

ESTUDO COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO

LIPÍDICA DO MILHO HÍBRIDO

NUTRIMAIZ COM AS CULTIVARES GENITORAS

12/92

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

ENGENHARIA DE ALIMENTOS

ESTUDO COMPARATIVO DA COMPOSIÇÃO

LIPÍDICA DO MILHO HÍBRIDO

NUTRIMAIZ COM AS CULTIVARES GENITORAS

Parecer
Este exemplar corresponde a redação final da tese defendida por Roseli Aparecida Ferrari e aprovada pela Comissão Julgadora em
25.03.92.

ROSELI APARECIDA FERRARI 4102

Bióloga

PROF. DR. WALTER ESTEVES †

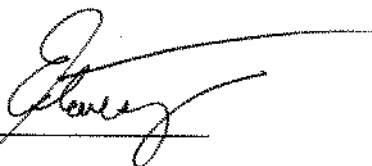
Orientador

Tese apresentada a Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP para a obtenção do título de Mestre em tecnologia de Alimentos.

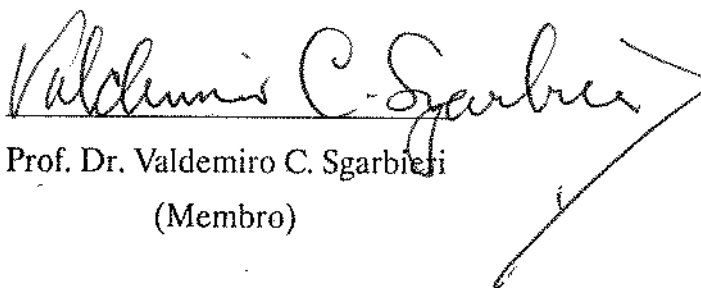
Campinas - 1992

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

BANCA EXAMINADORA



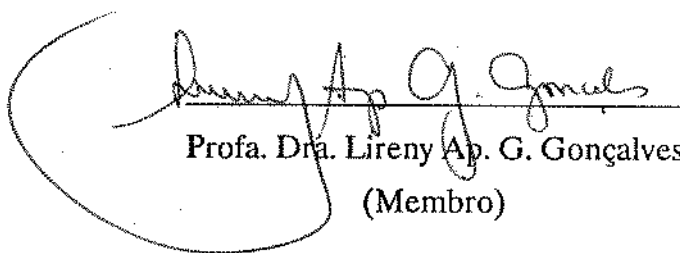
Prof. Dr. Walter Esteves
(Orientador)



Prof. Dr. Valdemiro C. Sgarbieri
(Membro)



Profa. Dra. Délia R. Amaya
(Membro)



Profa. Dra. Lireny Ap. G. Gonçalves
(Membro)

Campinas, 25 de março de 1992.

A meus pais e irmãos

pelo amor e incentivo

AGRADECIMENTOS

Desejo expressar meus sinceros agradecimentos:

- Ao Professor Dr. Walter Esteves pela orientação e apoio dedicados a este trabalho.
- Aos Professores Daniel Barrera-Arellano e Lireny Ap. G. Gonçalves pelo auxílio sempre presente.
- Ao Professor Gerhard Fred Plonis (in memoriam) pela valiosa contribuição.
- Ao Professor William J. da Silva pelo interesse constante e oportuno fornecimento das amostras de milho empregadas na presente pesquisa.
- A Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp pela oportunidade da realização do mestrado.
- Ao projeto GTZ (Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit) da RFA, pelos equipamentos e reagentes fornecidos para a realização deste trabalho.
- Aos queridos amigos Renato, Rosana, Luna, Ana Maria, Rosemar, Rachel, Jane, Teresa, Angela, Renata, enfim todos que conviveram comigo no laboratório durante todo este percurso.
- Ao Ivan pela valiosa colaboração na impressão deste trabalho.
- Ao Queiroz pelo texto em inglês.

- Ao pessoal da biblioteca da FEA pela atenção e em especial à Creusa pela correção das referências bibliográficas.
- À ABIA, Associação Brasileira das Indústrias da Alimentação, pelo valioso apoio na impressão das cópias necessárias a apresentação desta tese.
- A todos que de uma forma ou de outra me apoiaram e me incentivaram durante este trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	I
SUMMARY	III
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Produção e consumo de milho	2
2.1.1. Produção	2
2.1.2. Consumo	3
a) Formas de consumo	4
2.2. Composição química e valor nutricional do milho	4
2.2.1. Milho Normal	4
2.2.2. Milho Opaco e Pajimaca	6
2.2.3. Nutrimaiz	7
2.2.4. Dados comparativos da composição centesimal das variedades de milho Nutrimaiz, Pajimaca, Opaco e Normal	7
2.3. Lipídios do milho	8

2.3.1. Extração	8
2.3.2. Características	11
a) Ácidos graxos	12
b) Triglicerídios	13
c) Constituintes menores	19
c.1) Fosfolipídios	19
c.2) Glicolipídios	21
c.3) Esteróis	22
c.4) Tocoferóis e Tocotrienóis	23
c.5) Carotenóides	24
c.6) Outros constituintes	25
a) Álcoois triterpênicos	25
b) Metil esteróis	26
c) Ceras	26
2.4. Emprego de técnicas de TLC/FID para a separação e quantificação de classes de lipídios	26

2.5. Emprego de técnica estatística para identificação e quantificação de tri glicerídios separados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	34
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Material	39
3.1.1. Matéria-prima	39
3.1.2. Reagentes	39
3.1.3. Instrumental	39
3.2. Métodos	40
3.2.1. Extração dos lipídios	40
a) Pré-tratamento da matéria prima	40
b) Extração com éter de petróleo (Soxhlet)	41
c) Extração com clorofórmio/metanol (2:1)	41
d) Degerminação	41
3.2.2. Métodos Analíticos	41
a) Teor de umidade	41
b) Porcentagem de lipídios	41
c) Índice de refração	42

d) Matéria insaponificável	42
e) Índice de saponificação	42
f) Índice de iodo	42
g) Determinação de cor	42
h) Porcentagem de fósforo	42
i) Composição em ácidos graxos	42
j) Tocoferóis totais.....	43
k) Composição triglicéridica	43
l) Teor de carotenóides	44
m) Composição em esteróis	44
n) Separação e quantificação de classes de lipídios através de técnica de TLC- FID	45
3.2.3. Método estatístico	47
a) Emprego de Técnicas estatísticas para identificação e quantifica- ção de triglicéridios separados por CLAE	47
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4.1. Características das amostras de milho	48
4.1.1. Teor de umidade do milho recebido e da farinha obtida	48

a) do milho	48
b) da farinha de milho integral após tratamento térmico	49
4.2. Rendimento de germe nas 4 variedades de milho	50
4.3. Teor de lipídios	51
a) na farinha de milho integral	51
b) no germe	52
4.4. Características do componente lipídico	53
4.4.1. Índice de refração	53
4.4.2. Índice de saponificação	54
4.4.3. Índice de iodo	55
4.4.4. Teor de matéria insaponificável	56
4.4.5. Teor de carotenóides	57
4.4.6. Cor	58
4.4.7. Porcentagem de fósforo e fosfatídios	59
4.4.8. Dados comparativos da composição em ácidos graxos.	60
a) lipídios da farinha de milho integral	60
b) lipídios do germe de milho	61

4.4.9. Composição triglicéridica	64
4.4.10. Teor de tocoferóis	91
4.4.11. Composição em esteróis	91
4.4.12. Classes de lipídios	92
5. CONCLUSÕES	100
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	102

ÍNDICE DE TABELAS

Página

TABELA 1. Composição centesimal de 4 cultivares de milho 60 dias após polinização	8
TABELA 2. Porcentagem de lipídios das variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz	11
TABELA 3. Características do óleo de milho (SWERN, 1979)	11
TABELA 4. Composição em ácidos graxos da fração lipídica de 4 variedades de milho	13
TABELA 5. Estrutura triglicéridica do óleo de milho (SWERN, 1979)	18
TABELA 6. Composição triglicéridica do óleo de milho (GUNSTONE et alii, 1965)	19
TABELA 7. Teor de fosfolipídios em quatro cultivares de milho (SGARBIERI et alii, 1982)	20
TABELA 8. Fosfolipídios do milho (WEBER, 1978)	21
TABELA 9. Teor de glicolipídios na fração lipídica de 4 cultivares de milho 60 dias após polinização (SGARBIERI et alii, 1982)	21
TABELA 10. Glicolipídios do milho (WEBER, 1978).	22
TABELA 11. Composição em esteróis do óleo de milho	23

TABELA 12. Concentração de tocoferóis e de vitamina E em quatro cultivares de milho aos 60 dias após polinização (SGARBIERI et alii, 1982)	24
TABELA 13. Concentração de carotenóides em 4 cultivares de milho (SGARBIERI et alii, 1982)	25
TABELA 14. Composição em álcoois triterpênicos do óleo de germe de milho	25
TABELA 15. Metil esteróis do óleo de milho	26
TABELA 16. Teor de umidade das 4 variedades de milho recebidas do Instituto de Biologia da Unicamp	48
TABELA 17. Teor de umidade da farinha integral das 4 variedades de milho após tratamento térmico	50
TABELA 18. Rendimento em germe nas 4 variedades de milho	50
TABELA 19. Porcentagem de lipídios livres e ligados na farinha de milho integral	51
TABELA 20. Porcentagem de lipídios livres e ligados no germe das 4 variedades de milho.	53
TABELA 21. Índice de refração dos lipídios das 4 variedades de milho.	54
TABELA 22. Índice de saponificação em lipídios das 4 variedades de milho .	55
TABELA 23. Índice de iodo dos lipídios das 4 variedades de milho	56

TABELA 24. Porcentagem de matéria insaponificável em lipídios das 4 variedades da milho.	57
TABELA 25. Teor de carotenóides das 4 variedades de milho expressos como zeaxantina	58
TABELA 26. Cor do óleo das 4 variedades de milho determinado por método espectrofotométrico	59
TABELA 27. Porcentagem de fósforo e fosfatídios dos lipídios das 4 variedades de milho analisadas	59
TABELA 28. Composição em ácidos graxos dos lipídios totais do milho das 4 variedades estudadas	60
TABELA 29. Composição em ácidos graxos dos lipídios totais do germe das 4 variedades de milho	61
TABELA 30. Composição em ácidos graxos das 4 variedades de milho, porcentagem em peso e porcentagem molar	69
TABELA 31. Abreviaturas dos ácidos graxos presentes nos triglicerídios	69
TABELA 32. Composição triglicerídica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Normal	71
TABELA 33. Composição triglicerídica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Opaco	72
TABELA 34. Composição triglicerídica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Pajimaca	73

- TABELA 35. Composição triglicéridica calculada segundo distribuição “Random” para o óleo de milho da variedade Nutrimaiz 74
- TABELA 36. Composição triglicéridica calculada segundo distribuição “1,3-Random 2- Random” para o óleo de milho da variedade Normal 75
- TABELA 37. Composição triglicéridica calculada segundo distribuição “1,3-Random 2- Random” para o óleo de milho da variedade Opaco 76
- TABELA 38. Composição triglicéridica calculada segundo distribuição “1,3-Random 2- Random” para o óleo de milho da variedade Pajimaca 77
- TABELA 39. Composição triglicéridica calculada segundo distribuição “1,3-Random 2- Random” para o óleo de milho da variedade Nutrimaiz 78
- TABELA 40. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição “Random” e obtida por CLAE do óleo de milho Normal .. 79
- TABELA 41. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição “Random” e obtida por CLAE do óleo de milho Opaco ... 80
- TABELA 42. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição “Random” e obtida por CLAE do óleo de milho Pajimaca . 81
- TABELA 43. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição “Random” e obtida por CLAE do óleo de milho Nutrimaiz 82

TABELA 44. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3- Random2- Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Normal	83
TABELA 45. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3- Random 2- Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Opaco	84
TABELA 46. Composição triglicéridica (mol %) calculada segundo distribuição "1,3- Random 2- Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Pajimaca	85
TABELA 47. Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3- Random 2- Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Nutrimaiz	86
TABELA 48. Teor de tocoferóis das 4 variedades de milho	91
TABELA 49. Composição em esteróis das 4 variedades de milho	92
TABELA 50. Tempo de retenção e fator de resposta de padrões em análise de classes de lipídios realizada em Iatroscan	94
TABELA 51. Composição em classes de lipídios das 4 variedades de milho estudadas	94
TABELA 52. Tempo de retenção e fator de resposta do detector para padrões de fosfolipídios	97
TABELA 53. Composição fosfolipídica das 4 variedades de milho	97

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Teor de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados para óleo obtido da farinha de milho integral das variedades Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz	62
FIGURA 2. Teor de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados para óleo obtido do germe de milho das variedades Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz	63
FIGURA 3. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica de óleo da variedade de milho Normal	65
FIGURA 4. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica de óleo da variedade de milho Opaco	66
FIGURA 5. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica de óleo da variedade de milho Pajimaca	67
FIGURA 6. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica de óleo da variedade de milho Nutrimaiz	68
FIGURA 7. Porcentagem de triglicéridios calculados segundo distribuição "Random" e "1,3 -Random 2- Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Normal	87
FIGURA 8. Porcentagem de triglicéridios calculados segundo distribuição "Random" e "1,3 -Random 2- Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Opaco	88

- FIGURA 9. Porcentagem de triglicerídios calculados segundo distribuição “Random” e “1,3 -Random 2- Random” e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Pajimaca 89
- FIGURA 10. Porcentagem de triglicerídios calculados segundo distribuição “Random” e “1,3 -Random 2- Random” e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Nutrimaiz 90
- FIGURA 11. Distribuição das classes de lipídios no grão de milho 93
- FIGURA 12. Cromatogramas de classes de lipídios obtidos em Iatroscan para as variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz . 95
- FIGURA 13. Cromatogramas (TLC-FID) dos fosfolipídios das quatro variedades de milho 98

RESUMO

Tendo em vista que a cultura do milho tem grande importância econômica e que o óleo pode ser considerado uma fração nobre deste cereal, a composição lipídica de uma nova cultivar de milho, duplo mutante denominada Nutrimaiz, foi estudada comparativamente em relação aos seus progenitores Opaco e Pajimaca, bem como em relação ao milho Normal.

Os lipídios foram extraídos da farinha de milho integral. As variedades Nutrimaiz e Pajimaca apresentaram teores mais elevados de lipídios em relação as demais.

Determinou-se na fração lipídica de cada variedade os índices de refração, iodo, saponificação, teor de matéria insaponificável, tocoferóis totais, carotenóides, porcentagem de fósforo e fosfolipídios, cor, composição em ácidos graxos. A composição triglicéridica foi determinada através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por dois métodos estatísticos de cálculo, "Random" e "1,3-Random 2-Random". Efetuou-se ainda a separação, identificação e quantificação de classes de lipídios através de TLC-FID das quatro variedades, técnica esta rápida, de relativa simplicidade e de fácil quantificação.

As variedades estudadas apresentaram índice de refração na faixa de 1,4703 e 1,4710 e o teor de matéria insaponificável compreendido entre 3,07 e 4,72%, sendo que o Nutrimaiz apresentou o menor valor em ambos os casos. O índice de saponificação encontrado variou de 187,01 a 190,55 mg de KOH/100g de amostra, onde o Nutrimaiz situou-se com valor muito próximo ao do seu progenitor Pajimaca, 189.91. O índice de iodo variou entre 119,28 e 122,57 gI₂/100g de amostra, com a variedade Nutrimaiz apresentando o valor de 120,70. A cor esteve na faixa de 101 a 551 e os teores de carotenóides na faixa de 23,62 a 36,17 ppm com o Nutrimaiz apresentando um valor intermediário em ambos os casos, de 216 para a cor e 30,00 ppm para os carotenóides. As porcentagens de fósforo se mantiveram entre 0,0866 e 0,0950 sendo que o Nutrimaiz apresentou o maior valor. Quanto aos teores de ácidos graxos saturados, o Nutrimaiz apresentou teor próximo da variedade Opaco, enquanto que o teor de monoinsaturados foi similar à variedade Pajimaca. No entanto, para o teor de polinsaturados, o Nutrimaiz

apresentou valor médio entre o Opaco e o Pajimaca. β sitosterol foi o esterol predominante nas quatro variedades, sendo que o Nutrimaiz apresentou o menor teor desse esterol dentre as variedades analisadas.

Quanto ao perfil de triglicerídios, observa-se que a expectativa estatística, seja levando em conta uma distribuição "Random", quer considerando uma distribuição "1,3-Random 2- Random", se aproxima com boa correlação dos resultados experimentais obtidos por CLAE. Em todos os casos o triglicerídio predominante é o oleoilidilinoleína (OLILI), prevalecendo os insaturados. A variedade Nutrimaiz apresentou um teor de triglicerídios saturados inferior ao encontrado em seus progenitores.

Nas quatro variedades houve predominância de fosfatidilcolina, sendo que o teor deste fosfolípido no híbrido Nutrimaiz foi detectado muito próximo do nível existente na variedade Pajimaca.

SUMMARY

Considering that maize cultivation has a big economical importance and that the oil can be considered a noble component of this cereal, the lipid composition of a new maize cultivar, a double mutant denominated Nutrimaiz, had been studied comparatively to its progenitors Opaque and Piramex, as well as in relation to normal maize.

The lipids were extracted from integral maize kernel flour. The varieties Nutrimaiz and Piramex presented higher lipid contents than the Opaque and Normal corn.

In the lipid fraction of each variety following properties were determined: refractive, iodine, saponification indexes; The percentages of unsaponifiable matter, total tocopherols, carotenoids, phosphorus and phospholipids; colour and composition in fatty acids. The triglyceride composition was determined by means of high efficiency liquid chromatography (HPLC) and by two statistical calculation methods, "Random" and 1,3-Random 2-Random. The separation, identification and quantification of the lipid classes were also accomplished by means of TLC-FID, a fast, relatively simple and of easy quantification technique.

The varieties studied presented a refractive index in the range of 1.4703 and 1.4710 and the unsaponifiable matter content ranged from 3.07 and 4.72%, with Nutrimaiz presenting the lower value in both instances. The saponification index ranged from 187.01 to 190.55mg of KOH/100g of sample; Nutrimaiz's value, 189.91, was very close to that of its progenitor Piramex. The iodine index ranged from 119.28 to 122.57 glz/100g of sample, with the variety Nutrimaiz presenting the value of 120.70. The colour ranged from 101 to 551 and the carotenoid content from 23.62 to 36.17ppm, with Nutrimaiz presenting an intermediate value in both cases, 216 for colour and 30.00 ppm for the carotenoids. The phosphorous percentage varied from 0.0866 to 0.0950 and Nutrimaiz presented the highest value. As to the saturated fatty acids, Nutrimaiz's content was close to that of the variety Opaque; monoinsaturated acid level was similar to that of the variety Piramex. The polyunsaturated content of Nutrimaiz, however, was situated between those of the Opaque and the Piramex. β sitosterol was the prevailing esterol in all four varieties, and Nutrimaiz presented the lowest content of this esterol among the varieties analysed.

