsson L., Alander J., Andersson A., Bagge C., Helmibring G., Hjorth M., Hägren J., Komen G., Kristoffersson Ch., Modig M., Nilsson J., Norberg S., Pedersen M., Wennermak B., Wennermak M., En: *Handbook Vegetable Oils and Fats*. Karlshamns AB Civilen Halmastad. First Edition (2002).
- [51] Díaz Gamboa O., Gioielli L., *Lípidos estructurados obtenidos por interesterificación química y enzimática a partir de aceite de pescado y grasa de palmiste*. Grasas y Aceites 54 (2) (2003) 161-168.

7. CONCLUSIONES GENERALES Y TRABAJOS A FUTURO

7.1. Conclusiones generales

En este trabajo de tesis se investigó la síntesis de triglicéridos estructurados mediante la reacción de acidólisis, la cual involucra la transferencia de un grupo acilo entre un ácido graso y un triglicérido, catalizada por sólidos ácidos.

La reacción fue llevada a cabo entre un triglicérido de cadena larga saturada (tripalmitina) y ácidos grasos de cadena media (ácido cáprico) y corta (ácido caproico). Los TE sintetizados pueden ser considerados grasas reducidas en calorías.

Los TE obtenidos fueron los resultantes del intercambio de uno o dos ácidos palmíticos por ácidos cápricos, o sea, PPC y PCC junto a sus estereoisómeros (PCP + CPP y CPC + CCP). En ningún caso se determinó la formación de tricaprina. De igual manera lograron sintetizarse los TE PPC + PCC (junto a sus estereoisómeros). No se observaron productos debidos a hidrólisis u oxidación.

Los catalizadores heterogéneos ácidos desarrollados consistieron en óxido de niobio y su par sulfatado S-Nb₂O₅. También fueron sintetizados el óxido de circonio y diversas muestras sulfatadas utilizando diferentes métodos y fuentes de S.

La caracterización de los sólidos permitió conocer que, en todos los casos, se contaba con materiales mesoporosos. Al sulfatar el sólido Nb₂O₅, se ocasionó una gran disminución del área superficial (de 75,3 a 8 m²/g) y del volumen de poro (0,108 a 0,013 cm³/g), además de un aumento del diámetro de poro, originándose un material menos poroso. Por el contrario, la sulfatación del catalizador ZrO₂, generó catalizadores con áreas superficiales mayores (48 vs 90-115 m²/g).

Tanto la fuente de sulfato como el método de sulfatación empleado influyeron en el contenido de azufre retenido finalmente por el catalizador. La muestra ZS-A, tratada

con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, fue la que menor cantidad de azufre presentó en comparación con las tratadas con H_2SO_4 . Por su parte, las muestras obtenidas por el método de inmersión (S- Nb_2O_5 y ZS-D) fueron las que mayores valores de azufre real presentaron.

Por DRX se pudo determinar que las muestras Nb_2O_5 y S- Nb_2O_5 presentaban estructura amorfa. Con respecto a las circonias sulfatadas, se encontró que las muestras con mayor contenido de azufre cristalizaron sólo en la forma tetragonal (ZS-C y ZS-D), mientras que las que presentaron menor contenido de azufre (ZS-A y ZS-B) coexistieron en distinta proporción las fases tetragonal y monoclinica.

El catalizador Nb_2O_5 fue el que presentó la mayor distribución de tamaños de partículas (entre 0,06 y 110 μm). Además, fue el único en el que se evidenciaron dos poblaciones de partículas de diferentes tamaños (0,15 y 16,8 μm). El resto de los catalizadores presentaron una distribución unimodal con tamaños de partícula entre 0,5 y 100 μm , aproximadamente.

Mediante la técnica de titulación potenciométrica con n-butilamina se determinó el número y la distribución de fuerza de los sitios ácidos presentes en los sólidos. En todos los casos se pudo observar que, al aumentar la temperatura de pretratamiento, la acidez superficial disminuía. Los valores de acidez variaron entre 0,74 y 1,79 meq n-bta/gcat, para las muestras de óxidos de niobio (con y sin sulfatación), y entre 0,99 y 2,27 meq n-bta/gcat para ZrO_2 y circonias sulfatadas. Mediante la técnica de IR se pudo determinar el porcentaje presente de sitios Lewis y Brönsted, encontrándose que la cantidad de sitios Brönsted disminuía al aumentar la temperatura de pretratamiento.