As to the triglyceride profile, it was noticed that the statistical expectation, either considering a Random distribution or a "1-3-Random 2-Random" distribution, approached the experimental results obtained by HPLC with a good correlation . In all cases the prevailing triglyceride is the oleoildilinolein (OLILI), with a predominance of the unsaturated. The variety Nutrimaiz presented a content of saturated triglyceride inferior to that found in its progenitors.

In all four varieties there was a predominance of fostatidilcolin, and the content of this fosfolipid in the hybrid Nutrimaiz was very close to that found in the variety Piramex.

1. INTRODUÇÃO

O milho vem desempenhando, através dos tempos, um papel importante na alimentação do homem, tendo constituído a dieta básica de várias civilizações como a dos Incas, dos Mayas e dos Astecas. Atualmente, este cereal é muito difundido, e sua aceitação se deve principalmente ao fácil cultivo e ao bom rendimento, além do que o milho é capaz de desenvolver-se em diferentes regiões e sob condições bastante adversas. É considerado o cereal que maior número de produtos industrializados apresenta, sendo largamente empregado na alimentação humana e animal, devido ao seu alto conteúdo de carboidratos, principalmente amido, e a presença de outros nutrientes como proteínas, lipídios e vitaminas. Energia é obviamente um requerimento nutricional muito importante e esta é uma das razões pela qual o milho é largamente empregado na alimentação. O significativo aporte energético que o milho proporciona decorre, de um lado, do elevado teor de amido facilmente digerível, de outro, pelo baixo custo. Isso o coloca à frente de todos os outros cereais.

A importância deste cereal não se restringe apenas à grande produção mundial, mas também ao papel sócio-econômico que representa. Constitui-se numa matéria-prima básica, de inestimável valor, para uma expressiva série de produtos industrializados, movimentando grandes complexos industriais onde milhares de empregos são gerados.

O Brasil, ocupa uma posição de destaque no cenário mundial em termos de produção de milho, detentor de aproximadamente 4,5% da produção global (terceira maior produção de acordo com a FAO, 1986). Contudo, o milho é ainda pouco consumido pela população brasileira, sendo sua utilização bem mais expressiva na alimentação animal. Entretanto, o milho é uma das culturas que vêm sendo muito estudada recentemente, tanto do ponto de vista de sua constituição genética, quanto de sua composição química e valor nutricional. A importância dessa cultura tem motivado a realização de pesquisas que visam a obtenção de cultivares que apresentem maior rendimento por área plantada, maior rendimento de grãos em relação ao ráquis (sabugo), maior resistência ao ataque de pragas e doenças, além de valores nutricionais mais elevados.

As pesquisas sobre melhoramento genético da qualidade nutritiva do milho foram intensificadas a partir da descoberta de genes que afetam a síntese de proteínas no endosperma das sementes, genes estes capazes de aumentar os teores de lisina e triptofano no grão.

Existe também uma preocupação em se obter cultivares que possuam altos teores de açúcares solúveis no endosperma do grão.

A combinação de mutantes que alteram a composição da proteína, com aqueles que modificam a composição de carboidratos se potencializam, num efeito sinérgico, resultando no incremento do valor nutricional, representado por um aumento ainda maior nos teores de lisina e triptofano, associado ao benefício determinado pela presença de polissacarídeos e açúcares solúveis (MISRA et alii, 1975; SILVA et alii, 1978).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo comparativo da composição lipídica de uma nova cultivar de milho, o Nutrimaiz, com a dos seus progenitores Opaco e Pajimaca, e a do milho comum, visando conhecer até que extensão mudanças no componente lipídico foram causadas pela influência dos genitores.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Produção e consumo de milho

O milho (*Zea mays*, Linneus) está classificado como uma planta monocotiledônea, monóica, pertencente a família das gramíneas (INGLETT, 1970a; MINISTÉRIO DO INTERIOR, 1974). Considera-se este cereal como originário do México e da América Central, tendo sido um alimento básico das antigas civilizações Maya, Azteca e Inca, que povoaram o hemisfério ocidental (INGLETT, 1970b; FANCELLI, 1981).

2.1.1. Produção

Atualmente, o milho constitui-se num dos mais importantes cereais cultivados no mundo, sendo suplantado em produção apenas pelo trigo e arroz (ROSENTHAL, 1988).

A produção mundial da safra 1990/91 (ano comercial de outubro/90 a setembro/91) deverá atingir 470,4 milhões de toneladas, com incremento de 2,2% em relação à temporada anterior, de acordo com previsões do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), divulgada em 10/08/90.

A produção brasileira de milho na safra 1989/90, foi prevista pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em junho, em 22 milhões de toneladas, sendo a região centro-sul do país responsável por 92% da colheita nacional. Embora não seja possível quantificar, pode-se prever no momento uma expansão na área plantada de milho em toda a região centro-sul, inclusive em São Paulo. A previsão do governo, de aumento de 14% da produção em relação à safra 1989/90 (22 milhões de toneladas), significa um volume a ser colhido de 25 milhões de toneladas, segundo as informações econômicas do Prognóstico Agrícola 1990/91 do governo do estado de São Paulo, de 1990.

O Brasil, apesar da elevada produção, apresenta baixo índice de produtividade agrícola, mas é a cultura mais extensamente cultivada no território nacional (ROSENTHAL, 1988).

2.1.2. Consumo

O consumo mundial em 1990/91 deverá manter-se no nível anterior 475,1 milhões de toneladas conforme prognóstico agrícola 1990/91 do governo do estado de São Paulo 1990.

Ao contrário do que ocorre no Brasil, o milho é o principal ingrediente na dieta de uma grande parcela da população mundial (ROSENTHAL, 1988), sendo o México, a América Central, a América Latina e a África as principais regiões de maior consumo “ per capita ” de milho.

Os principais países latino-americanos consumidores de milho são: Guatemala, México, Nicaragua, El Salvador, Honduras, Colômbia, Venezuela e Bolívia, onde o consumo diário oscila entre 120 e 350 gramas por habitante. O consumo “ per capita ” de milho no Brasil se situava, então, segundo os mesmos autores, em torno de 100 gramas por dia (ROSENTHAL, 1988).

a) Formas de consumo

O milho consumido diretamente na alimentação humana, no Brasil, é empregado em diversos tipos de culinária, que podem ser genericamente enquadrados em duas categorias básicas: a culinária do milho verde e a culinária do milho seco.

Na culinária do milho verde são empregados grãos colhidos em determinado ponto da fase leitosa de maturação do grão. Já na culinária do milho seco, por outro lado, são empregados grãos colhidos no estágio farináceo de maturação, 50 a 80 dias após o florescimento, dependendo do cultivar considerado (MINISTÉRIO DO INTERIOR, 1974).

Nos países industrializados, o milho seco para consumo humano é processado por indústrias que utilizam processos sofisticados de moagem por via seca (“dry-milling”) ou por via úmida (“wet-milling”) (INGLETTI, 1970b) enquanto que, em países em desenvolvimento, a matéria prima ainda é processada em muitos casos por métodos tradicionais e limitados, envolvendo operações de torrefação e moagem dos grãos (MINISTÉRIO DO INTERIOR, 1974).

2.2. Composição Química e valor nutricional do milho

2.2.1. Milho Normal

A composição química do milho varia de acordo com o genótipo do cultivar utilizado, com o tipo de solo, clima, disponibilidade de nutrientes para a planta no estágio de maturação do grão (FANCELLI, 1981).

O milho normal seco é um alimento com baixo teor de proteínas e alto teor de carboidratos, o que faz com que o milho, como todos os cereais, seja considerado uma excelente fonte calórica (BRESSANI, 1972). O principal carboidrato encontrado no milho é o amido, que perfaz mais de 70% do grão, sendo 27% do amido composto por amilose e 73% composto por amilopectina.

Os lipídios constituem outro importante componente do milho, perfazendo cerca de 5% do grão, 85% dos quais são encontrados no germe (HAUMANN, 1985).

O teor de proteínas se situa em torno de 10%, sendo a maior parte localizada no endosperma.

Com relação a qualidade nutricional, a maior limitação apresentada pela proteína do milho normal é a deficiência dos aminoácidos lisina e triptofano, decorrente do alto teor de proteínas da classe prolamina (solúveis em solução aquosa de etanol) perfazendo cerca de 50% da proteína total do grão. As prolaminas, são também consideradas de baixa digestibilidade para os animais monogástricos, determinando o baixo valor nutricional da fração protéica do milho Normal.

Quanto aos componentes minerais, o milho apresenta teores de potássio e fósforo na faixa de 0,35% como elementos minerais mais abundantes e baixo teor de cálcio, aproximadamente 0,03% (MERTZ, 1970).

Finalmente, com relação às vitaminas, enquanto o milho amarelo pode ser considerado uma fonte razoável de pró-vitamina A, proporcionando um valor de vitamina A de aproximadamente 490 UI por 100 gramas, o milho branco praticamente não tem atividade dessa vitamina (MERTZ, 1970). Essa diferença se deve à presença de carotenos, pigmentos pertencentes à classe dos carotenóides, e precursores da vitamina A, cerca de 22 mg/Kg no milho amarelo e que inexistem no milho branco. Deve-se salientar que parte dos pigmentos carotenóides presentes no milho amarelo pertencem a outra categoria de substâncias que não a dos carotenos, contribuindo para coloração dos grãos amarelos embora sem atividade vitamínica (WRIGHT, 1987).

Além da presença da pró-vitamina A, milho amarelo e branco possuem certa quantidade de vitamina E, correspondente a cerca de 1,6 UI por 100 gramas de milho normal seco (CONTRERAS-GUZMAN et alii, 1982). Já as demais vitaminas lipossolúveis estão presentes em pequenas quantidades (MERTZ, 1970).

A única vitamina hidrossolúvel não detectada no milho é a vitamina B-12 (WRIGHT, 1987).

2.2.2 Milho Opaco e Pajimaca

Através dos anos, pesquisadores têm procurado melhorar a qualidade da proteína do milho. Aproximadamente há vinte anos um grupo da Universidade de Purdue nos Estados Unidos liderado por MERTZ e NELSON fez um relato sobre a descoberta do gene opaco-2, capaz de modificar a qualidade da proteína do endosperma do milho (MERTZ et alii, 1964). O gene opaco-2 é um gene mutante recessivo para endosperma, contido no cromossoma 7 que confere à semente de milho uma textura farinácea, ou seja, o endosperma é do tipo macio e não se apresenta translúcido como um grão normal, mostrando alta opacidade num exame contra a luz.

MERTZ et alii (1965) verificaram que a introdução do gene o2 em uma linhagem de milho acarretou em aumento de aproximadamente 69% de lisina. O aumento em lisina no milho contendo o gene o2 se deve primariamente à redução da fração protéica solúvel em álcool, a zeína, com conseqüente aumento nas frações albumina, globulina e glutelina (MOSSE et alii, 1966).

Em decorrência de suas qualidades protéicas superiores, o milho Opaco tem sido recomendado para alimentação humana e animal. Ratos e porcos alimentados com milho Opaco engordam até 50% mais que os alimentados com milho comum.

Outro gene que afeta a composição química dos grãos é o su ("sugary"). Este é responsável pela formação de endosperma rico em açúcares, gerando grãos muito apreciados pelo seu sabor delicado e adocicado, principalmente no estágio de milho verde ou leitoso. Denominado Pajimaca, o milho portador do gene su é muito utilizado na alimentação humana nos EUA, tanto "in natura", como enlatado. Quando seco apresenta cristalização dos açúcares do endosperma, seus grãos tornam-se enrugados e o endosperma vítreo.

Certas combinações duplas e triplas desses vários genes resultam em alterações favoráveis na composição química das sementes, podendo ser exploradas pelas indústrias de óleo, amido, dextrose, ração, milho verde, etc.

2.2.3 Nutrimaiz

MERTZ et alii (1964) e NELSON et alii (1965) descobriram que os genes opaco-2 (o2) e flourey-2 (fl2) atuam na modificação das proteínas do endosperma do milho, diminuindo o teor de zeínas e aumentando o teor das frações albumina, globulina e glutelina. A partir destas observações, foram constatados os aumentos nos teores de lisina e triptofano (SGARBIERI et alii, 1977; SCHONHAUS e SGARBIERI, 1983) e muitos autores incrementaram pesquisas com vistas à obtenção de cultivares de valor nutricional mais alto.

O desenvolvimento da variedade Nutrimaiz, resultante do cruzamento entre o milho Opaco e Pajimaca tem sido estudada extensivamente em Campinas por da SILVA et alii e SGARBIERI et alii. Estes últimos autores detectaram valores nutricionais elevados no Nutrimaiz comparativamente ao milho Normal e parentais Opaco e Pajimaca.

A análise da composição química revelou que na maioria dos híbridos o teor de lipídios totais é semelhante ao parental Pajimaca. Esta constatação satisfaz dados obtidos em publicações anteriores as quais sugerem que o gene opaco-2 tem reduzida influência no teor e na composição de ácidos graxos (CONTRERAS-GUZMAN, 1982).

Uma característica típica dos híbridos é verificada pelo aumento rápido do tamanho do germe vinte e quatro dias após polinização detectando-se teor de lipídios semelhante ao do milho comum completamente maduro.

2.2.4 Dados comparativos da composição centesimal das variedades de milho Nutrimaiz, Pajimaca, Opaco e Normal

Segundo SGARBIERI et alii (1982) a composição centesimal das quatro variedades de milho em questão, no estágio maduro, 60 dias após polinização, é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição centesimal de 4 cultivares de milho 60 dias após polinização

DETERMINAÇÃO	MILHO			
	NORMAL	PAJIMACA	OPACO	NUTRIMAIZ
Umidade (%)	7,8	8,9	8,2	10,6
Partes do grão (1)				
Endosperma	73,7	75,3	81,2	70,9
Germe	9,7	13,5	12,7	18,8
Pericarpo	6,6	11,2	6,1	10,6
Componentes (1)				
Proteína bruta	10,3	11,2	10,1	11,0
NNP (2) (% N x 6.25)	0,8	1,1	0,9	2,2
Cinza	1,5	1,6	1,3	1,6
Lipídios totais	5,0	8,1	5,6	8,5
Açúcares totais	3,3	6,0	3,1	5,5
Açúcares redutores	0,5	1,4	0,4	0,9
Fibra crua	1,6	2,3	1,6	3,2
Polissacarídeos (3)	78,3	70,8	78,3	70,2

(1) = Base seca (2) = Nitrogênio não protéico (3) = Por diferença

2.3 Lipídios do milho

2.3.1 Extração

O milho comum contém aproximadamente 5% de óleo, sendo que 85% deste se concentra no germe (HAUMANN, 1985).

Por causa da riqueza em matéria graxa, o germe deve ser removido durante o preparo do amido, e vem a constituir um sub produto da indústria de derivados de milho. Para as fábricas de fubá, canjica e farinha de milho, a venda do germe chega a proporcionar maior lucratividade do que os produtos que dão nome à indústria.

O óleo de milho é usado, domesticamente, como óleo de cozinha e de mesa,

em panificação, na fabricação de maionese, de sabão, de produtos farmacêuticos e em indústrias têxteis. Ele é rico em ácidos graxos insaturados, com alto teor de ácidos linoléico e oléico. Devido ao seu valor nutricional, tem grande procura e torna-se mais importante do que o próprio amido de milho. Este fato tem despertado interesse pela seleção de cultivares com germes grandes e ricos em óleo.

Apesar do valor do óleo, ele não é obtido nas indústrias de amido. Sua extração é feita em fábricas especialmente projetadas para tanto, com capacidade de operar 2000-3000 toneladas de germe por dia (FANCELLI, 1981).

Os processos mais extensamente utilizados para a extração do óleo de milho, são os de extração direta com solvente, de prensagem contínua (expeller) e de pré-prensagem seguida de extração com solvente, a partir do germe obtido quer por “dry-milling” ou por “wet-milling”.

O germe proveniente de moagem úmida possui alta porcentagem de óleo (cerca de 50%) e é processado pela combinação de extração mecânica e solvente. Na prensagem (expeller) o conteúdo de óleo na torta é reduzido a uma porcentagem de 20-25% e em seguida, pela extração por solvente a uma porcentagem de 1,5%. A maioria das indústrias por moagem úmida utilizam este processo, embora existam algumas indústrias que recuperam o óleo apenas por prensagem. O óleo bruto obtido pela prensagem é mais escuro do que o obtido pelo processo combinado pré-prensagem e solvente, mas ambos, por refinação, geram idêntico produto final (MINISTÉRIO DO INTERIOR, 1974).

Com a proposição de uma nova tecnologia para fabricação de farinha de milho integral desengordurada, pela trituração do milho inteiro, subsequente laminação e posterior tratamento com solvente, pode ser conseguido um aumento substancial da produção de óleo de milho, além dos benefícios para a produção de farinha panificável. Segundo FANCELLI (1981) esta nova tecnologia aumenta o rendimento em óleo em 48% ou mais. O aumento do óleo decorre do fato de se extrair a porcentagem da gordura que existe no endosperma, além do que naturalmente é encontrado no germe.

Normalmente a indústria utiliza hexana para extração do óleo de milho, contudo em laboratório, o estudo dos componentes lipídicos requer uma extração mais

exaustiva que pode ser realizada com outros sistemas de solventes como por exemplo clorofórmio-metanol, benzeno-etanol-água, ou butanol saturado com água. O endosperma do milho apresenta baixo teor de lipídios complexos, de natureza polar, que não são facilmente extraídos com solventes como hexana e éter de petróleo, em contraste com os lipídios do germe de natureza apolar (JELLUM, 1971).

Lipídios ocorrem nos tecidos em variadas formas físicas. Os lipídios simples são sempre a maior parte dos lipídios armazenados nos tecidos, de onde são extraídos com relativa facilidade. Por outro lado, os lipídios complexos são usualmente constituintes das membranas, onde ocorrem associados com outros compostos como proteínas e polissacarídeos e, por causa desta interação, não são facilmente extraídos. Geralmente, lipídios estão ligados aos outros componentes celulares através de forças hidrofóbicas ou de Van der Waals, por pontes de hidrogênio ou iônicas.

Para a extração dos lipídios dos tecidos, é necessário encontrar solventes que dissolvam os lipídios e vençam as interações entre estes e o tecido matriz. Vários solventes ou combinações de solventes tem sido sugeridos para extrair lipídios. A maioria dos pesquisadores utilizam clorofórmio- metanol (2:1), com água como componente ternário no sistema (CHRISTIE, 1989).

Trabalhos realizados anteriormente por CONTRERAS-GUZMAN e STRONG III (1982), SGARBIERI et alii (1982), MACHADO (1988) e SCHÖNHAUS (1980), com variedades de milho Normal, Pajimaca, Opaco e Nutrimaiz apresentaram os teores de lipídios mostrados na Tabela 2 através de diferentes métodos de extração.

Tabela 2: Porcentagem de lipídios das variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz.

VARIEDADE	LIPÍDIOS (%)			
	A	B	C*	D
Normal	5,62	5,00	4,80	5,00
Opaco	6,00	5,60	4,60	6,40
Pajimaca	9,14	8,10	5,80	8,00
Nutrimaiz	9,15	8,50	4,80	9,30

A CONTRERAS-GUZMAN et alii (1982).

B SGARBIERI et alii (1982).

C MACHADO (1988) * % base seca.

D SCHÖNHAUS (1980).

2.3.2 Características

As características do óleo de milho são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3: Características do óleo de milho (SWERN, 1979)

CARACTERÍSTICAS	VALOR
Índice de Iodo (g I ₂ /100g amostra)	103-133
Índice de Saponificação (mg KOH/g amostra)	187-193
Índice de Refração (25 °C)	1,470-1,474
Densidade (25 °C)	0,916-0,921
Matéria insaponificável(%)	0,8-2,9
Título (° C)	14-20

a) Ácidos graxos

A quantificação rotineira de ácidos graxos é realizada através cromatografia gás-líquido após conversão em ésteres metílicos. Colunas empacotadas, em geral de poliéster, como DEGS (Dietilenoglicol succinato) são frequentemente usadas com boa eficiência. Colunas capilares, exigindo equipamentos mais sofisticados, vêm sendo empregadas apenas em laboratórios com maiores recursos.

O emprego do óleo de milho na alimentação humana tem sido muito favorecido pelo fato do mesmo possuir um elevado teor de ácidos graxos polinsaturados, que reduzem o nível de colesterol do sangue e exercem influência benéfica nas alterações vasculares. Esta concepção não é sem contestação, mas sua validade foi comprovada por inúmeras experiências em animais e por observações clínicas e epidemiológicas, isto é, por experiências feitas em grandes contingentes populacionais como atesta o "Anti-Coronary Club Study" (ROHR, 1981).

O óleo de milho é rico em ácido linoléico, aproximadamente 59% e apresenta baixo nível de ácido linolênico (menos de 1,5%), que lhe confere boa estabilidade oxidativa.

A composição em ácidos graxos do óleo de milho Normal e das variedades Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz é mostrada na Tabela 4.

Tabela 4: Composição em ácidos graxos da fração lipídica de 4 variedades de milho

% AC. GRAXO	VARIEDADE DE MILHO							
	NORMAL		OPACO		PAJIMACA		NUTRIMAIZ	
	1	2	1	2	1	2	1	2
C16:0	13,4	15,0	13,4	14,1	13,8	13,2	13,7	12,6
C 18:0	2,8	1,9	2,0	1,2	3,0	2,0	2,4	1,9
C 18:1	35,5	21,1	32,2	31,9	33,3	34,9	34,9	36,3
C 18:2	46,8	55,6	51,4	51,7	48,3	48,5	47,3	47,7
C 18:3	1,1	2,1	0,9	1,0	1,1	1,2	1,3	1,3
C 20:1	0,5	-	0,4	-	0,5	-	-	-

1 SGARBIERI et alii (1982).

2 CONTRERAS (1982).

b) triglicerídios

Nos triglicerídios os ácidos graxos apresentam-se esterificados com as hidroxilas dos carbonos 1, 2 e 3 da molécula do glicerol.

Ao longo dos anos, inúmeras investigações têm acumulado informações quantitativas relacionadas à composição triglicerídica e, a partir delas, têm-se tentado distinguir determinados padrões da distribuição dos ácidos graxos nas posições 1,2 e 3 do glicerol.

Pensou-se, a princípio, que as gorduras naturais fossem misturas de apenas triglicerídios simples, ou seja, por exemplo, que todo ácido esteárico ocorresse como triestearina e todo ácido oléico como trioleína. É a teoria do “mono-ácido”, hoje completamente abandonada.

A teoria da distribuição uniforme (“even distribution”) surgiu do trabalho de HILDITCH e WILLIAMS (1964), que acumularam dados suficientes para demons-

trar que os óleos e gorduras naturais são formados, na maior parte, de triglicerídios mistos. A teoria de HILDITCH e WILLIAMS forneceu a base para todas as investigações subsequentes. Análises detalhadas de estruturas triglicerídicas só se tornaram possíveis com a descoberta de lipólise específica e do desenvolvimento da cromatografia de camada delgada e cromatografia gás-líquido.

A teoria da distribuição casual, "random distribution", estabelece que os ácidos graxos componentes se encontram distribuídos ao acaso, estatisticamente, entre as três posições da molécula do glicerol. O teor de determinado triglicerídio é calculado com base no teor de ácidos graxos constituintes. Em oposição à aceitação geral desta teoria tem-se duas importantes observações: o teor de triglicerídios completamente saturados não equivale ao teor pré-estabelecido na teoria e segundo, como demonstrado por hidrólise enzimática, que as proporções de ácidos ligados na posição 2 do glicerol são diferentes das proporções de ácidos totais na gordura. Além disso, foi reconhecido que, a respeito da natureza dos ácidos graxos constituintes, as posições 1- e 3- do glicerol são estereoquimicamente diferentes.

Estas observações levaram ao conceito da chamada distribuição casual restrita (VANDER WAL 1960), que não constitui propriamente uma teoria mas traduz, antes, por tentativas de englobar as discrepâncias relativas à teoria da distribuição casual, não restrita.

A composição triglicerídica de um óleo ou gordura será calculado de acordo com uma distribuição 1, 2, 3-casual quando só contar com a composição total dos ácidos graxos (KAUFMANN e WESSELS, 1964); será calculado de acordo com a distribuição 1, 3-casual 2- casual quando a metodologia resultar no estabelecimento da composição dos ácidos graxos na posição 1,3 e na posição 2 e, finalmente, será calculado de acordo com uma distribuição 1-casual 2-casual 3-casual quando se puder dispor da composição dos ácidos graxos para cada posição da molécula triglicerídica (BROCKFERHOFF e YUKORWSKY, 1966).

O estabelecimento da estrutura triglicerídica e da contribuição de cada espécie molecular para a mistura total requer extensas manipulações algébricas, sobretudo devido à incapacidade atual de se separar e medir as espécies em uma única operação analítica.

Cromatografia líquido-sólido usando colunas empacotadas com ácido silícico tem sido amplamente empregada para separações glicéridicas. Os componentes triglicéridicos podem ser separados dos diglicéridios e dos monoglicéridios através da eluição com misturas 95:5; 75:25 e 20:80 de hexana:éter etílico (SINSEL et alii, 1975).

Cromatografia de camada delgada utilizando sílica gel impregnada com nitrato de prata, tem sido empregada para separar triglicéridios de acordo com o grau de insaturação (VRIES, 1962, 1964; ROEHM e PRIVETT, 1970), contudo, uma molécula com quatro insaturações, por exemplo, pode ser constituída por diversas combinações de três diferentes ácidos graxos, com diferentes graus de insaturações. Assim a metodologia apresenta sérias limitações que podem ser agravadas por uma resolução insatisfatória entre as bandas.

A cromatografia gás-líquido (CGL) separa triglicéridios de acordo com o número de carbonos (NC) e inúmeros trabalhos têm sido publicados nesta área (KUKSIS, 1976). À semelhança do que ocorre com a técnica de argentação obtem-se de componentes com igual NC, os quais deverão ser de novo submetidos a um processo de separação. A combinação das duas técnicas, (LITCHFIELD et alii, 1965; JURRIENS e KROESEN, 1965), melhora a separação mas é tediosa e os calculos são complicados.

Nos últimos anos vêm sendo demonstradas as vantagens de se usar colunas capilares para análise gás-cromatográfica de triglicéridios (GROB et alii, 1980; D'ALONZO et alii, 1981).

Mais recentemente, D'ALONZO et alii (1982) descreveram técnicas na qual amostras de óleo são analisadas por cromatografia de gás com coluna capilar, após derivatização dos ácidos graxos, mono e diglicéridios com BSTFA [(N,O)-bis (Trimetilsilil) trifluoracetamida]. Quando CGL é usada são requeridas altas temperaturas que afetam a eluição destes compostos de alto peso molecular através da coluna. Isto poderá ocasionar hidrólise da gordura. Porém quando a temperatura é mantida baixa para evitar este problema, a análise torna-se muito demorada.

A cromatografia líquida de alta eficiência CLAE, é a técnica cromatográfica que vem revolucionando o campo da separação e análise de lipídios.

O primeiro trabalho sobre CLAE de triglicéridios foi publicado por PEI et alii (1975) que empregaram uma coluna de VYDAC, fase reversa (35-44u) e como eluente uma mistura metanol/água (9:1).

Devido a problemas de solubilidade, sistemas de fase reversa não aquosa tornaram-se mais populares para a determinação de triglicéridios.

Em tais sistemas a sequência de eluição é essencialmente determinada pelo número de carbonos, à semelhança da CGL sendo que o tempo de retenção aumenta progressivamente com o número de carbonos, tratando-se apenas de triglicéridios saturados (PLATTNER et alii, 1977). Todavia, a introdução de uma insaturação antecipa a eluição do triglicéridio. Triglicéridios contendo uma dupla ligação comportam-se como se tivessem dois carbonos a menos.

AITZETMÜLLER (1982) em sua excelente revisão define, em consequência, o chamado número de partição, NP, que governa, de maneira mais global, a ordem de eluição de triglicéridios em CLAE, fase reversa não aquosa:

$$NP = NC - 2DL$$

onde DL indica o número de duplas ligações presentes na molécula.

PARRIS (1978a, 1978b) se refere à separação de triglicéridios numa coluna de Zorbax ODS (partícula de 6 μ , dimensões de 250 x 4.6 mm), usando como eluente gradientes de tetrahydrofurano e/ou cloreto de metileno em acetonitrila, e detector infravermelho, com comprimento de onda fixado em 575nm.

Contudo, análises em fase reversa não aquosa são normalmente efetuadas isocriticamente, com detector de Índice de refração. Diferentes colunas têm sido empregadas como μ -Bondapac (PAYNE-WAHL et alii, 1979), Spherosorb 5-ODS (PEI et alii, 1975), Supelcosil LC-8 e LC-18 e Partisil ODS-2 (EL-HAMBY e PERKINS, 1981) e, para cada uma, os pesquisadores tecem vantagens e apontam limitações.

De acordo com PLATTNER et alii (1977) sistemas contendo acetonitrila fornecem dados de mais fácil interpretação do que misturas de metanol:acetona. PETERSSON et alii (1981), empregaram acetona/acetonitrila 50:50 e 40:60, como eluente.

Comparando diversas temperaturas, JENSEN (1981) observou maior eficiência na separação conduzida à temperatura de $15,5^{\circ}\text{C}$ do que às temperaturas de $17,5^{\circ}\text{C}$; $20,5^{\circ}\text{C}$.

DEFENSE (1984) analisou amostras de óleo, usando colunas em série: uma de Bondapak C18, diâmetro das partículas de $5\ \mu$, comprimento 10 cm, 8 mm de diâmetro, e outra de Hibar com Licrosorb RP-18, diâmetro das partículas de $5\ \mu$, comprimento de 25 cm, e diâmetro de 4 mm. A separação em 45 minutos foi conduzida a 30°C , com acetona/acetonitrila 62,5:37,5 e a amostra foi dissolvida em metanol clorofórmio.

A análise por espectrometria de massa, EM, de triglicerídios foi iniciada por RYHAGE e STENHAGEN (1960) e por BARBER et alii (1964). O assunto foi objeto de revisão por parte de HITES (1975).

A abundância de íon molecular ($M+$) no espectro de triglicerídios de cadeia longa é usualmente baixa, diminui com a diminuição do tamanho da cadeia e, por conseguinte, a interpretação do espectro é complexa. Apesar disso, HITES (1970) analisou amostras de misturas de triglicerídios e conseguiu determinar o número de duplas ligações de íons moleculares com NC 48, 50, 52 e 54. MURATA e TAKAHASHI (1973) usaram um sistema combinado CG-EM (cromatografia de gás-espectrometria de massa) e reportaram separações mais completas do que as obtidas por HITES (1970).

MERRITT et alii (1982) ao invés de usarem espectro de impacto eletrônico lançaram mão da técnica de ionização química por dessorção tendo amônia como gás reagente. Neste caso o pico $M+18$ foi o mais abundante no espectro de triglicerídios individuais e foi proporcional à quantidade de íon molecular na mistura. Os autores empregaram CLAE para separar previamente grupos de triglicerídios a serem analisados por espectrometria de massa.

DONG e DICESARE (1983) analisaram óleo de milho, usando 2 colunas de $3\ \mu\text{m}$ C18 de $100 \times 4,6$ mm de dimensões, conectadas em série, usando acetona/acetonitrila 7:3 com fluxo de $2,5\text{mL}/\text{min}$ determinando a composição triglicerídica através de cromatografia líquida de alta eficiência. Já GROSSBERGER e ROTHSCILD (1987) determinaram a composição triglicerídica do óleo de milho usando várias colunas e

detector de massa utilizando como fase móvel um gradiente linear de 40% a 75% de cloreto de metileno em acetonitrila sob fluxo de 0,6 mL/min.

SWERN (1979) apresenta a seguinte composição triglicéridica para o óleo de milho mostrada na Tabela 5.

Tabela 5: Estrutura triglicéridica do óleo de milho (SWERN 1979).

TRIGLICERÍDIOS	%
Trissaturados (GS3)	0
Dissaturados (GS2U)	2,2
Diinsaturados (GSU2)	40,3
Triinsaturados (GU3)	57,5

GUNSTONE e PADLEY (1965) determinaram a seguinte composição triglicéridica para o óleo de milho apresentada na Tabela 6.

Tabela 6: Composição triglicéridica do óleo de milho (GUNSTONE e PADLEY, 1965).

TRIGLICERÍDIO	mol%
LLL	15
LLO	21
LLS	17
LOO	14
LOS	17
LSS	5
OOO	6
OOS	4
OSS	1

L (Linoléico), O (Oléico), S (Saturados)

c) Constituintes menores

Os constituintes menores mais significativos no óleo de milho compreendem os fosfolipídios, glicolipídios e os representados pela fração insaponificável, que por sua vez é constituída principalmente de tocoferóis, esteróis e carotenóides. A quantidade total destes componentes representa menos de 3 % do óleo. Ainda assim esses compostos desempenham papel importante na estabilidade do óleo. Alguns deles, por sua vez conferem ao óleo maior valor nutricional.

c.1) Fosfolipídios

Os fosfolipídios são constituintes importantes da membrana celular que possuem na sua estrutura grupos polares e apolares (ONG e GOH, 1983). São considerados impurezas indesejáveis nos óleos e gorduras pelos problemas que geram na refinação e pelas perdas de óleo que acarretam (LIST et alii, 1978). As propriedades sinérgicas dos fosfolipídios com antioxidantes são de efeito benéfico para os óleos e gorduras (HUDSON e MAHGOUD, 1981). Atribui-se aos fosfolipídios a propriedade de atuar

como sequestrante de íons pró-oxidantes (Fe e Cu), formando espécies inativas (GOH et alii, 1984).

Segundo SWERN (1979) os fosfolipídios no óleo de milho encontram-se na faixa de 1 a 3%. SGARBIERI et alii (1982) encontraram os seguintes teores de fosfolipídios na fração lipídica de 4 cultivares de milho estudadas como mostra a Tabela 7.

Tabela 7: Teor de fosfolipídios em quatro cultivares de milho (SGARBIERI et alii 1982).

VARIÉDADE	FOSFOLIPÍDIOS (%)
Normal	3,2
Opaco	3,7
Pajimaca	4,2
Nutrimaiz	3,1

Segundo WEBER (1978) fosfatidilcolina é o fosfolipídio predominante, cerca de 64% do total, fosfatidiletanolamina e fosfatidilinositol representam 7,4% e 10,8% respectivamente, estes são os principais fosfolipídios do óleo de milho. A composição fosfolipídica do óleo de milho é apresentada na Tabela 8.

Tabela 8: Fosfolipídios do milho (WEBER, 1978).

FOSFOLIPÍDIO	%
Fosfatidilcolina	63,8
Fosfatidilinositol	10,8
Difosfatidilglicerol	8,4
Fosfatidiletanolamina	7,4
Lisofosfatidilcolina	7,1
Ácido fosfatídico	1,6
Fosfatidilglicerol	0,9

c.2) Glicolipídios

Os glicolipídios à semelhança dos fosfolipídios também apresentam em sua estrutura grupos polares e apolares.

A Tabela 9 apresenta os teores de glicolipídios encontrados por SGARBIERI et alii (1982) na fração lipídica de 4 variedades de milho estudadas

Tabela 9: Teor de glicolipídios na fração lipídica de 4 cultivares de milho 60 dias após polinização (SGARBIERI et alii 1982).

VARIETADE DE MILHO	GLICOLIPÍDIO (%)
Normal	2,5
Opaco	1,4
Pajimaca	1,2
Nutrimaiz	1,7

De acordo com WEBER (1978) os glicolipídios estão presentes no milho na faixa de 3%. Destacam-se como principais glicolipídios digalactosildiglicerídio, sulfolipídios e o monogalactosildiglicerídio. Na Tabela 10 é apresentada a composição dos glicolipídios.

Tabela 10: Glicolipídios do milho (WEBER, 1978).

GLICOLIPÍDIO	%
Digalactosildiglicerídio	27,3
Sulfolipídios	24,5
Monogalactosildiglicerídio	18,6
Cerebrosídeo	10,9
Éster de esterilglicosídeo	9,1
Esterilglicosídeo	5,0

c.3) Esteróis

Esteróis são álcoois cristalinos, de elevado ponto de fusão e de estrutura bastante complexa. Os esteróis de fontes vegetais são coletivamente designados fitosteróis.

Os esteróis compreendem a maior porção da fração insaponificável em óleos vegetais. No óleo de milho estes encontram-se em concentrações próximas de 1% (SWERN,1979).