Se investigó la acidólisis de tripalmitina con ácido cáprico bajo las siguientes condiciones operacionales: temperatura = 180°C , relación molar inicial C:PPP = 4:1 y carga de catalizador = 4%. Mediante el los criterios de Carberry y Weisz-Prater se verificó

la ausencia de resistencias a la transferencia de masa externa e interna. Los catalizadores resultaron activos en la reacción investigada. A las 24 h de reacción, los valores de X_{PPP} fueron 32 y 36% para Nb_2O_5 y $S-Nb_2O_5$, 33% para ZrO_2 , 48% para ZS-A y ZS-D, y 37 y 44% para ZS-B y ZS-C, respectivamente. Para ese mismo tiempo de reacción las selectividades a PCC resultaron de 11,8% y 14% para Nb_2O_5 y $S-Nb_2O_5$, y entre 15 y 20% para las circonias sulfatadas. Mediante una cinética de pseudo segundo orden para la concentración de tripalmitina fue posible representar satisfactoriamente los datos experimentales.

Se encontró que existe una relación directa entre la densidad de los sitios ácidos del sólido y su actividad catalítica. Tanto los sitios ácidos de Brønsted como los de Lewis participan en la reacción, sin distinción en la fuerza ácida.

Se planteó un diseño experimental 2^3 , con el objetivo obtener un óptimo global para la reacción estudiada. Los valores experimentales fueron ajustados mediante regresión múltiple, y se obtuvieron los correspondientes modelos matemáticos para conversión y selectividad. Utilizando el catalizador ZS-D, las condiciones óptimas de operación encontradas (temperatura = 200°C, relación molar inicial C:PPP = 2:1 y carga de catalizador = 5%) permitieron duplicar el valor de conversión de PPP en 4 h de reacción (de 21 a 40%). Bajo esas mismas condiciones experimentales, se investigó la acidólisis de PPP con ácido caproico. El valor de conversión alcanzado a 4 h de reacción fue de 56,5%, y 76,5% a 72 h. Para ese tiempo de reacción, la selectividad a PCC fue 38,5%.

Se investigó el reúso de los catalizadores, con lavado intermedio de los sólidos con hexano y sin limpieza previa, lo que evita el uso de solventes. El estudio de estabilidad permitió determinar que el catalizador ZS-D puede ser usado, sin previo

acondicionamiento, en 10 ensayos consecutivos manteniendo el 95,5% de su actividad inicial. Se encontró que es difícil evitar perder catalizador en los sucesivos lavados, y que se debe asegurar un correcto contacto entre el sólido y los reactivos.

Por último, se investigaron las propiedades físicas de los TE sintetizados por combinación de tripalmitina con ácido cáprico y caproico. Previamente, los ácidos grasos libres remanente en la mezcla, fueron neutralizados con una solución alcalina, y separados. Los TE fueron caracterizados por DRX, DSC y RMN a fin de determinar las fases polimórficas y el contenido de grasa sólida e investigar los procesos de fusión y cristalización.

Para los tres casos estudiados (velocidades de enfriamiento de aproximadamente 4, 8 y 12°C/min), se encontró que la mezcla de PPC+PCC+PPP (Muestra 3) cristalizó en la forma β' . La mezcla PPC+PCC+PPP (Muestra 4) presentó diferente comportamiento, para la menor velocidad de enfriamiento se encontró la fase β' , y para los otros dos casos se obtuvieron estructuras en transición a una fase más estable.

Para las Muestra 3 y 4, el proceso de cristalización comenzó entre los 28-30°C y 26-29°C, respectivamente. Solo para la Muestra 3 se observaron dos picos de cristalización, pero el correspondiente a baja temperatura no pudo desarrollarse completamente debido a limitaciones del equipamiento utilizado. En el caso de los procesos de fusión, los picos se encontraron en 37,4; 47,5 y 57,7°C para la Muestra 3, y 24,1 y 58,4°C para la Muestra 4. En este último caso, no se pudo observar el pico correspondiente al triglicérido menor peso molecular, debido a las restricciones en el equipo usado. Los termogramas de fusión no fueron afectados por las diferentes velocidades de cristalización investigadas.