Os principais esteróis do óleo de milho são segundo POMERANZ (1978) β sitosterol (69%), campesterol (26%) e stigmasterol (5%). Na Tabela 11 é apresentada a composição dos esteróis do óleo de milho.

Tabela 11: Composição em esteróis do óleo de milho

ESTEROL	mg/100g	
	A	B
Campesterol	269,1	148,7
Stigmasterol	70,2	67,6
β Sitosterol	772,2	587,3
Δ^5 Avenasterol	46,8	--
Δ^7 Stigmasterol	11,7	--

A (ITOH et alii, 1973)

B (SLOVER et alii, 1983)

c.4) Tocoferóis e tocotrienóis

Os tocoferóis, antioxidantes mais conhecidos e universalmente distribuídos, constituem a vitamina E lipossolúvel.

Segundo GUTFINGER e LETAM (1972), parece existir uma correlação entre a composição em ácidos graxos e o tipo de tocoferol encontrado nos óleos. Óleos ricos em ácidos graxos insaturados apresentam teores mais elevados de tocoferóis. A composição qualitativa e quantitativa em tocoferóis parece estar estreitamente ligada à espécie de planta oleaginosa da qual o óleo é obtido.

Presentes no óleo de milho em níveis de 0,1% aproximadamente (SWERN, 1979), os tocoferóis além de atuarem como antioxidantes naturais, são fisiologicamente ativos como vitamina E, alcançando nos óleos de milho uma atividade vitamínica entre 3 e 4 UI/100g.

SGARBIERI et alii (1982) encontraram as seguintes concentrações de tocoferóis em 4 cultivares de milho, como mostra a Tabela 12.

Tabela 12: Concentração de tocoferóis e de vitamina E em quatro cultivares de milho aos 60 dias após polinização (SGARBIERI et alii, 1982).

COMPOSTOS	VARIEDADE DE MILHO			
	NORMAL	OPACO	PAJIMACA	NUTRIMAIZ
Tocoferóis totais (mg/100g)	7,1	7,3	9,9	9,5
Tocoferóis (% total)				
α Tocoferol	16,4	17,9	17,2	16,4
α Tocotrienol	14,2	8,4	7,2	7,0
γ Tocoferol	49,0	59,6	61,7	63,6
γ Tocotrienol	15,2	14,0	7,9	8,9
δ Tocoferol	5,2	t	6,0	5,2
Vitamina E (UI/100g)	3,3	4,0	4,8	4,5

c.5) Carotenóides

A cor do milho resulta principalmente da presença de duas classes de pigmentos carotenóides, as xantofilas e os carotenos. Xantofilas estão presentes no milho na faixa de 5 a 50 ppm enquanto que os carotenos estão entre 0 e 7 ppm.

SGARBIERI et alii (1982) encontraram os seguintes teores de carotenóides em 4 variedades de milho estudadas como mostra a Tabela 13.

Tabela 13: Concentração de carotenóides em 4 cultivares de milho (SGARBIERI et alii, 1982).

VARIETADE DE MILHO	CAROTENÓIDES TOTAIS (ppm)	CAROTENOS (ppm)	XANTOFILAS (ppm)
Normal	32,4	3,4	28,7
Opaco	13,8	1,5	12,3
Pajimaca	21,6	3,0	18,6
Nutrimaiz	13,3	1,4	11,9

c.6) Outros constituintes

a) Álcoois triterpênicos

A composição em álcoois triterpênicos do óleo de germe de milho é mostrado na Tabela 14.

Tabela 14: Composição em álcoois triterpênicos do óleo de germe de milho.

ÁLCOOL TRITERPÊNICO	mg/Kg	
	A	B
Cicloartanol	2	3
β Amirina	4-5	5
Butirospermol	-	49
Cicloartenol	38-41,7	-
24 cicloartanol metileno	42,5-53	69
Ciclobranol	2	3
Outros	2-10,7	1

A (FEDELI e MARIANI et alii, 1974) B (ITOH et alii, 1973)

b) Metil esteróis

Os principais metil esteróis presentes no óleo de milho estão relacionados na Tabela 15. A principal diferença do óleo de milho com relação aos óleos dos demais cereais é que o óleo de milho apresenta uma quantidade muito maior de obtusifoliol.

Tabela 15: Metil esteróis do óleo de milho.

METIL ESTEROL	A mg/Kg	B %
Obtusifoliol	39	30
Gramisterol	44	34
Citrostadienol	39	30
Outros	6	6

A ITOH et alii (1973) B POMERANZ (1978)

c) Ceras

Óleo de milho contém traços de ceras, que são ésteres de álcool de miricila com ácido tetracosanoico (C₂₄ lignocérico). De acordo com a literatura, éster de álcool cerílico também pode ser encontrado. O ponto de fusão destas ceras é de 81 a 82^o C (LEIBOVITZ e RUCKENSTEIN, 1983).

2.4. Emprego de técnica de TLC/FID para separação e quantificação de classes de lipídios

A cromatografia em camada delgada (TLC) é uma importante e conveniente ferramenta analítica na análise de lipídios. Várias técnicas tem sido experimentadas visando a quantificação dos componentes identificados cromatograficamente (MANGOLD e MUKHERJEE, 1970). O procedimento mais simples consiste em se pesar as diferentes classes de lipídios após a sua eluição do adsorvente (geralmente sílica gel).

Pulverização com solução de ácido sulfúrico, seguido de carbonização é um método popular para a visualização e detecção densitométrica. Espessura uniforme de adsorvente e homogênea dispersão do revelador são pré-requisitos para uma quantificação reprodutiva. A precisão é um problema porque a intensidade das manchas, não é necessariamente proporcional ao teor de carbono do composto em questão.

Existem outros métodos usados para compostos específicos ou classes de compostos, mas em geral as análises quantitativas não tem sido satisfatórias por cromatografia em camada delgada.

A popularidade do detector de ionização em chama (FID) em cromatografia gás-líquido (CGL), devido a sua alta sensibilidade e linearidade, é especialmente desejável para examinar a possibilidade de seu uso na detecção de zonas de solutos nos cromatogramas de camada delgada. Desde 1967 COTGREAVE e LYNES propõem o uso de TLC quantitativo com o uso de um detector de FID usando um tubo de quartzo, onde as manchas de compostos eram sucessivamente vaporizadas da placa e queimadas no FID. PADLEY em 1969 desenvolveu uma pesquisa diferente e simples de combinação entre TLC e FID, na qual utilizou uma fina haste de quartzo como depósito de sílica gel e passou este através da chama de um FID. SZAKASITS et alii (1970), usaram uma haste fina de metal para a mesma função.

OKUMURA e KADANO (1973) desenvolveram uma haste de TLC com uma camada de sílica gel sinterizada, que pode ser reutilizada, em conjunto com Iatron Laboratories do Japão num detector "Thinchromograph TFG-10" baseado no princípio do FID. A mesma companhia colocou no mercado um instrumento semelhante chamado Iatrosan TH-10 Analyser, para ser usado juntamente com as hastes de TLC sinterizadas, que foram chamadas de "Chromarods". A combinação destas duas fez um método rápido, fácil de TLC quantitativo para análises de rotina de quase toda a matéria química de baixa volatilidade que pode ser separada por TLC normal, e certos laboratórios tem relatado a aplicação deste instrumento para suas necessidades específicas na área de lipídios (SIPOS e ACKMAN, 1978).

METCALFE (1979) relatou que o equipamento chamado de Iatrosan, é usado em conjunto com as hastes de TLC "Chromarods". Estas são de quartzo recoberto com sílica gel ou alumina, onde de 0,1 a 10 μ g de amostra é aplicada, e o cromatograma

é desenvolvido de maneira usual em cuba com fase móvel adequada para a separação dos componentes em questão. Os “Chromarods” são então passados através de um detector de ionização em chama para a análise. Ocorre a pirólise dos compostos orgânicos, e um sinal é gerado no FID, da mesma maneira que ocorre na cromatografia gasosa. Desta forma é obtido o cromatograma. Neste trabalho METCALFE comentou que os resultados quantitativos obtidos não são tão bons quanto os obtidos em cromatografia gasosa, contudo são tão bons quanto os de cromatografia líquida de alta eficiência. Com maior desenvolvimento, este instrumento será tão importante nos estudos dos componentes lipídicos tanto quanto a cromatografia gasosa ou líquida de alta eficiência.

NEWMAN(1985) afirmou que em comparação com outras técnicas cromatográficas, a cromatografia em camada delgada com detector de ionização em chama é relativamente recente.

O primeiro TLC/FID foi desenvolvido pela Unilever, o que culminou com a obtenção de patente nos anos 60. O equipamento foi utilizado para a quantificação de lipídios. Do ponto de vista conceitual, o projeto da Unilever foi um sucesso, mas do ponto de vista prático, ele foi um quase fracasso por causa da falta de tecnologia relativa ao mecanismo eletrônico de precisão, e as modificações das sílicas inibiram o progresso do uso do equipamento em laboratório. Em paralelo, mas totalmente isolado da Unilever, os laboratórios da Iatron em Tokyo e Shionogi de Osaka, uma das principais companhias farmacêuticas do Japão, estava engajada em desenvolver um equipamento comercial com o mesmo propósito, um “Thinchromograph” (agora conhecido como Iatroscan TLC/FID), e conseguiu a licença para a fabricação do equipamento.

O principal problema foi como proceder modificações em uma coluna para torná-la capaz de suportar as altas temperaturas da chama de hidrogênio com capacidade de detecção, e recoberto com um substrato que permitisse o uso repetido.

Uma solução técnica para o problema foi encontrado através do processo de sinterizar sílica gel ou alumina em um suporte de quartzo.

Essencialmente, quando se acopla um TLC com um detector de CG tem-se um sistema cromatográfico em “fase sólida”, onde as amostras devem ser desenvolvidas numa série de 10 microcolunas inertes. Os componentes da amostra são localizados no

suporte fixo de acordo com o valor de seu R_f , e as colunas são programadas para passar através do detector de ionização em chama mecanicamente. Este termo “fase sólida” é usado para descrever o substituto do gás de arraste convencionalmente empregado para transportar componentes através de uma coluna fechada no cromatógrafo a gás.

Cada coluna, chamada de “Chromarod”, é uma haste de quartzo com 1mm de espessura por 150mm de comprimento, onde sílica gel ou alumina são sinterizadas com uma espessura de 75μ e sobre a qual, a separação ocorre como em TLC. Amostras sólidas e não voláteis com alto ponto de ebulição, não fluorescentes, e materiais que não absorvem na faixa do UV podem ser examinados rapidamente. Esta sugestão de ampla aplicação não existe nas separações e detecções em CG, CLAE, e TLC densitométrica. Em outras palavras, a complementação do TLC/FID com outros métodos é a característica pela qual sua presença é colocada ao lado destes outros métodos.

Do ponto de vista da aplicação, o TLC/FID tem se difundido extensivamente no campo onde compostos orgânicos requerem exame quantitativo tem sido demonstrado que em muitas aplicações industriais onde a rapidez e a repetitividade são necessárias para propósitos de caracterização e quantificação. Por exemplo, no caso particular dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos tem-se observado uma inexatidão por CG e CLAE, em ambos os casos pelas perdas de material nos estágios de preparação da amostra ou por efeitos de adsorção na coluna.

Na Europa e no Canadá, forte ênfase tem sido dada para o uso do Iatroscan no setor industrial, especialmente em relação a combustíveis, lubrificantes, análise de emulsões e surfactantes. Muitas aplicações tem sido encontradas para classificação de materiais de acordo com sua origem, ou para a qualidade dos produtos. Isto oferece um largo espectro para o uso do Iatroscan em relação aos óleos comestíveis em indústrias, tanto na análise da matéria prima, como durante o processo de refinação.

Como o FID, um FTID (detector de ionização em chama termoiônico) específico para nitrogênio, e um FED (detector de emissão em chama) para detecção de enxofre, estão sendo desenvolvidos. Ambos irão servir para ilustrar a flexibilidade desta técnica híbrida.

Inúmeros trabalhos na área de lipídios tem sido realizados com o TLC/FID.

KANEKO et alii(1976) determinaram quantitativamente através de Iatroscan TH-10 lipídios neutros da fração lipídica de 30 espécies de leveduras, utilizando hastes de sílica gel, desenvolvendo em sistema de solvente com éter de petróleo/éter etílico/ácido acético (90:10:1). Já MORDRET et alii (1977) utiliza Iatroscan, eluindo as hastes em clorofórmio/ácido acético (99,5:0,5) para separar mono, di e triglicerídios e relata que esta técnica é considerada rápida, pois neste caso pode-se fazer 10 determinações em apenas 40 minutos.

SIPOS e ACKMAN (1978) utilizaram éter de petróleo/éter etílico/ácido fórmico 98% (97:3:1) para separar esterol, triglicerídio, ácido graxo e esterol esterificado, e obtiveram em 1 hora com Iatroscan resultados comparáveis e muito favoráveis com a composição da mesma amostra lipídica separada pelo tedioso e convencional método de cromatografia em coluna com ácido silícico, com gravimetria e análises químicas.

VANDAMME et alii (1978) também concluem após seu trabalho de separação de classes de lipídios do plasma através de Iatroscan, que esta técnica é simples e rápida.

CHRISTIE e HUNTER (1979) utilizaram Iatroscan para separar lipídios neutros em "Chromarods" eluindo-os em 1,2- dicloroetano/clorofórmio/ácido acético (92:8:0.1) duas vezes para o desenvolvimento. Já VAN TORNOUT et alii (1979) utilizaram 1-octadecanol como padrão interno para quantificação de lipídios de plasma em "Chromarods" desenvolvendo com sistema de éter de petróleo (60-80⁰C)/éter etílico/ácido fórmico (85:15:0.1) e comenta que o uso potencial do FID para a quantificação de lipídios separados por TLC em hastes de sílica gel representam um importante avanço na metodologia analítica.

ACKMAN(1980) comentou que outra vantagem da técnica de TLC/FID é que as cubas de desenvolvimento das hastes são menores que as utilizadas em TLC convencional, onde as perdas de solventes são minimizadas (importante aspecto econômico), aliado ao fato de que cada haste pode ser reutilizada muitas vezes valorizam em muito esta técnica. KRAMER (1980) em seu trabalho utilizou Iatroscan para determinar a composição relativa de classes de lipídios cardíacos de ratos alimentados com dietas à base de óleos vegetais, e conclui que o Iatroscan é um instrumento que combina a capacidade de resolução da cromatografia em camada delgada, com a possibilidade de

quantificação pelo uso do detector de ionização em chama. KRAMER et alii (1980) discutiram os efeitos de diferentes solventes na resolução de lipídios neutros em "Chromarods".

KAITARANTA(1981) analisou o conteúdo de lipídios polares de óleo de peixe através de TLC/FID durante teste de oxidação acelerada e conclui que o TLC/FID é um método simples e rápido para análise de lipídios polares, comparável com o método cromatográfico em coluna, sugerindo que este novo método pode ser utilizado no controle de qualidade de óleos comestíveis. Neste mesmo ano KAITARANTA e NICOLAIDES (1981) determinaram a resposta e a linearidade de cerca de 20 diferentes componentes lipídicos quando analisados por TLC com detector de ionização em chama.

KRAMER et alii (1982) analisaram a redução de necroses no miocárdio de ratos albinos por manipulação de níveis de ácidos graxos através de Iatroskan.

FOOT e CLANDININ (1982) utilizaram nonadecano como padrão interno e separaram lipídios neutros com éter de petróleo (50- 110)/éter etílico (85:15) e fosfolipídios com clorofórmio/metanol/água (80:35:3) em "Chromarods".

HIRAMATSU e ARIMORI (1982) usaram acetato de colesterol como padrão interno e separaram lipídios neutros em "Chromarods" através do sistema n hexana/éter etílico (9:1), e fosfolipídios com clorofórmio/metanol/água (60:30:3,5), e recomendam o uso desta técnica em exames clínicos por causa de sua simplicidade e alta sensibilidade, concluindo que as principais vantagens desta técnica são que: vários lipídios podem ser determinados em um único procedimento, o "Chromarod" pode ser utilizado repetidas vezes, a quantidade de amostra necessária é muito pequena. Com relação às desvantagens comenta a respeito da separação incompleta do fosfatidilinositol da fosfatidilserina, pela razão da impossibilidade de se fazer desenvolvimento bidimensional no "Chromarod".

FARNWORTH et alii (1982) em seu trabalho de determinação quantitativa de lipídios neutros em "Chromarods" concluíram que o uso de padrão interno no método acarreta melhora considerável na precisão dos resultados.

DU PLESSIS e PRETORIUS (1983) analisaram fosfolipídios em diferen-

tes estágios de refinação de óleos através de Iatroscan utilizando um primeiro desenvolvimento dos "Chromarods" em acetona, com posterior queima parcial acima da banda de lipídios polares que permanecem na origem, e novo desenvolvimento em clorofórmio/metanol/água(80:35:3). Determinaram os fatores de resposta para cada fosfolipídio, observando que fosfatidiletanolamina e fosfatidilcolina apresentam fator de resposta quase idêntico e que o fosfatidilinositol possui resposta pobre.

TATARA et alii (1983) fizeram determinação quantitativa de triglicerídio, diglicerídio, monoglicerídio e ácido graxo em "Chromarods" impregnados com ácido bórico, desenvolvendo-os em benzeno/clorofórmio/ácido acético (70:30:2) ou hexana/éter etílico/ácido acético (70:30:1).

ELDRIDGE et alii (1983) analisaram extratos lipídicos por Iatroscan desenvolvendo os "Chromarods" em hexana/éter etílico/ácido fórmico (85:15:0,02) usando fatores de correção obtidos através de análise de padrões para a quantificação das classes de lipídios.

Conforme relataram PARRISH e ACKMAN (1983) no trabalho realizado com Iatroscan, analisando lipídios neutros, com separação inicial usando sistema de solvente apolar, resolvendo classes de hidrocarbonetos a ácidos graxos livres. Após queima parcial, as classes de lipídios remanecentes são separadas em sistema de solvente polar. Bons resultados foram obtidos com hastes usadas em mais de 150 desenvolvimentos.

Comparando TLC/FID com CG MARES et alii (1983) concluíram que a reprodutibilidade dos resultados obtidos por ambos os métodos foram comparáveis e a linearidade foi similar.

TANAKA et alii(1984) relataram sobre a aplicação de TLC/FID para determinação de lipídios complexos analisando produtos da metanólise de esfingoglicolipídios, e consideraram esta técnica simples e rápida.