En términos generales, el desarrollo del presente trabajo permitió realizar un aporte en la exploración de nuevos TE alternativos a los comercialmente existentes. Se puede concluir que el desarrollo de triglicéridos estructurados constituye sin lugar a dudas un desafío tecnológico y nutricional.

7.2. *Trabajos a futuro*

En base a los resultados obtenidos durante el desarrollo de la presente tesis surgen los siguientes temas que ameritan continuar su investigación a futuro:

- Estudiar la sulfatación de circonia por el método de inmersión usando como fuente de sulfato H_2SO_4 con diferentes concentraciones, con el objetivo de aumentar el contenido de S y así analizar su efecto en la densidad de sitios ácidos superficiales de los sólidos resultantes.
- Profundizar el estudio cinético de la reacción de acidólisis, considerando la adsorción de los reactivos a la luz de los datos experimentales encontrados en el *Capítulo 5*.
- Separar PPP de las Muestras 3 y 4 sintetizadas en el *Capítulo 6* (por destilación molecular) y caracterizar las mezclas de TE resultantes.
- Investigar la factibilidad de sintetizar TE mediante la reacción de acidólisis empleando un ácido graso de cadena larga y un triglicérido que contenga ácidos grasos de cadena corta o media.

ANEXOS

Anexo A: Materiales

A.1. Reactivos

- *Tripalmitina (PPP) ($C_{51}H_{98}O_6$), 95% de pureza, Fluka.
- *Ácido cáprico o ácido decanoico (C) ($C_{10}H_{20}O_2$), > 98% de pureza, Fluka.
- *Ácido caproico o ácido hexanoico (C) ($C_6H_{12}O_2$), 99,5% de pureza, Aldrich.

A.2. Solventes y Drogas

- * Ácido Sulfúrico (H_2SO_4), 98% de pureza, Anedra.
- * Sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$), 99,5% de pureza, Anedra.
- * Cloruro de circonilo octahidratado ($ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$), 99,5 %, Riedel-de Haën.
- * Nitrato de plata ($AgNO_3$), pro análisis, Merck.
- * Hidróxido de amonio (NH_4OH), Cicarelli.
- * Di-iso-propil-eter ($[(CH_3)_2CH]_2O$), 99% de pureza, Merck.
- * n-Hexano (C_6H_{14}), Cicarelli.
- * n-Heptano (C_7H_{16}), 95% de pureza, Aberkon.
- * Piridina (C_5H_5N), 99,7% de pureza, Anedra.
- * Bromuro de potasio (KBr), 99% de pureza, Sigma Aldrich.
- * Acetonitrilo (CH_3CN), 99,5% de pureza, Aberkon.
- * n-butilamina ($CH_3(CH_2)_3NH_2$), 99,8% de pureza, Anedra.

A.3. Gases

- * Hidrógeno (H₂) (Gas carrier).
- * Nitrógeno de línea (N₂).
- * Aire, calidad cromatográfica.

A.4. Estándares cromatográficos

- * Tricaprilina o trioctanoin (OOO) (C₂₇H₅₀O₆), >99% de pureza, Sigma.
- * Tricaprina o tridecanoin (CCC) (C₃₃H₆₂O₆), 99% de pureza, Sigma-Aldrich.
- * Trilaurina o tridodecanoin (LLL) (C₃₉H₇₄O₆), 99% de pureza, Sigma-Aldrich.
- * Trimiristina (MMM) (C₄₅H₈₆O₆), 99% de pureza, Sigma-Aldrich.

A.5. Catalizadores comerciales

- * Óxido de Niobio Hidratado HY-340 (Nb₂O₅), de Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineracao (CBMM).

Anexo B: Resultados de reacción obtenidos en el Capítulo 4

Tal como se comentó en las *Secciones 4.5 y 4.7 del Capítulo 4*, en este anexo se presentan en detalle los valores numéricos presentados en los gráficos de dichas secciones.

En la *Tabla B.1.* se muestran los valores de conversión de PPP y selectividades a TE obtenidos cuando la reacción es llevada a cabo sin catalizador. Estos datos son los presentados en *Figuras 4.6 y 4.7.*

Tabla B.1. Conversión de PPP y selectividades a PPC y PCC en la reacción de acidólisis en ausencia de catalizador, a distintos tiempos de reacción.

Catalizador	Tiempo [h]	4	24	48	72
	X_{PPP}	4,4	23,2	36,0	40,9
Sin cat.	S_{PPC}	98,1	92,2	88,0	84,0
	S_{PCC}	1,9	7,8	12,0	16,0

Por su parte, la *Tabla B.2* presenta los valores numéricos correspondientes a X_{PPP} , S_{PPC} y S_{PCC} , exhibidos en las *Figuras 4.8 a 4.13*, para los distintos catalizadores pretratados a 40°C. Además, en la *Tabla B.3* se reportan los valores presentados en las *Figura 4.14*, los que corresponden a X_{PPP} y selectividades a ambos TE para el sólido ZS-D para tiempos de reacción mayores a 24 h.

Tabla B.2. Conversión de PPP y selectividades a PPC y PCC en la reacción de acidólisis, para catalizadores pretratados a 40°C.

Catalizador	Tiempo [h]	4	8	12	16	20	24
Nb₂O₅	X _{PPP}	11,9	20,1	22,6	29,0	30,3	31,8
	S _{PPC}	96,6	93,4	92,2	88,2	89,9	88,2
	S _{PCC}	3,4	6,6	7,8	11,9	10,1	11,8
S-Nb₂O₅	X _{PPP}	15,2	20,2	28,0	34,1	34,4	35,5
	S _{PPC}	94,7	92,9	90,4	87,5	87,7	86,0
	S _{PCC}	5,3	7,1	9,6	12,5	12,3	14,0
ZS-A	X _{PPP}	25,1	29,6	32,0	38,4	41,4	47,5
	S _{PPC}	92,9	90,6	88,5	84,6	83,4	80,1
	S _{PCC}	7,1	9,1	11,6	15,4	16,6	19,9
ZS-B	X _{PPP}	17,7	23,3	24,8	27,9	34,3	37,2
	S _{PPC}	94,6	93,0	91,2	87,7	85,9	85,2
	S _{PCC}	5,4	7,0	8,8	12,4	14,1	14,8
ZS-C	X _{PPP}	17,0	26,7	27,9	34,5	40,0	44,0
	S _{PPC}	93,4	92,4	89,9	87,3	83,9	83,2
	S _{PCC}	6,6	7,6	10,1	12,7	16,1	16,8
ZS-D	X _{PPP}	21,1	27,4	29,3	38,8	41,8	47,8
	S _{PPC}	93,2	91,2	88,7	85,4	84,5	81,8
	S _{PCC}	6,8	8,8	11,3	14,6	15,5	18,2

Tabla B.3. Conversión de PPP y selectividades a PPC y PCC en la reacción de acidólisis, catalizada por ZS-D.

Catalizador	Tiempo [h]	48	72
ZS-D	X _{PPP}	70,0	73,7
	S _{PPC}	68,8	65,0
	S _{PCC}	31,2	35,0

Por último, en la *Tabla B.4.* se muestran los valores de X_{PPP} a 4 y 20 h, al aplicar distintos pretratamientos a los catalizadores. Estos valores son los presentados en las *Figuras 4.16 y 4.17.*

Tabla B.4. Conversión de PPP a 4 y 20 h en la reacción de acidólisis, para diferentes pretratamientos de los catalizadores.