Impregnação em "Chromarods" com sulfato de cobre II, foi feita por KAIMAL e SHANTA (1984), que consideraram TLC indispensável na separação e análise de lipídios complexos, e o Iatroscan, um equipamento que combina a capacidade

de resolução do TLC com a possibilidade de quantificação pelo FID, consideraram que o sistema "Chromarod-FID" apresenta muitas vantagens, no todo a operação é simples e rápida, vários lipídios podem ser quantificados numa simples determinação, até mesmo componentes que não podem ser analisados por CG podem ser convenientemente analisados através do Iatroscan.

HARVEY et alii (1985) descreveram o uso do Iatroscan para análise de componentes lipídicos de bile humana pela rapidez e quantificação satisfatória do método.

KRAMER et alii (1985) quantificando lipídios cardíacos, comparando os resultados obtidos usando o método Iatroscan com as técnicas de determinação de fósforo e gás cromatográfica, na separação de lipídios neutros e fosfolipídios, relataram que os resultados obtidos demonstraram que a precisão do método Iatroscan foi comparável com a obtida através das outras duas técnicas. Concluíram que este fato aliado à vantagem do curto tempo requerido para a realização da análise através do Iatroscan foram muito favoráveis na análise de lipídios complexos.

RAO et alii (1985) também compararam a técnica TLC/FID com outros métodos e concluíram que os resultados obtidos são similares aos obtidos por outras técnicas na quantificação de lipídios.

Segundo PARRISH e ACKMAN (1985), que realizaram um trabalho de calibração do sistema Iatroscan para análise de classes de lipídios marinhos. Neste mesmo trabalho avaliou-se os efeitos da temperatura, humidade, tratamento com ácido e duplo desenvolvimento nos "Chromarods", concluindo que todos estes fatores exercem alguns efeitos sob os valores de Rf dos componentes, contudo não são causa de variabilidade no sistema Iatroscan.

HAZEL (1985) determinou a composição fosfolipídica através da técnica de Iatroscan e também pelo método de análise de fosfato, concluindo que somente no caso do fosfatidilinositol os dois métodos apresentam diferenças significantes, contudo a apreciação de fatores que influenciam na análise poderia eliminar o erro.

A resposta relativa do FID-Iatroscan em análise de isômeros cis trans de

ésteres metílicos de ácidos graxos em “Chromarods”S impregnados com nitrato de prata foram estudados por SEBEDIO et alii (1985), onde concluíram que uma importante característica do sistema TLC/FID com nitrato de prata é a longevidade dos “Chromarods”. As hastes podem ser facilmente reutilizadas após limpeza em solução de ácido nítrico concentrado. As hastes neste caso particular foram usadas por mais de 400 vezes.

Produtos da oxidação de colesterol foram determinados quantitativamente por cromatografia gás-líquida e TLC em “Chromarods”. Os dois métodos foram comparados por BASCOUL et alii 1986 e o método TLC/FID se mostrou mais conveniente pela rápida estimativa da autoxidação.

KRAMER et alii (1985) e OHSHIMA et alii (1987) discutiram em seus trabalhos o efeito do comprimento das cadeias e das insaturações dos ácidos graxos na separação de classes de lipídios analisados pelo Iatroscan.

OKUMURA et alii (1989) realizaram determinação quantitativa de 1,2 diglicerídios utilizando Iatroscan TLC/FID.

FRITZ et alii (1988) determinaram ácidos graxos dimerizados por TLC/FID e compararam os resultados obtidos com CG concluindo que o método Iatroscan foi muito mais rápido que o CG sem a necessidade de exaustivo pré tratamento da amostra e condicionamento da coluna, necessários para a análise em CG.

SHANTA e ACKMAN (1990) discutem em seu trabalho as vantagens da hidrogenação para a determinação de classes de lipídios em “Chromarods”SIII.

2.5 Emprego de técnica estatística para identificação e quantificação de triglicerídios separados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

O estudo da composição dos óleos e gorduras através de técnicas cromatográficas, tem sido muito importante para a separação e identificação dos triglicerídios, principais componentes dos óleos e gorduras.

Misturas de triglicerídios ocorrem em óleos e gorduras com tal complexi-

dade, que técnicas analíticas simples, não podem resolver toda a composição triglicéridica de uma amostra.

Várias técnicas tem sido estudadas para este fim, pois a composição triglicéridica é uma importante consideração na avaliação da qualidade de um óleo ou gordura.

Um procedimento simples e direto para análise da composição triglicéridica de óleos e gorduras tem sido desejada, pois as propriedades químicas, físicas dos óleos e gorduras são determinadas pelo tipo de ácido graxo e sua distribuição na molécula triglicéridica (posição 1, 2 e 3).

Inúmeros trabalhos foram realizados, visando-se obter a provável composição triglicéridica de óleos e gorduras a partir da composição em ácidos graxos, através de cálculos matemáticos e estatísticos. Programas de computação foram escritos para determinar a composição triglicéridica de óleos e gorduras a partir da composição em ácidos graxos com base na distribuição "Random" (NORRIS e MATTIL, 1947), "Random restrita" (KARTHA, 1953), distribuição segundo GUNSTONE (1962) e VANDER WAL (1960). Estes programas são similares ao desenvolvido por PERKINS e HANSON(1965) e MANI e LAKSHMINAYANA (1970), escritos em linguagem Fortran.

Pode-se dizer então, que conhecendo-se a composição em ácidos graxos de uma amostra, pode-se, por meio de cálculos matemáticos, obter uma previsão estatística da provável composição triglicéridica da amostra.

O número total "N" de prováveis triglicéridios (isômeros posicionais) em função do número dos diferentes ácidos graxos constituintes "x" é dado pela seguinte equação:

$$N = \frac{x^2 + x^2}{2} \quad (\text{THOMAS, 1987}),$$

quanto à composição quantitativa dos triglicéridios de um óleo ou gordura.

Contudo, a proporção dos diferentes triglicéridios que ocorrem naturalmente não estão distribuídos seguindo regras estatísticas simples. Nos óleos e gorduras

vegetais, ácidos graxos insaturados estão localizados preferencialmente na posição 2 do grupo glicerol.

Devido à complexidade de interpretação dos dados de triglicerídios através da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, e pela impossibilidade de se obter padrões de todos os prováveis triglicerídios existentes nas amostras, PLONIS (1990) formulou as bases matemáticas para um programa de computação que, levando em conta a composição em ácidos graxos, de um óleo ou gordura é capaz de estatisticamente estimar a porcentagem provável de cada um dos triglicerídios ou grupo destes existentes na amostra.

Os resultados obtidos através destes cálculos fornecem subsídios importantes na interpretação dos cromatogramas obtidos por CLAE. O cálculo efetuado é baseado na distribuição "1,3- Random 2-Random" ou "Random" dos triglicerídios.

No cálculo "1,3-Random 2-random" tem-se partindo das porcentagens dos ácidos graxos de cada amostra obtidos através de cromatografia gasosa dos ésteres metílicos:

ΣS = Soma das porcentagens dos ácidos graxos saturados

ΣI = Soma das porcentagens dos ácidos graxos insaturados

y = teor de glicerídios trissaturados esperado

Através da equação:

$$\frac{(\Sigma S + x) \cdot (\Sigma S - 2x) \cdot (\Sigma S + x)}{10000} = y$$

Calcula-se o valor de x .

Onde x é considerado um fator de correção, visto que os ácidos graxos saturados encontram-se preferencialmente nas posições 1 e 3.

A probabilidade de um ácido graxo saturado estar na posição 1,3 e 2, respectivamente, é dada pelas seguintes equações:

$$\% \text{ Posição 1} = \% \text{ Posição 3} = \frac{(\sum S + x)}{\sum S} \cdot w$$

$$\% \text{ Posição 2} = \frac{(\sum S - 2x)}{\sum S} \cdot w$$

Já a probabilidade de um ácido graxo insaturado estar na posição 1,3 e 2 é dada pelas equações:

$$\% \text{ Posição 1} = \% \text{ Posição 3} = \frac{(\sum I - x)}{\sum I} \cdot w$$

$$\% \text{ Posição 2} = \frac{(\sum I + 2x)}{\sum I} \cdot w$$

Onde w = porcentagem do ácido graxo

Obtendo-se, assim, as porcentagens corrigidas para todos os ácidos graxos presentes na amostra nas posições 1,3 e 2.

Após a obtenção destes números o programa calcula estatisticamente todas as combinações aleatórias 3 a 3 dos ácidos graxos da amostra, fornecendo o código do triglicerídeo, número de isômeros, fornecendo um relatório completo dos prováveis triglicerídios presentes na amostra e suas respectivas porcentagens.

Já o cálculo efetuado segundo distribuição "Random" segue o seguinte procedimento:

- para triglicerídios simples, formados por apenas um tipo de ácido graxo

$$\% \text{ AAA} = \frac{\text{A.A.A}}{10000}$$

- para triglicerídios formados por 2 tipos de ácidos graxos

$$\% \text{ AAB} = \frac{\text{A.A.B}}{10000} \cdot 3$$

- para triglicerídios formados por 3 tipos de ácidos graxos diferentes

$$\% \text{ ABC} = \frac{\text{A.B.C}}{10000} \cdot 6$$

A partir dos dados obtidos através de cálculos pode-se identificar os picos no cromatograma obtido por CLAE, observando-se a porcentagem esperada do triglicerídio, comparando-a com a obtida no cromatograma obedecendo-se também a sequência de eluição através da coluna, a qual depende do número de partição do triglicerídio, conforme explicado anteriormente no item 2.3.2 b.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1 Matéria-prima

Quatro cultivares de milho foram utilizadas neste estudo, Nutrimaiz (susu o2o2), Pajimaca (susu O2O2), Opaco (SuSu o2o2) e Normal (SuSu O2O2). Estas foram produzidas experimentalmente no Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da UNICAMP, Campinas, São Paulo, durante os anos de 1988-1989. O Nutrimaiz, foi derivado de uma população cujo genótipo continha 87,5% de Opaco e 12,5% da cultivar Pajimaca (SGARBIERI et alii, 1982).

3.1.2 Reagentes

Todos os reagentes químicos utilizados foram de grau P.A. e de diferentes procedências: Merck, Ecibra, Sigma, Mallinckrodt, Fluka, ou Grupo Química.

3.1.3 Instrumental

Além dos utensílios e vidraria normalmente existentes em laboratório, os seguintes equipamentos foram utilizados no decorrer deste trabalho:

- Cromatógrafo Gasoso, modelo Sigma 3B, Perkin-Elmer, com detector de ionização de chama.

- Cromatógrafo Líquido, modelo Séries 10, Perkin-Elmer, com detector de índice de refração Sicon Analytic.

- Integrador modelo LCI-100, Perkin-Elmer.

- Espectrofotômetro UV/VIS, modelo Lambda 3, Perkin-Elmer, de faixa espectral entre 190 e 900 nm.

- Iatroscan MK-5 TLC/FID Analyser da Iatron Laboratories INC, com aplicador de amostra modelo SES 3202/IS-01, computador Trilab 2000, e impressora Trivector.

- Refratômetro ABBE, com banho termostaticado MGW-Lauda M3.

- Bureta automática Dosimat 655, Metrohm, Herisau.

- Estufa Memmert, com sistema de circulação de ar.

- Estufa à vácuo Heraeus.

- Evaporador rotativo Buchi.

- Moinho de facas Ika

3.2. Métodos

3.2.1 Extração dos lipídios

a) Pré tratamento da matéria prima

As amostras de milho recebidas do Instituto de Biologia foram submetidas ao seguinte tratamento:

Limpeza - para remoção de grãos de variedades diferentes, danificados e material estranho.

Moagem - realizada em moinho de facas.

Peneiragem - utilizou-se material que passou através da peneira de 20 mesh.

Tratamento térmico - adicionou-se 1 mL de água destilada para cada 10g de amostra moída, homogeneizou-se bem e agitou-se 1h em evaporador rotativo à vácuo a 80 °C.

b) Extração com éter de petróleo (Soxhlet)

A amostra após ser submetida ao tratamento térmico, foi acondicionada em cartucho e submetida à extração em Soxhlet, utilizando-se éter de petróleo como solvente.

c) Extração com metanol/clorofórmio (2:1)

A amostra foi submetida também a um outro método de extração, utilizando-se mistura de solvente mais polar, metanol/clorofórmio (2:1), de acordo com a metodologia descrita por FOLCH et alii (1957).

d) Degerminação

Para a obtenção da fração lipídica a partir do germe do milho, seguiu-se o procedimento abaixo:

O milho foi colocado em água fervendo por 5 minutos, para inativação das enzimas. Após este cozimento removeu-se manualmente o germe do milho. Procedeu-se então a secagem do germe em dessecador à vácuo. O germe seco foi moído em moinho de facas Ika. Utilizou-se o germe moído para extração dos lipídios.

3.2.2. Métodos Analíticos

a) Teor de umidade

Foi utilizado neste trabalho, o método oficial Ac 2-41 AOCS (1988).

b) Porcentagem de lipídios

Foi determinada pelo método oficial Ac 3-44 AOCS (1988) e pelo método de FOLCH (1957).

c) Índice de refração

Para esta determinação foi utilizado o método oficial Cc 7-25 AOCS (1988).

d) Matéria insaponificável

Foi determinada utilizando-se o método oficial Ca 6a-40 AOCS (1988).

e) Índice de saponificação

Foi utilizado o método oficial Cd 3-25 AOCS (1988).

f) Índice de iodo

Foram utilizados os métodos oficiais Cd 1b-87 e Tz 1c-85 AOCS (1988).

g) Determinação de cor

Foi utilizado o método espectrofotométrico segundo BEADLE et alii (1965), pois dispunha-se de pouca quantidade de óleo, não suficiente para determinação de cor pelo método de Lovibond, mais comumente empregado.

h) Porcentagem de fósforo

Utilizou-se o método de HARTMAN et alii (1985).

i) Composição em ácidos graxos

Para esta determinação seguiu-se o método oficial Ce 1-62 AOCS (1988). Trata-se de um método gás cromatográfico onde utilizou-se cromatógrafo Sigma 3B Perkin-Elmer com detector de ionização em chama, empregando as seguintes condições:

- Coluna de aço inox com 1/8" de diâmetro externo e 1,8m de comprimento, empacotada com 15% DEGS (Dietilenoglicol succinato) em Cromosorb W (80 a 100 mesh).

- Detector de ionização de chama (FID).
- Fluxo de Nitrogênio (gás de arraste) de 25mL/min.
- Temperatura do injetor = 240 °C.
- Temperatura da coluna = 180 °C.
- Temperatura do detector = 240 °C.
- Volume de amostra = 1 a 3 µL.

A identificação dos ácidos graxos foi realizada comparando-se os tempos de retenção dos componentes da amostra com os de padrões de ésteres de ácidos graxos (Standard NU Check-Prep. Inc.) e a quantificação foi efetuada por normalização interna, obtendo-se a porcentagem de cada componente pela razão da área individual e área total dos picos, calculadas pelo integrador LCI-100 da Perkin-Elmer.

O preparo das amostras, para injeção no cromatógrafo, na forma de ésteres metílicos seguiu metodologia proposta por HARTMAN e LAGO (1973).

j) Tocoferóis totais

Nesta determinação utilizou-se o método proposto por CONTRERAS-GUZMAN et alii (1982).

k) Composição triglicéridica

Foi empregada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência em sistema de fase reversa, não aquosa. Os triglicéridios foram analisados em cromatógrafo líquido Séries 10 da Perkin-Elmer.

Utilizou-se uma coluna LiChrosorb RP-18 (5µm) de 25cm Merck, a fase móvel empregada foi a mistura de acetona-acetonitrila na proporção de 62:38 respectivamente, segundo AITZETMÜLLER et alii (1988), com fluxo de 1mL/min.

Os solventes empregados nesta análise foram todos grau cromatografia e sofreram processo de degaseificação através de ultrassom e filtragem antes do uso através de membrana millipore.

As amostras foram dissolvidas em acetona na proporção de 5% e introduzidas com seringa de 10 μ L na válvula injetora equipada com laço injetor de 20 μ L.

Alguns dos componentes foram identificados por comparação com tempo de retenção de padrões obtidos nas mesmas condições. Além disso, correlacionou-se os tempos de retenção dos picos no cromatograma com a ordem de eluição de todas as espécies de triglicerídios que poderiam estar presentes na amostra, com base na distribuição "Random" e "1,3-Random 2-Random" calculados através de um programa feito para operar em microcomputador. A quantificação foi efetuada por normalização, obtendo-se a porcentagem de cada componente pela razão da área individual e área total dos picos, calculadas pelo integrador LCI - 100 da Perkin Elmer.

l) Teor de carotenóides

Os carotenóides totais foram determinados pela leitura 1% da Absorbância a 452 nm e expressos como zeaxantina ($E \frac{\%}{1\text{cm}} = 2350$) de acordo com GOODWIN (1976).

O cálculo de carotenóides totais (ppm) seguiu a relação :

$$\text{ppm} = \text{Absorbância } 452\text{nm} \cdot 10^4 / 2350 \cdot p$$

onde p = g amostra / mL de éter de petróleo

m) Composição em esteróis

A partir da matéria insaponificável obtida das amostras através do método Ca 6a-40 da AOCS (1988), separou-se os esteróis através de aplicação da matéria insaponificável em placa de camada delgada preparativa (sílica gel G 20 x 20cm e 0,5mm de espessura) com sistema de desenvolvimento de hexano/éter etílico/ácido acético (80:20:1), nos extremos da placa foi colocada uma mistura padrão de colesterol como

monitor. Após o desenvolvimento a placa foi seca e através de visualização em cabine de luz ultravioleta, a zona dos esteróis foi demarcada e posteriormente raspada da placa e transferida para tubo de ensaio com tampa, onde os esteróis foram redissolvidos em isopropanol sob agitação intensa, a solução foi então filtrada e posteriormente injetada em cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Sigma 3B com detector de ionização em chama, empregando as seguintes condições:

- Coluna de vidro de 1,8m contendo 3% de OV-17 80-100 mesh em Chromosorb WDMLS

- Detector de ionização em chama (FID)

- Fluxo de nitrogênio (gás de arraste) de 30mL/min.

- Temperatura da coluna 270 °C

- Temperatura do injetor 320 °C

- Temperatura do detector 320 °C

- Volume de amostra = 3μL

Colesterol, campesterol, stigmasterol e β -sitosterol foram utilizados como padrões para identificação dos esteróis.

n) Separação e quantificação de classes de lipídios através da técnica de TLC/FID

A determinação quantitativa de mono, di, triglicerídios, ácidos graxos e lipídios polares por TLC/FID utilizando Iatroscan TH-10 com "Chromarod SIII" realizada neste trabalho seguiu as etapas abaixo.