Catalizador	X_{PPP} a 4 h		X_{PPP} a 20 h	
	Pretratamiento a 40°C	Pretratamiento a 400°C	Pretratamiento a 40°C	Pretratamiento a 400°C
Nb ₂ O ₅	11,9	6,4	30,3	27,2
S-Nb ₂ O ₅	15,2	6,9	34,4	23,7
ZS-A	25,1	14,7	41,4	35,9
ZS-B	17,7	9,0	34,3	27,8
ZS-C	17,0	7,1	40,0	29,5
ZS-D	21,1	6,8	41,8	31,5

Anexo C: Reactivos y productos empleados en reacciones del Capítulo 6

En este anexo se muestran en detalle las masas iniciales de reactivos y catalizador, empleados en las distintas reacciones llevadas a cabo en el *Capítulo 6* para obtener las mezclas de triglicéridos denominadas Muestras 3 y 4. Además, se presentan los valores para las masas de productos y PPP sin reaccionar, obtenidas después de realizar la separación descrita en la *Sección 6.3*.

Como se explicó, la cantidad de productos de reacción obtenidos para llevar a cabo las caracterizaciones físicas de las grasas debía ser suficiente para realizar los test, razón por la cual se realizaron varios lotes. En las *Tablas C.1* y *C.2* se muestran los datos para la reacción de acidólisis de PPP con C y \mathcal{C} , respectivamente. Para la reacción PPP con C se emplearon 3 viales distintos (1, 2 y 3). La masa total de triglicéridos obtenida luego de la separación fue de ~ 6,8 g. En el caso de la reacción PPP con \mathcal{C} , se emplearon 4 viales distintos (4, 5, 6 y 7) lográndose obtener ~ 3,5 g de triglicéridos totales. La diferencia en los rendimientos se debió a la pérdida de masa en los sucesivos lavados realizados durante la separación de los ácidos grasos. Además, en las tablas se presentan las concentraciones de cada triglicérido que componen las Muestras 3 y 4.

Tabla C.1. Masas iniciales y finales de reactivos, productos y catalizador, empleados en la acidólisis de PPP con C.

Estado	Especie	Masas			Concentración	
		Vial 1 [mg]	Vial 2 [mg]	Vial 3 [mg]	Muestra 3 [mg]	Muestra 3 [%]
Inicial	PPP	2.000,6	2.007,8	8.002,0		
	C	855,6	855,9	3.422,1		
	Cat	100,1	102,8	401,1		
Final	PPP	204,1	268,2	1.270,6	1.742,9	25,4
	PPC	382,4	510,5	2.483,5	3.376,4	49,2
	PCC	201,5	268,9	1.268,1	1.738,5	25,4
	Triglicéridos Finales totales	788,0	1.047,6	5.022,2	6.857,8	100

Tabla C.2. Masas iniciales y finales de reactivos, productos y catalizador, empleados en la acidólisis de PPP con C.

Estado	Especie	Masas				Concentración	
		Vial 4 [mg]	Vial 5 [mg]	Vial 6 [mg]	Vial 7 [mg]	Muestra 4 [mg]	Muestra 4 [%]
Inicial	PPP	4.020,9	2.010,5	2.009,7	2.010,6		
	C	1.355,2	579,4	584,0	585,9		
	Cat	200,3	100,4	100,7	100,2		
Final	PPP	301,7	233,1	257,5	170,0	962,3	27,6
	PPC	623,2	430,3	341,0	245,7	1.640,2	47,0
	PCC	375,5	206,3	172,5	131,1	885,4	25,4
	Triglicéridos Finales totales	1.300,4	869,7	771,0	546,8	3.487,9	100

Tal como se describió en el *Capítulo 6*, luego de realizada la neutralización de la mezcla de reacción, no se detectaron ácidos grasos libres remanentes en la mezcla de triglicéridos ya que los mismos fueron transformados en carboxilatos de potasio y separados.

En las *Figuras C.1* y *C.2* se presentan los cromatogramas correspondientes a la mezcla de reacción a tiempo final para la acidólisis de PPP con C y \mathcal{C} , respectivamente. En cada figura se comparan cromatogramas para las mezclas de reacción antes (*a*) y después de realizar la separación de los ácidos grasos libres (*b*). Notar que en el primer caso se observa la presencia de ácidos grasos libres, productos y reactivos sin reaccionar, mientras que, en el segundo cromatograma, la totalidad de los ácidos grasos libres fue eliminada.