Condições de operação no Iatroscan:

- Fluxo de hidrogênio 160mL/min

- Fluxo de ar 2000mL/min

- Velocidade de queima 30seg/queima.

Utilizou-se padrões para determinar tempo de retenção (tr) e fator de resposta do detector.

Os "Chromarods" foram estocados em cuba contendo sílica gel como dessecante, foram ativados através de queima em Iatroscan pouco tempo antes da análise. Um microlitro de soluções contendo glicéridios em éter etílico na concentração de 5-20mg/mL, foram aplicadas na origem dos "Chromarods", com aplicador automático SES 3202.

Sistema de desenvolvimento:

A completa separação de mono, di, triglicéridios, ácidos graxos e compostos polares foi conseguida utilizando-se Benzeno/Clorofórmio/ácido acético (70:30:2) (v/v/v) como fase móvel (TATARA et alii 1983).

Os "Chromarods" foram desenvolvidos até 10cm da origem em cuba apropriada, sendo então secos a 60⁰C por 10min, e analisados em Iatroscan.

Identificação e quantificação:

Obteve-se, para cada padrão analisado, nas mesmas condições que as amostras, o tempo de retenção (tr), fator de resposta do detector. Com estes dados pode-se identificar os componentes da amostra e quantificá-los.

Separação e identificação de fosfolipídios:

Para separação, identificação e quantificação de fosfolipídios, utilizou-se a metodologia descrita por DU PLESSIS e PRETORIUS (1983) com algumas modificações.

Lipídios do milho extraídos com clorofórmio-metanol segundo FOLCH

(1957) foram dissolvidos em acetona e centrifugados, o sobrenadante foi redissolvido em clorofórmio-metanol (2:1) numa concentração de 30 mg/mL; este extrato lipídico (1 μ L) foi aplicado em “Chromarod SIII” utilizando-se aplicador automático SEG 3202. Após aplicação da amostra, um primeiro desenvolvimento foi feito em cuba apropriada com acetona para separar os lipídios neutros residuais dos fosfolipídios. Secou-se os “Chromarods” em estufa por 5 minutos a 60 °C e os mesmos foram transferidos para o Iatroscan, onde 60% de sua extensão foi queimada, permanecendo intactos na origem de cada “Chromarod” os fosfolipídios. A separação das classes de fosfolipídios foi efetuada numa segunda eluição em clorofórmio/metanol/água (80:35:3), com desenvolvimento até 10 cm da origem e posterior secagem em estufa a 60 °C por 10 minutos, sendo então analisados em Iatroscan.

Padrões de fosfolipídios foram obtidos da Sigma Chemical Co. e utilizados para determinação do tempo de retenção e fator de resposta do detector.

3.2.3 Método Estatístico

a) Emprego de técnicas estatísticas para identificação e quantificação de triglicerídios separados por CLAE

Utilizou-se neste trabalho o programa de computador, elaborado segundo orientação de PLONIS (1990), para análise estatística da composição triglicerídica a partir dos ácidos graxos presentes nas amostras. Este programa é capaz de efetuar o cálculo da composição triglicerídica por dois diferentes métodos:

1- “Random”

2- “1,3-Random 2-Random”

conforme descrito anteriormente no item 2.5.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados reportados neste trabalho, foram obtidos através de análise de amostras em triplicata, e portanto representam um valor médio dessas determinações.

4.1. Características das amostras de milho

4.1.1. Teor de umidade do milho recebido e da farinha obtida

O teor de umidade do milho recebido e da farinha obtida após condicionamento térmico, é um dado importante, tanto para caracterização das amostras como para exprimir, em base seca, o seu teor de gordura. Além disso permite uma apreciação sobre as condições de armazenamento a que tais amostras foram submetidas.

a) do milho

As variedades de milho, recebidas do Instituto de Biologia da Unicamp, utilizadas neste trabalho apresentaram os teores de umidade constantes da Tabela 16.

Tabela 16: Teor de umidade das 4 variedades de milho recebidas do Instituto de Biologia da Unicamp.

VARIEDADE DE MILHO	UMIDADE (%)
Normal	11,89
Opaco	11,78
Pajimaca	11,55
Nutrimaiz	10,76

Observa-se, pelos dados obtidos, que as 4 variedades examinadas guardam aproximadamente o mesmo teor de umidade, o qual é compatível com os valores encontrados no caso de milho armazenado em boas condições, ou seja, abaixo do teor de

umidade crítica. Para milho em geral a umidade crítica correlacionada com o equilíbrio higroscópico a 75% de umidade relativa varia ao redor de 13% dependendo do teor de proteínas e carboidratos. Umidade elevada promove lipólise, acelera a sua atividade respiratória com produção de calor e formação de cor e odores indesejáveis. Em casos extremos podem ocorrer carbonização de sementes e, até mesmo, combustão espontânea. As condições de estocagem de sementes oleaginosas exercem influência fundamental sobre as características do óleo bruto obtido (THOMAS, 1987).

Finalmente, podemos constatar que eventuais variações na composição lipídica, objeto do nosso trabalho, não devem ser atribuídas à história do armazenamento das amostras, mas sim inferidas como características peculiares das variedades de milho estudadas.

b) da farinha de milho integral após tratamento térmico

O tratamento térmico empregado visou, de um lado a inativação de enzimas, principalmente lipolíticas, e favorecer o procedimento de extração pela desnaturação das proteínas. Para atender estes objetivos o tratamento envolveu calor e umidade adicional, como usual no processo de condicionamento utilizado na indústria de extração. Verifica-se que apesar da adição inicial de água sobre a massa moída, o efeito global traduziu-se numa ligeira desidratação das amostras.

A farinha de milho integral após tratamento térmico, segundo etapa anteriormente descrita no item 3.2.1.a apresentou o seguinte teor de umidade mostrado na Tabela 17 para cada variedade de milho analisada.

Tabela 17: Teor de umidade da farinha integral das 4 variedades de milho após tratamento térmico.

VARIEDADE DE MILHO	UMIDADE (%)
Normal	9,28
Opaco	8,97
Pajimaca	8,15
Nutrimaiz	8,28

Atingidas pelo tratamento térmico com a mesma intensidade, a inativação enzimática produzida reduziu a possibilidade de alterações e, portanto, a composição lipídica passou a ser um reflexo de cada variedade em estudo.

4.2. Rendimento de germe nas 4 variedades de milho

Como é sabido, o germe dos cereais contém a maior parte

dos lipídios dos grãos, e esta porção da semente do milho é a matéria prima mais usual para a obtenção industrial do óleo, portanto é um dado de valor conhecer-se o teor de germe em cada variedade examinada.

Após degerminação por via úmida, conforme explicado anteriormente na etapa 3.2.1.d, obteve-se o seguinte rendimento, apresentado na Tabela 18.

Tabela 18: Rendimento em germe nas 4 variedades de milho.

VARIEDADE DE MILHO	GERME (%)
Normal	9,39
Opaco	16,66
Pajimaca	26,42
Nutrimaiz	26,06

Baseado nos resultados obtidos pode-se constatar que a variedade de milho Nutrimaiz apresenta rendimento de germe muito próximo da variedade Pajimaca. Estas variedades superam a variedade Opaco e, ainda mais extensamente, o milho Normal. Contudo as diferenças entre as variedades Pajimaca e Nutrimaiz não devem ser consideradas definitivas, pois essas variedades foram as que apresentaram, segundo observação visual, maior grau de contaminação de endosperma aderente. A observação da Tabela 18 promove a expectativa de que o milho Pajimaca e o Nutrimaiz apresentem maior rendimento em óleo.

4.3. Teor de lipídios

Determinou-se neste trabalho o teor de lipídios na farinha de milho integral e no germe das 4 variedades de milho em questão através de 2 diferentes métodos de extração. Para análises posteriores utilizou-se somente o óleo obtido da farinha de milho integral, que representa mais efetivamente a composição lipídica das 4 variedades.

a) na farinha de milho integral

Determinou-se neste trabalho o teor de lipídios livres e ligados presentes na farinha de milho integral, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Porcentagem de lipídios livres e ligados na farinha de milho integral

VARIEDADE	LIPÍDIOS (%)		
	LIVRES*	LIGADOS**	TOTAIS
Normal	4,37	0,42	4,79
Opaco	5,06	0,39	5,45
Pajimaca	7,46	0,68	8,14
Nutrimaiz	7,58	0,65	8,23

* extração pelo método AOCS Ac 3-44 (1988)

** extração no resíduo segundo FOLCH (1957)

Os lipídios livres, são predominantemente de natureza apolar e portanto menos associados com outros componentes das amostras, assim podem ser extraídos, com facilidade, usando-se solvente apolar, como éter de petróleo. Eles totalizam cerca de 92% dos lipídios totais. Por sua vez os lipídios mais fortemente associados com componentes amfídicos e protéicos, são designados lipídios ligados. Na extração destes é frequentemente citado o emprego de butanol saturado com água, num procedimento à quente. No presente trabalho, entretanto substituímos esse solvente pelo clássico solvente de FOLCH (1957), isso devido a duas razões: a dificuldade de remoção do solvente residual no lipídio extraído, que ocasiona erro na sua quantificação e o fato da temperatura requerida no processo de eliminação do solvente ser elevada, podendo resultar em alterações nas amostras de lipídios que subsequentemente serão analisadas. Esses dois inconvenientes foram superados com o emprego de extração segundo FOLCH (1957), e qualquer erro que esse método eventualmente tenha introduzido, deve ser seguramente menor do que outros métodos de extração mais exaustiva acarretariam.

A observação dos resultados demonstra que as variedades de milho Pajimaca e Nutrimaiz apresentam um teor mais elevado de lipídios ligados que as demais em questão, e que o teor de lipídios totais também é maior para essas duas variedades. Isso está de acordo com a observação feita na página 51, relativa ao maior teor de germe nessas mesmas variedades.

b) no germe

O germe das 4 variedades de milho apresentaram os seguintes teores de lipídios constantes na Tabela 20.

Tabela 20: Porcentagem de lipídios livres e ligados no germe das 4 variedades de milho

VARIEDADE	LIPÍDIOS NO GERME (%)		
	LIVRES*	LIGADOS**	TOTAIS
Normal	37,75	0,76	38,51
Opaco	28,24	2,51	30,75
Pajimaca	20,54	2,38	22,92
Nutrimaiz	24,62	1,31	25,93

* extração pelo método AOCS Ac 3-44 (1988)

** extração no resíduo segundo FOLCH, (1957)

Quanto aos lipídios presentes no germe, observa-se que, o milho normal apresentou um maior rendimento em lipídios livres.

Ainda que as variedades Normal e Opaco tenham mostrado maior teor de lipídios totais no germe, é compreensível que essas mesmas variedades tenham apresentado menores teores de lipídios totais no grão (Tabela 19), já que são elas as que apresentam menor teor de germe, confirmando as expectativas feitas na página 65.

Por outro lado, observa-se que como fonte de matéria prima para extração industrial de óleo de milho, o germe do milho normal não é superado por nenhuma das outras variedades em estudo. Observa-se também que as variedades Opaco e Pajimaca apresentaram um teor consideravelmente mais elevado de lipídios ligados que as demais variedades.

4.4. Características do componente lipídico

4.4.1. Índice de refração

Óleos e gorduras possuem poder de refringência diferente de acordo com sua natureza, desviam com maior ou menor intensidade os raios luminosos que os atravessam.

O índice de refração de um óleo, depende do comprimento da cadeia hidrocarbonada e do grau de insaturação dos ácidos graxos constituintes dos triglicerídios.

O óleo das quatro variedades de milho analisadas neste trabalho apresentou o índice de refração constante na Tabela 21.

Tabela 21: Índice de refração dos lipídios das 4 variedades de milho

VARIETADE	ÍNDICE DE REFRAÇÃO (40 °C)
Normal	1,4705
Opaco	1,4710
Pajimaca	1,4709
Nutrimaiz	1,4703

Os resultados obtidos estão, em todos os casos, contidos na faixa de 1,470 a 1,474; característica para óleo de milho, segundo SWERN (1979), citada na página 11.

4.4.2. Índice de saponificação

Índice de saponificação é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar completamente 1g de gordura. Este valor está inversamente relacionado com o peso molecular médio dos ácidos graxos dos glicerídios presentes. É importante para demonstrar a presença de óleos e gorduras de alta proporção de ácidos graxos de baixo peso molecular, em misturas com outros óleos e gorduras.

O índice de saponificação do óleo obtido por extração com éter de petróleo das quatro variedades de milho em questão encontram-se na Tabela 22.

Tabela 22: Índice de saponificação em lipídios das 4 variedades de milho.

VARIEDADE	ÍNDICE DE SAPONIFICAÇÃO
Normal	190,55
Opaco	187,01
Pajimaca	190,53
Nutrimaiz	189,91

As correlações entre o peso molecular médio e o índice de saponificação acima expostos são confirmados pelos dados apresentados na Tabela 30 sobre porcentagem molar de ácido palmítico das 4 variedades.

Os resultados obtidos, e mostrados na Tabela acima encontram-se na faixa dos obtidos normalmente para óleo de milho (SWERN, 1979).

4.4.3. Índice de iodo

O índice de iodo de um óleo ou gordura é uma medida do grau de insaturação. Na prática ele é determinado pela quantidade de halogênio absorvido sendo convencionalmente expresso como o peso de iodo absorvido (g) por 100 gramas da amostra.

Para cada óleo existe um intervalo característico do valor do índice de iodo, este valor também está relacionado com o método empregado na sua determinação. Geralmente o índice de iodo é determinado pelo método de Wijs (AOCS Cd 1-25, 1988) que usa solução de cloreto de iodo em ácido acético glacial.

O índice de iodo pode também ser calculado com base na composição em ácidos graxos, método AOCS Tz 1c-85 (1988), com boa correlação com o índice de iodo determinado analiticamente.

Os resultados de índice de iodo do óleo das 4 variedades de milho encontram-se na Tabela 23.

Tabela 23: Índice de iodo dos lipídios das 4 variedades de milho

VARIEDADE	ÍNDICE DE IODO (g I ₂ /100g AMOSTRA)	
	A	B
Normal	120,24	116,28
Opaco	122,57	124,88
Pajimaca	119,28	117,42
Nutrimaiz	120,70	122,38

A Cd 1b-87 da AOCS (1988)

B Tz 1c-85 da AOCS (1988) com base na Tabela 28

Os resultados obtidos encontram-se dentro da faixa de índice de iodo característico para óleo de milho (SWERN, 1979) que é de 103 a 133g de I₂/100g de amostra.

No confronto dos dados apresentados em 4.2.1., 4.2.2. e 4.2.3. podemos destacar a coerência dos resultados obtidos, pois a expectativa com relação ao índice de refração é de que as variedades de menor índice de saponificação e as de maior índice de iodo concorram para maior índice de refração. Isso, de fato, ficou confirmado.

4.4.4. Teor de matéria insaponificável

A matéria insaponificável do óleo de milho compreende diversas classes de compostos como carotenóides, hidrocarbonetos e xantofilas; tocoferóis; álcoois triterpênicos; metilesteróis e esteróis.

A porcentagem de matéria insaponificável dos lipídios das 4 variedades de milho está relacionado na Tabela 24.

Tabela 24: Porcentagem de matéria insaponificável em lipídios das 4 variedades de milho.

VARIEDADE	MATÉRIA INSAPONIFICÁVEL (%)
Normal	3,43
Opaco	4,72
Pajimaca	3,12
Nutrimaiz	3,07

Os teores de matéria insaponificável encontrados para as 4 variedades de milho, apresentam-se em faixa superior à normalmente obtida para óleos de milho (SWERN, 1979), contudo, CONTRERAS-GUZMAN e STRONG III (1982) em seu trabalho, determina o teor de matéria insaponificável em extratos lipídicos de milho verde, das 4 variedades em questão e encontra resultados similares aos obtidos neste trabalho.

Há ainda a se considerar que os dados de literatura referentes ao teor de matéria insaponificável são em geral estimados sobre o óleo bruto extraído com solvente. No trabalho em pauta tratamos de lipídios totais cujas condições de extração favorecem a obtenção de maiores quantidades desse grupo de componentes.

4.4.5. Teor de carotenóides

Os teores de carotenóides totais das amostras obtidas das 4 variedades de milho analisadas foram expressos como zeaxantina, e os resultados encontram-se na Tabela 25.

Tabela 25: Teor de carotenóides das 4 variedades de milho expresso como zeaxantina.

VARIEDADE	TEOR DE CAROTENÓIDES TOTAIS (ppm)
Normal	36,17
Opaco	23,62
Pajimaca	32,98
Nutrimaiz	30,00

Observa-se que o milho Normal possui o teor mais elevado de carotenóides totais enquanto, o Opaco apresenta o menor teor dentre as variedades analisadas, e o Pajimaca e Nutrimaiz possuem teores semelhantes.

4.4.6. Cor

O método mais utilizado para a determinação de cor em óleos vegetais é o da AOCS (1988), que prescreve o uso do tintômetro Lovibond, utilizando cubeta de 5 1/4" para a amostra e uma escala de padrões coloridos vermelho e amarelo.

Devido à pouca disponibilidade de amostra, optou-se, neste trabalho, por outro método para a determinação de cor que possibilita medidas sobre amostras bem menores. O óleo bruto obtido através da extração com éter de petróleo, da farinha de milho integral, apresentou os seguintes dados de coloração indicados na Tabela 26, obtidos pelo método espectrofotométrico citado anteriormente no ítem 3.2.2.h.

Tabela 26: Cor do óleo das 4 variedades de milho determinada por método espectrofotométrico.

VARIEDADE	COR
Normal	551
Opaco	207
Pajimaca	101
Nutrimaiz	216

Observa-se, comparando a intensidade de cor dos óleos obtidos, que das 4 variedades de milho a Normal apresenta coloração mais acentuada. Nota-se ainda que as variedades Opaco e Nutrimaiz possuem coloração muito próxima, enquanto a variedade Pajimaca proporciona óleo mais claro dentre as variedades examinadas.

4.4.7. Porcentagem de fósforo e fosfatídios

As amostras dos lipídios totais das 4 variedades de milho apresentaram as porcentagens de fósforo e fosfatídios presentes na Tabela 27.

Tabela 27: Porcentagem de fósforo e fosfatídios dos lipídios das 4 variedades de milho analisadas.

VARIEDADE	FÓSFORO (%)	FOSFATÍDIOS (%) (FATOR = 30)
Normal	0,0903	2,709
Opaco	0,0926	2,779
Pajimaca	0,0866	2,598
Nutrimaiz	0,0950	2,850

A variedade Nutrimaiz é a que apresenta mais elevado teor de fósforo em seus lipídios totais, porém não muito superior a média que está em torno de 910 ppm.

O fator 30 para a conversão do teor de fósforo em porcentagem de fosfatídios está aqui empregado por ser um fator muito usado para tal fim e nos permite, em termos provisórios, estabelecer valor de conteúdo de fosfatídios. No ítem 4.4.12. apresentamos novas considerações sobre fósforo e fosfatídios que nos permitem estabelecer um fator mais preciso para esta finalidade e confrontamos os dados obtidos com os dois fatores.

4.4.8. Dados comparativos da composição em ácidos graxos

Quanto à composição em ácidos graxos, o óleo de milho tem elevada importância por apresentar alto teor de ácidos graxos insaturados, com predominância do ácido linoléico e baixos teores de linolênico, o que faz desse óleo um “óleo premium” (SWERN, 1979).

a) lipídios da farinha de milho integral

A composição em ácidos graxos dos lipídios das 4 variedades de milho estudadas encontram-se na Tabela 28.

Tabela 28: Composição em ácidos graxos dos lipídios totais do milho das 4 variedades estudadas.

AC. GRAXO	COMPOSIÇÃO (%)			
	NORMAL	OPACO	PAJIMACA	NUTRIMAIZ
C 16:0	13,43	12,61	14,38	11,72
C 16:1	0,13	0,28	0,31	0,34
C 18:0	3,07	1,85	2,47	2,29
C 18:1	37,47	33,53	36,36	36,86
C 18:2	45,22	50,32	44,17	46,60
C 20:0	0,44	0,17	0,67	0,51
C 18:3	0,23	1,24	1,64	1,67
TOTAL SATURADOS	16,94	14,63	17,52	14,52
TOTAL MONOINSAT.	37,60	33,81	36,67	37,20
TOTAL POLINSAT.	45,45	51,56	45,81	48,27

Na Figura 1 os dados numéricos da Tabela 28 são apresentados na forma de diagrama de barras e permite uma pronta confrontação desses valores.

b) lipídios do germe de milho

Os ácidos graxos presentes nos lipídios extraídos do germe das 4 variedades de milho encontram-se na Tabela 29.

Tabela 29: Composição em ácidos graxos dos lipídios totais do germe das 4 variedades de milho.

AC. GRAXO	COMPOSIÇÃO (%)			
	NORMAL	OPACO	PAJIMACA	NUTRIMAIZ
C 16:0	13,51	12,48	14,69	11,48
C 16:1	0,20	0,22	0,22	0,27
C 18:0	2,59	1,86	2,36	2,22
C 18:1	36,04	33,67	36,84	36,78
C 18:2	45,86	50,11	45,17	47,47
C 20:0	0,51	0,35	0,33	0,60
C 18:3	1,27	1,29	0,38	1,17
TOTAL SATURADOS	16,61	14,69	17,38	14,30
TOTAL MONOINSAT.	36,24	33,89	37,06	37,05
TOTAL POLINSAT.	47,13	51,40	45,55	48,64

Os dados sobre saturados, monoinsaturados e polinsaturados encontram-se expostos de forma diagramada na Figura 2.

Quanto à composição em ácidos graxos, observando-se as Figuras 1 e 2, nota-se que a variedade Nutrimaiz em ambos os casos possui um teor de ácidos saturados muito próximo dos da variedade Opaco, já o teor de monoinsaturados se aproxima muito dos da variedade Pajimaca, quanto aos ácidos graxos polinsaturados o Nutrimaiz apresenta um teor intermediário entre as variedades Opaco e Pajimaca, seus progenitores.

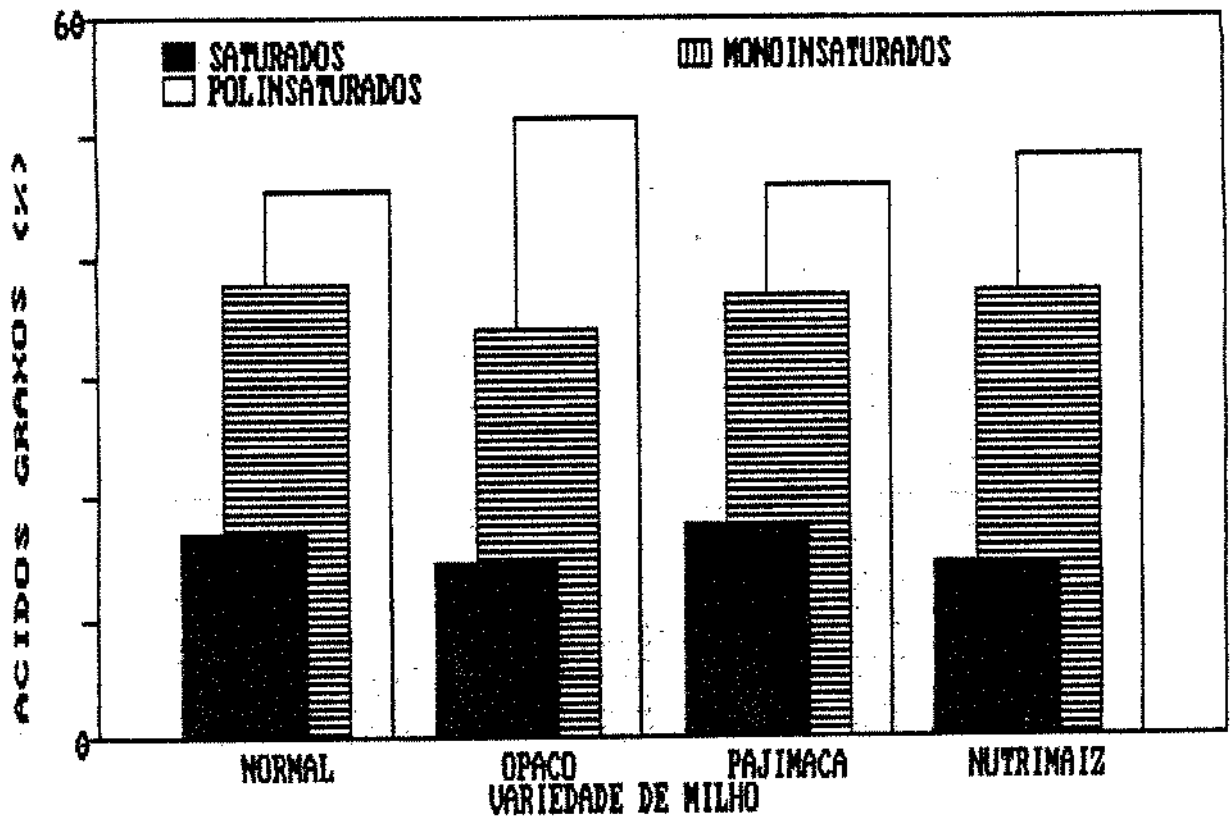


Figura 1: Teor de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados para óleo obtido da farinha de milho integral das variedades Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz.

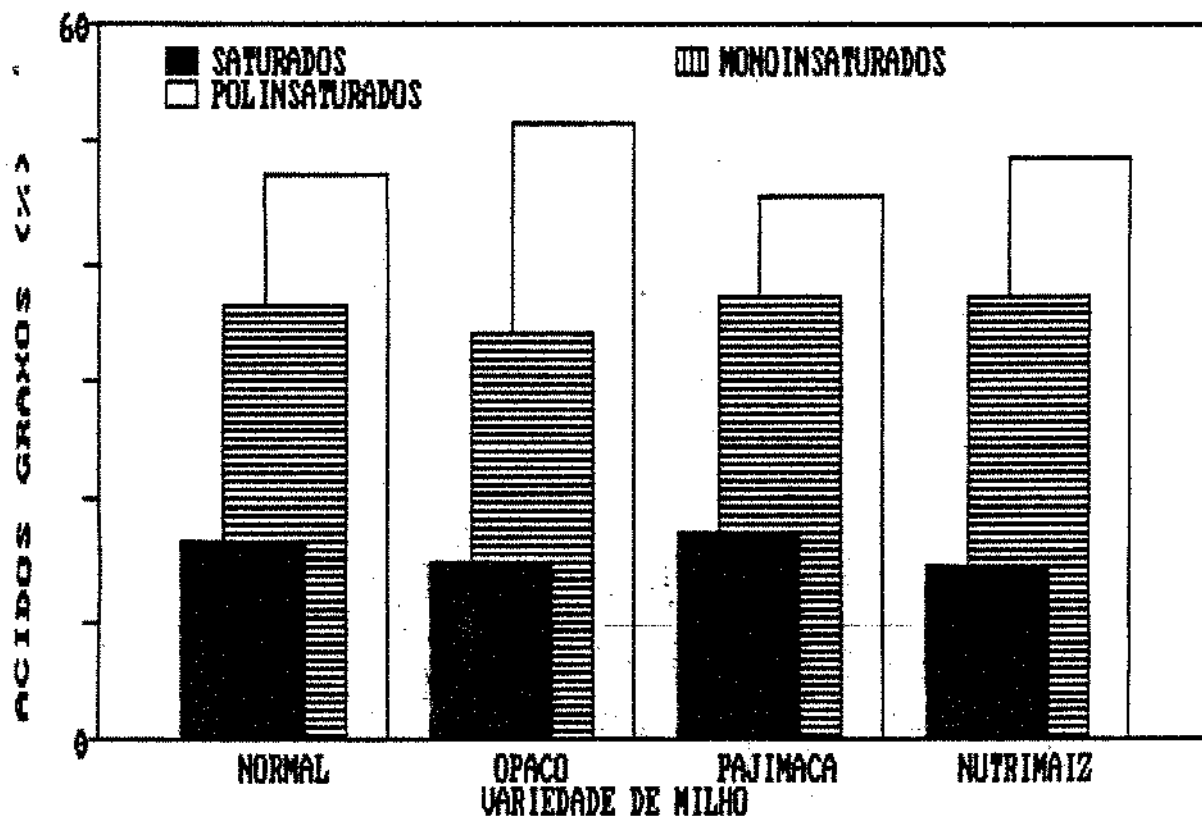


Figura 2: Teor de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e polinsaturados para óleo obtido do germe de milho das variedades Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz.

4.4.9. Composição triglicéridica

Segundo metodologia descrita no item 3.2.2.m obteve-se os cromatogramas das Figuras 3, 4, 5 e 6 relativos à composição triglicéridica do óleo das variedades Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz, respectivamente.

A composição triglicéridica dos lípidios das 4 variedades de milho em questão foram examinadas comparando-se os resultados experimentais obtidos por CLAE com a distribuição "1,3- Random 2- Random" e a distribuição "Random" visando correlacionar os dados obtidos através dessas técnicas e por este meio, identificar, com segurança, os picos obtidos nos cromatogramas que por falta de padrões sómente poderiam ser identificados com auxílio da análise de probabilidade.

O calculo "Random" e "1,3-Random 2-Random" para a composição triglicéridica foram efetuados devido a estas 2 hipóteses melhor se aproximarem de valores reais.

O uso do computador facilita a realização de tão elevado número de operações matemáticas requeridas para tal fim. Com a composição em ácidos graxos da fração lipídica das quatro variedades de milho obtidas por cromatografia gasosa, calculou-se a porcentagem molar de cada ácido graxo presente nas amostras e os dados obtidos encontram-se na Tabela 30.

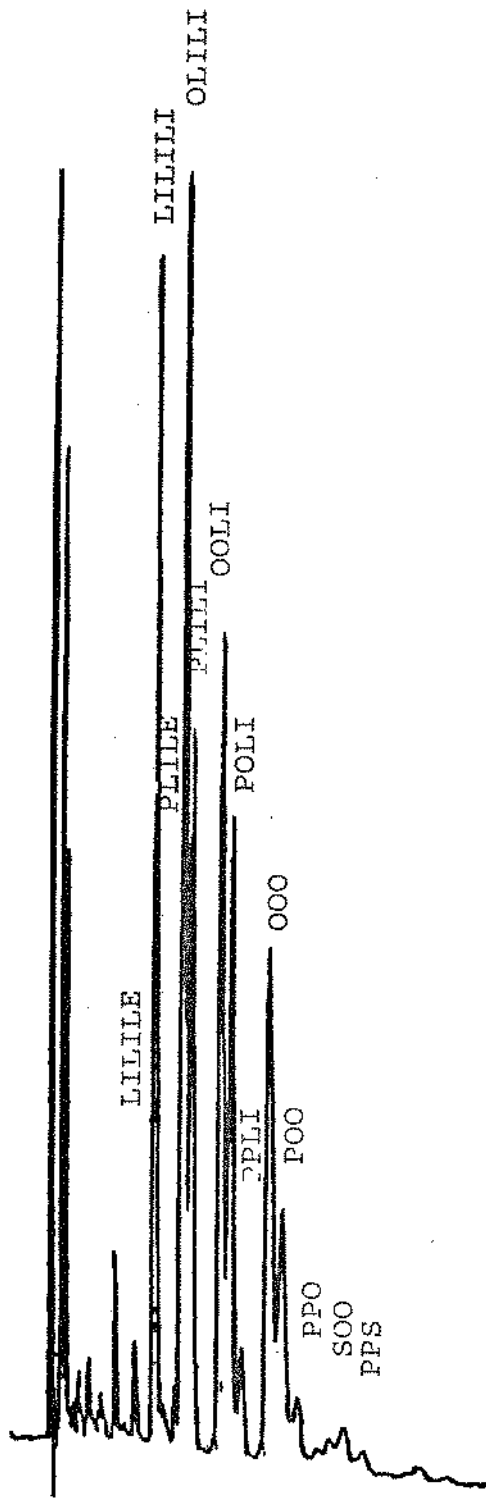


Figura 4. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica do óleo da variedade de milho Opaco.

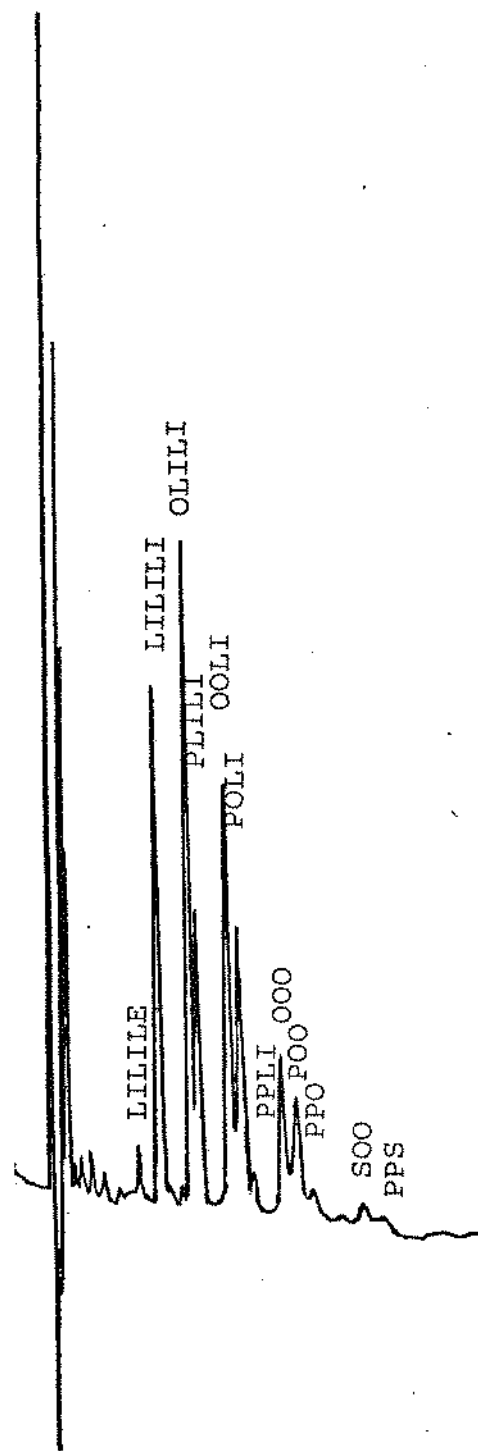


Figura 6. Cromatograma (CLAE) da composição triglicéridica do óleo da variedade de milho Nutrimaiz.

Tabela 30: Composição em ácidos graxos das 4 variedades de milho, porcentagem em peso e porcentagem molar

ÁCIDO GRAXO	VARIEDADE DE MILHO							
	NORMAL		OPACO		PAJIMACA		NUTRIMAIZ	
	%PESO	%MOLAR	%PESO	%MOLAR	%PESO	%MOLAR	%PESO	%MOLAR
C16:0	13,43	14,56	12,61	13,66	14,38	15,57	11,72	12,72
C18:0	3,07	3,00	1,85	1,81	2,47	2,41	2,29	2,24
C20:0	0,44	0,39	0,17	0,15	0,67	0,59	0,51	0,45
C16:1	0,13	0,14	0,28	0,31	0,31	0,34	0,34	0,37
C18:1	37,47	36,87	33,53	32,98	36,36	35,73	36,86	36,31
C18:2	45,22	44,81	50,32	49,85	44,17	43,72	46,60	46,23
C18:3	0,23	0,23	1,24	1,24	1,64	1,63	1,67	1,67

Através do programa de computador obteve-se uma listagem dos prováveis triglicerídios presentes nas amostras e suas respectivas porcentagens. Cada ácido graxo presente nos triglicerídios foi representado por um símbolo segundo a Tabela 31.

Tabela 31: Abreviatura dos ácidos graxos presentes nos triglicerídios.

SÍMBOLO	ÁCIDO GRAXO
P	ácido palmítico C16:0
S	ácido esteárico C18:0
A	ácido araquídico C20:0
PO	ácido palmitoleico C16:1
O	ácido oléico C18:1
LI	ácido linoléico C18:2
LE	ácido linolênico C18:3

Com vistas a melhor interpretação dos resultados obtidos adotou-se o critério de eliminar os valores inferiores a 0,03% nos cálculos da composição triglicéridica,

fato este que elimina da relação um grande número de triglicerídios de menor interesse, mantendo os que realmente tem maior probabilidade de ocorrer na amostra.

Com os dados obtidos através de cálculo de distribuição "Random" elaborou-se as Tabelas 32, 33, 34 e 35 e para distribuição "1,3- Random 2-Random" as Tabelas 36, 37, 38 e 39 para as variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz.