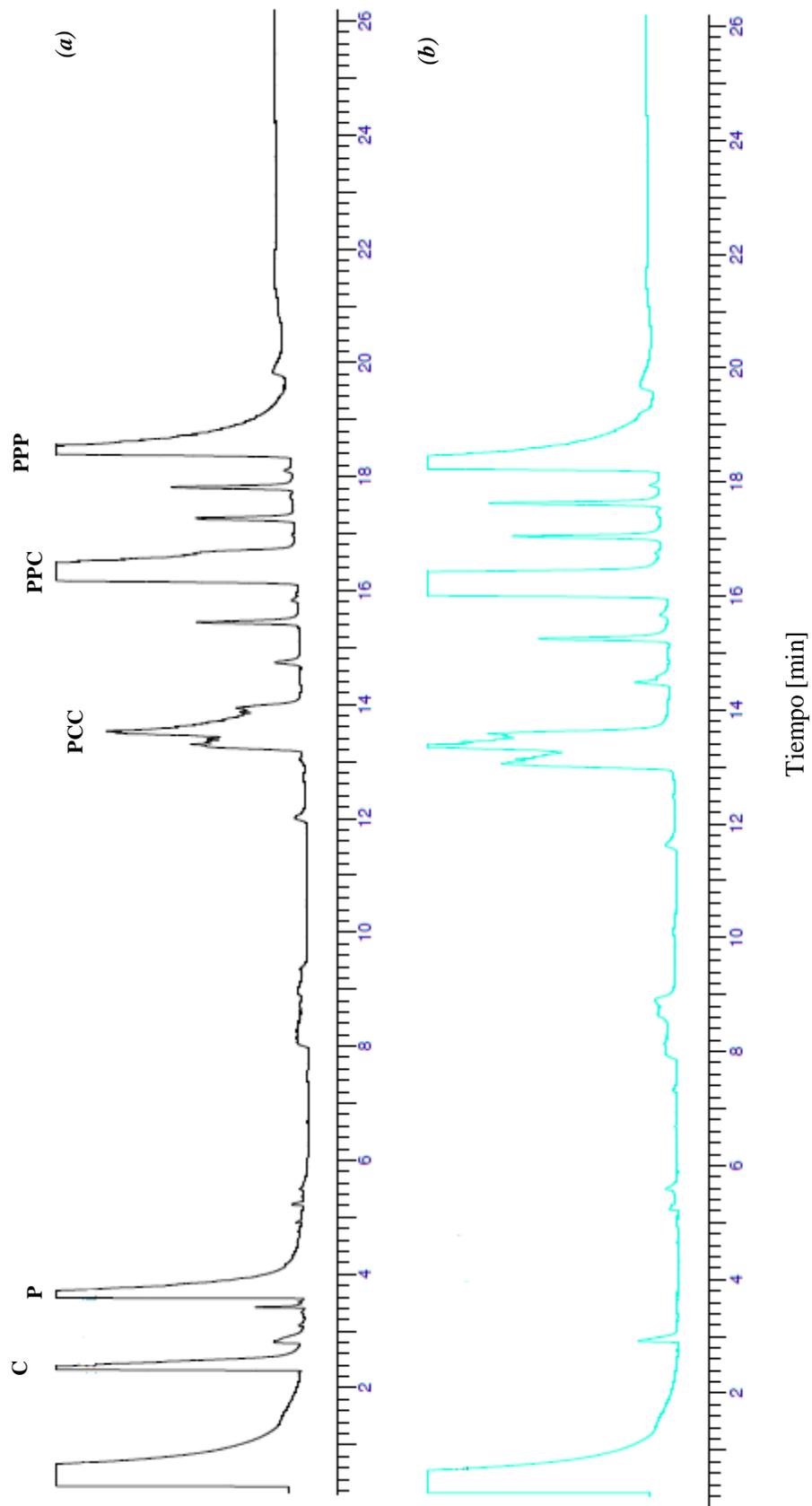


Figura C.1. Cromatograma de productos y reactivos en la acidólisis de tripalmitina (PPP) con ácido cáprico (C) después de reacción (a), después de realizar la separación (b).

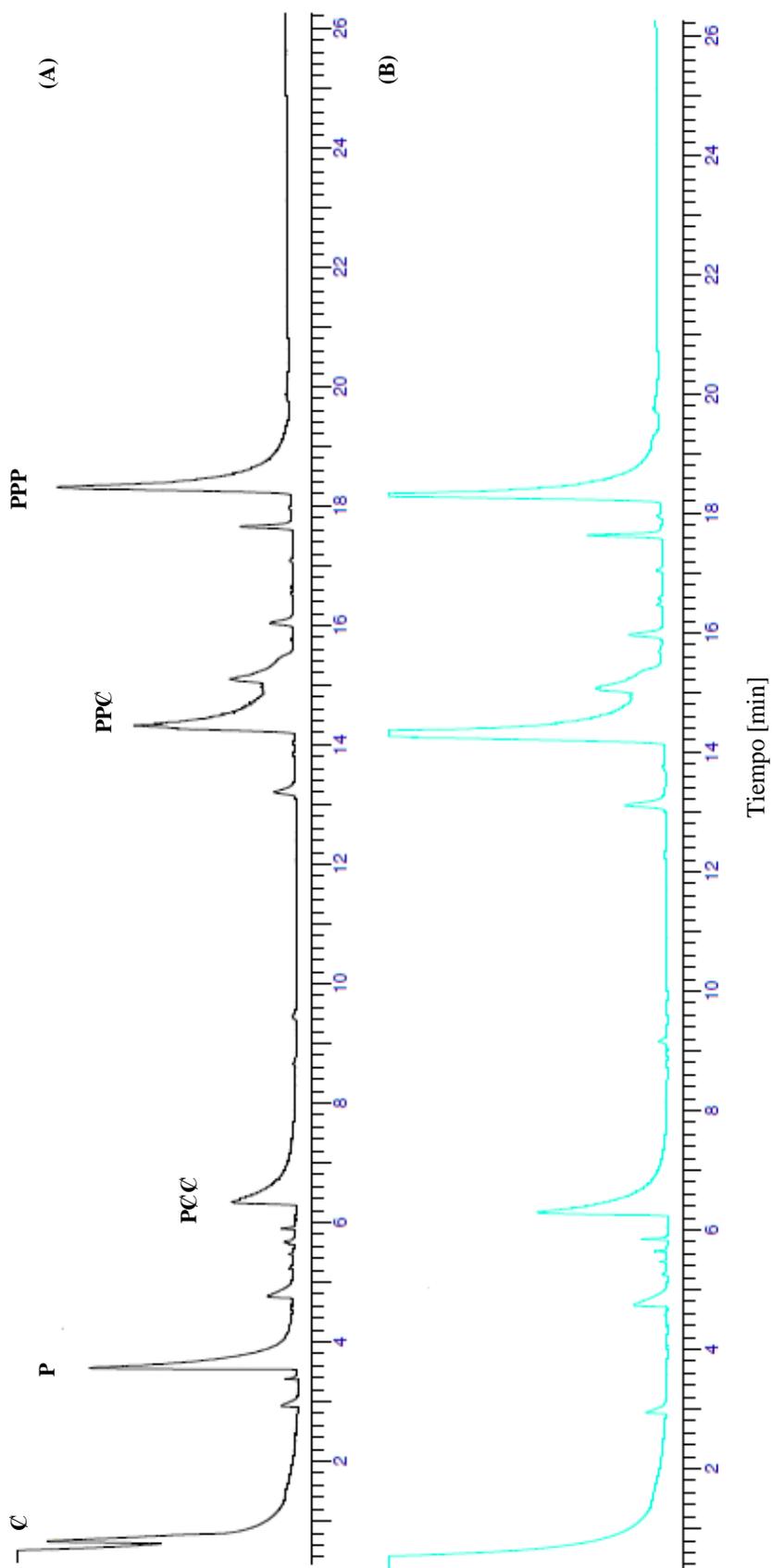


Figura D.2. Cromatograma de productos y reactivos en la acidólisis de tripalmitina (PPP) con ácido caproico (C) después de reacción (A), después de realizar la separación (B).