Sabendo-se que a sequência de eluição dos triglicerídios em cromatografia líquida obedece ao número de partição, ordenou-se os resultados obtidos segundo uma tabela, em ordem crescente de número de partição. Nas Tabelas 40, 41, 42 e 43 encontram-se os resultados obtidos através de cálculo de distribuição "Random" para as variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz respectivamente. Já nas Tabelas 44, 45, 46 e 47 são apresentados os resultados obtidos através de distribuição "1-3 Random -2 Random" para as mesmas variedades.

Nestas tabelas, que apresentam símbolos dos triglicerídios e suas porcentagens, colocou-se também as porcentagens dos triglicerídios de um mesmo grupo, ou seja, triglicerídios que possuem mesmo número de átomos de carbono e mesmo número de duplas ligações.

Com os dados de porcentagem de cada grupo de triglicerídio encontrados nas amostras elaborou-se um gráfico de código de barras para cada variedade de milho estudada, apresentados a seguir como Figura 7, 8, 9 e 10.

Calculou-se o coeficiente de correlação existente entre os dados obtidos através de distribuição "Random", "1-3 Random -2 Random" e os obtidos por CLAE que podem ser vistos no rodapé das Tabelas 40 a 47, demonstrando que os resultados obtidos por CLAE e os calculados são similares em ambos os casos.

O triglicerídio predominante é o oleildilinoleína (OLILI), com predominância de insaturados. A variedade Nutrimaiz apresentou um teor de triglicerídios saturados inferior ao encontrado em seus progenitores.

Tabela 32: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Normal

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
PPP	1	48	0	48	0,3087
PPS	3	50	0	50	0,1908
PSS	3	52	0	52	0,0393
POP	3	50	1	48	2,3449
POS	6	52	1	50	0,9663
POA	6	54	1	52	0,1256
SOS	3	54	1	52	0,0995
PPOO	6	50	2	46	0,0451
PLIP	3	50	2	46	2,8498
POO	3	52	2	48	5,9378
PLIS	6	52	2	48	1,1744
PLIA	6	54	2	50	0,1527
SOO	3	54	2	50	1,2235
SALI	6	56	2	52	0,0315
SLIS	3	54	2	50	0,1210
AOO	3	56	2	52	0,1591
PPOLI	6	50	3	44	0,0595
POLI	6	52	3	46	14,4331
POOO	3	52	3	46	0,0571
SOLI	6	54	3	48	2,9739
OOO	1	54	3	48	5,0121
AOLI	6	56	3	50	0,3866
POLE	6	52	4	44	0,0741
PLILI	3	52	4	44	8,7707
POOLI	6	52	4	44	0,1388
SLILI	3	54	4	46	1,8071
OOLI	3	54	4	46	18,2744
ALILI	3	56	4	48	0,2349
PLILE	6	52	5	42	0,0900
POLILI	3	52	5	42	0,0843
OOLE	3	54	5	44	0,0938
OLILI	3	54	5	44	22,2098
OLILE	6	54	6	42	0,2280
LILILI	1	54	6	42	8,9976
LILILE	3	54	7	40	0,1385

Tabela 33: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Opaco

CÓDIGO	ISÓMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
PPP	1	48	0	48	0,2549
PPS	3	50	0	50	0,1013
POP	3	50	1	48	1,8461
POS	3	52	1	50	0,4892
POA	6	54	1	52	0,0405
SOS	3	54	1	52	0,0324
PPOO	6	50	2	46	0,0838
PLIP	3	50	2	46	2,7905
POO	3	52	2	48	4,4573
PLIS	6	52	2	48	0,7395
PLIA	6	54	2	50	0,0613
SOO	3	54	2	50	0,5906
SLIS	3	54	2	50	0,0490
AOO	3	56	2	52	0,0489
PPOLI	6	50	3	44	0,1267
POLI	6	52	3	46	13,4747
POOO	3	52	3	46	0,1011
SOLI	6	54	3	48	1,7854
OOO	1	54	3	48	3,5872
AOLI	6	56	3	50	0,1480
POLE	6	52	4	44	0,3352
PLILI	3	52	4	44	10,1836
POOLI	6	52	4	44	0,3058
SLILI	3	54	4	46	1,3494
OOLI	3	54	4	46	16,2663
ALILI	3	56	4	48	0,1118
PLILE	6	52	5	42	0,5066
POLILI	3	52	5	42	0,2311
OOLE	3	54	5	44	0,4046
OLILI	3	54	5	44	24,5868
OLILE	6	54	6	42	1,2232
LILILI	1	54	6	42	12,3878
LILILE	3	54	7	40	0,9244

Tabela 34: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Pajimaca

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
PPP	1	48	0	48	0,3775
PPS	3	50	0	50	0,1753
PPA	3	52	0	52	0,0429
POP	3	50	1	48	2,5989
POS	3	52	1	50	0,8045
POA	6	54	1	52	0,1970
SOS	3	54	1	52	0,0623
PPOO	3	50	2	46	0,1135
PLIP	3	50	2	46	3,1800
POO	3	52	2	48	5,9646
PLIS	6	52	2	48	0,9844
PLIA	6	54	2	50	0,2410
SOO	3	54	2	50	0,9232
SLIS	3	54	2	50	0,0762
AOO	3	56	2	52	0,2260
PPOLI	6	50	3	44	0,1389
POLI	6	52	3	46	14,5969
POOO	3	52	3	46	0,1303
SOLI	6	54	3	48	2,2594
OOO	1	54	3	48	4,5631
AOLI	6	56	3	50	0,5531
POLE	6	52	4	44	0,5442
PLILI	3	52	4	44	8,9305
POOLI	6	52	4	44	0,3188
SLILI	3	54	4	46	1,3823
OOLI	3	54	4	46	16,7505
ALILI	3	56	4	48	0,3384
PLILE	6	52	5	42	0,6659
POLILI	3	52	5	42	0,1950
OOLE	3	54	5	44	0,6245
OLILI	3	54	5	44	20,4963
OLILE	6	54	6	42	1,5283
LILILI	1	54	6	42	8,3599
LILILE	3	54	7	40	0,9350

Tabela 35: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "Random" para o óleo de milho da variedade Nutrimaiz

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
PPP	1	48	0	48	0,2058
PPS	3	50	0	50	0,1087
POP	3	50	1	48	2,1434
POS	3	52	1	50	0,8833
POA	6	54	1	52	0,1148
SOS	3	54	1	52	0,0910
PPOO	6	50	2	46	0,0489
PLIP	3	50	2	46	2,6050
POO	3	52	2	48	6,4453
PLIS	6	52	2	48	1,0735
PLIA	6	54	2	50	0,1395
SOO	3	54	2	50	1,3280
SLIS	3	54	2	50	0,1106
AOO	3	56	2	52	0,1726
PPOLI	6	50	3	44	0,0595
POLI	6	52	3	46	15,6665
POOO	3	52	3	46	0,0552
SOLI	6	54	3	48	3,2280
OOO	1	54	3	48	4,8453
AOLI	6	56	3	50	0,4196
POLE	6	52	4	44	0,0804
PLILI	3	52	4	44	9,5202
POOLI	6	52	4	44	0,1342
SLILI	3	54	4	46	1,9616
OOLI	3	54	4	46	17,6662
ALILI	3	56	4	48	0,2550
PLILE	6	52	5	42	0,0977
POLILI	3	52	5	42	0,0815
OOLE	3	54	5	44	0,0907
OLILI	3	54	5	44	21,4707
OLILE	6	54	6	42	0,2204
LILILI	1	54	6	42	8,6981
LILILE	3	54	7	40	0,1339

Tabela 36: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" para o óleo de milho da variedade Normal

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
POP	1	50	1	48	2,1434
POS	2	52	1	50	0,8833
POA	2	54	1	52	0,1148
SOS	15	54	1	52	0,0910
PPOO	4	50	2	46	0,0489
PLIP	1	50	2	46	2,6050
POO	2	52	2	48	6,4453
PLIS	2	52	2	48	1,0735
PLIA	2	54	2	50	0,1395
SOO	2	54	2	50	1,3280
SLIS	1	54	2	50	0,1106
AOO	2	56	2	52	0,1726
PPOLI	4	50	3	44	0,0595
POLI	4	52	3	46	15,6665
POOO	3	52	3	46	0,0552
SOLI	4	54	3	48	3,2280
OOO	1	54	3	48	4,8453
AOLI	4	56	3	50	0,4196
POLE	4	52	4	44	0,0804
PLILI	2	52	4	44	9,5202
POOLI	6	52	4	44	0,1342
SLILI	2	54	4	46	1,9616
OOLI	3	54	4	46	17,6662
ALILI	2	56	4	48	0,2550
PLILE	4	52	5	42	0,0977
POLILI	3	52	5	42	0,0815
OOLE	3	54	5	44	0,0907
OLILI	3	54	5	44	21,4707
OLILE	6	54	6	42	0,2204
LILILI	1	54	6	42	8,6981
LILILE	3	54	7	40	0,1339

Tabela 37: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" para o óleo de milho da variedade Opaco

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
POP	1	50	1	48	1,6409
POS	2	52	1	50	0,4349
POA	2	54	1	52	0,0360
PPOO	4	50	2	46	0,0901
PLIP	1	50	2	46	2,4803
POO	2	52	2	48	4,7935
PLIS	2	52	2	48	0,6573
PLIA	2	54	2	50	0,0545
SOO	2	54	2	50	0,6352
SLIS	1	54	2	50	0,0435
AOO	2	56	2	52	0,0526
PPOLI	4	50	3	44	0,1362
PLEP	1	50	3	44	0,0617
POLI	4	52	3	46	14,4910
POOO	3	52	3	46	0,0987
SOLI	4	54	3	48	1,9201
OOO	1	54	3	48	3,5007
AOLI	4	56	3	50	0,1591
POLE	4	52	4	44	0,3605
PLILI	2	52	4	44	1,9517
POOLI	6	52	4	44	0,2984
SOLE	4	54	4	46	0,0478
SLILI	2	54	4	46	1,4511
OOLI	3	54	4	46	15,8740
ALILI	2	56	4	48	0,1203
PLILE	4	52	5	42	0,5448
POLILI	3	52	5	42	0,2255
SLILE	4	54	5	44	0,0722
OOLE	3	54	5	44	0,3949
OLILI	3	54	5	44	23,9939
OLILE	6	54	6	42	1,1937
LILILI	1	54	6	42	12,0891
LILILE	3	54	7	40	0,9021

Tabela 38: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "1,3- Random 2-Random" para o óleo de milho da variedade Pajimaca

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
POP	1	50	1	48	2,3937
POS	2	52	1	50	0,7410
POA	2	54	1	52	0,1814
SOS	1	54	1	52	0,0573
PPOO	4	50	2	46	0,1235
PLIP	1	50	2	46	2,9289
POO	2	52	2	48	6,4896
PLIS	2	52	2	48	0,9067
PLIA	2	54	2	50	0,2220
SOO	2	54	2	50	1,0045
SLIS	1	54	2	50	0,0702
SLIA	2	56	2	52	0,0344
AOO	2	56	2	52	0,2459
PPOLI	4	50	3	44	0,1511
PLEP	1	50	3	44	0,1092
POLI	4	52	3	46	15,8817
PLES	2	52	3	46	0,0338
POOO	3	52	3	46	0,1256
SOLI	4	54	3	48	2,4582
OOO	1	54	3	48	4,3986
AOLI	4	56	3	50	0,6018
POLE	4	52	4	44	0,5921
PLILI	2	52	4	44	9,7166
POOLI	6	52	4	44	0,3073
SOLE	4	54	4	46	0,0916
SLILI	2	54	4	46	1,5040
OLLI	3	54	4	46	16,1468
ALILI	2	56	4	48	0,3682
PLILE	4	52	5	42	0,7245
POLILI	3	52	5	42	0,1880
SLILE	4	54	5	44	0,1121
OOLE	3	54	5	44	0,6020
OLILI	3	54	5	44	19,7576
OLILE	6	54	6	42	1,4732
LILILI	1	54	6	42	8,0586
LILILE	3	54	7	40	0,9013
LILELE	3	54	8	38	0,0336

Tabela 39: Composição triglicéridica calculada segundo distribuição "1,3- Random 2-Random" para o óleo de milho da variedade Nutrimaiz

CÓDIGO	ISÔMEROS	N.CARBONOS	N.DUPLAS	N.PARTIÇÃO	PERCENTUAL
POP	1	50	1	48	1,5628
POS	2	52	1	50	0,5504
POA	2	54	1	52	0,1106
SOS	1	54	1	52	0,0485
PPOO	4	50	2	46	0,1102
PLIP	1	50	2	46	1,9898
POO	2	52	2	48	5,4071
PLIS	2	52	2	48	0,7008
PLIA	2	54	2	50	0,1408
SOO	2	54	2	50	0,9522
SLIS	1	54	2	50	0,0617
AOO	2	56	2	52	0,1913
PPOLI	4	50	3	44	0,1403
PLEP	1	50	3	44	0,0719
POLI	4	52	3	46	13,7688
POOO	3	52	3	46	0,1430
SOLI	4	54	3	48	2,4247
OOO	1	54	3	48	4,6769
AOLI	4	56	3	50	0,4871
POLE	4	52	4	44	0,4974
PLILI	2	52	4	44	8,7652
POOLI	6	52	4	44	0,3641
SOLE	4	54	4	46	0,0876
SLILI	2	54	4	46	1,5436
OOLI	3	54	4	46	17,8640
ALILI	2	56	4	48	0,3101
PLILE	4	52	5	42	0,6332
POLILI	3	52	5	42	0,2318
SLILE	4	54	5	44	0,1115
OOLE	3	54	5	44	0,6453
OLILI	3	54	5	44	22,7444
OLILE	6	54	6	42	1,6432
LILILI	1	54	6	42	9,6528
LILILE	3	54	7	40	1,0461
LILELE	3	54	8	38	0,0378

Tabela 40: Composição triglicéridica (mol %) calculada segundo distribuição "Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Normal

Número Partição	Grupo	Triglicérido	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridos	Grupo	
38	54:8	LILELE			
40	54:7	LILLE	0,138	0,138	0,85
		OLELE			
42	54:6	LILILI	8,997	9,225	12,76
		OLILE	0,228		
	52:5	PLILE	0,090	0,174	0,72
		POLILI	0,084		0,66
44	54:5	OLII	22,209	22,302	19,74
		OOLE	0,093		
		SLILE			
	52:4	PLILI	8,770	8,982	11,68
		POLE	0,074		
		POOLI	0,138		
	50:3	PPOLI	0,054	0,054	
		PPILE			
46	54:4	OOLI	18,274	20,081	14,71
		SLILI	1,807		
		SOLE			
	53:3	POLI	14,433	14,490	14,57
		POOO	0,057		
		PSLE			
50:2	PPLI	2,849	2,894	2,72	
	PPOO	0,045			
48	56:4	LILIA	0,234	0,234	
	54:3	O.O.O	5,012	7,985	6,71
		SOLI	2,973		
	52:2	POO	5,937	7,111	8,32
		PSLI	1,174		
	50:1	P.P.O	2,344	2,344	2,72
48:0	PPP	0,308	0,308		
50	56:3	OLIA	0,386	1,495	0,55
		SOO	1,223		1,66
	54:2	PLIA	0,152		
		SSLI	0,120		
	52:1	PSO	0,966	0,966	0,95
	50:0	PPS	0,190	0,190	0,11
52	56:2	O.O.A	0,159	0,190	0,12
		SLIA	0,031		
	54:1	P.O.A	0,125	0,224	0,35
		SSO	0,099		
	52:0	PPA		0,039	
		PSS	0,039		
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9765

Tabela 41: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "random" e obtida por CLAE do óleo de milho Opaco

Número Partição	Grupo	Triglicérido	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridos	Grupo	
38	54:8	LILELE			
40	54:7	LILILE	0,924	0,924	1,16
		OILELE			
42	54:6	LILILI	12,387	13,610	16,83
		OILILE	1,223		
	52:5	PLILE	0,506	0,737	2,52
		POLILI	0,231		
44	54:5	OLILI	24,586	25,057	18,84
		OOLE	0,404		
		SLILE	0,067		
		PLILI	10,183		
	52:4	POLE	0,335	10,823	11,63
		POOLI	0,305		
		PPOLI	0,126		
	50:3	PPILE	0,069	0,195	
POLI		16,266			
46	54:4	SLILI	1,349	17,659	12,42
		SOLE	0,044		
		POLI	13,474		
	53:3	POOO	0,101	13,575	11,53
		PSLE			
		PPLI	2,790		
	50:2	PPOO	0,083	2,873	1,75
48	56:4	LILIA	0,111	0,111	
	54:3	O O O	3,587	5,372	9,90
		SOLI	1,785		
	52:2	POO	4,457	5,196	6,11
		PSLI	0,739		
	50:1	PPO	1,846	1,846	1,76
48:0	PPP	0,254	0,254	0,48	
50	56:3	OLIA	0,147	0,147	
	54:2	SOO	0,590	0,699	0,65
		PLIA	0,061		
		SSLI	0,048		
	52:1	PSO	0,489	0,489	
	50:0	PPS	0,101	0,101	0,50
52	56:2	O O A	0,048	0,048	
		SLIA			
	54:1	P O A	0,040	0,072	0,16
		SSO	0,032		
	52:0	PPA			
PSS					
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9485

Tabela 42: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Pajimaca

Número Partição	Grupo	Triglicéridio	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridios	Grupo	
38	54:8	LILELE	0,034	0,034	
40	54:7	LILILE	0,935	0,935	
		OILELE			
42	54:6	LILILI	8,359	9,887	16,75
		OILILE	1,528		
	52:5	PLILE	0,665	0,860	2,27
		POLILI	0,195		1,26
44	54:5	OLILI	20,496	21,223	17,85
		OOLE	0,624		
		SLILE	0,103		
	52:4	PLILI	8,930	9,792	11,45
		POLE	0,544		
		POOLI	0,318		
	50:3	PPOLI	0,138	0,256	
		PPLE	0,118		
46	54:4	OOLI	16,750	18,216	13,10
		SLILI	1,382		
		SOLE	0,084		
	53:3	POLI	14,596	14,762	12,74
		POOO	0,130		
		PSLE	0,036		
	50:2	PPLI	3,180	3,293	2,28
PPOO		0,113			
48	56:4	LILIA	0,338	0,338	
	54:3	O.O.O	4,563	6,822	10,51
		SOLI	2,259		
	52:2	POO	5,964	6,948	7,32
		PSLI	0,984		
	50:1	P.P.O	2,598	2,598	2,13
48:0	PPP	0,377	0,377	0,29	
50	56:3	OLIA	0,553	0,553	0,56
		SOO	0,923		1,38
	54:2	PLIA	0,241	1,240	
		SSLI	0,076		
	52:1	PSO	0,804	0,804	0,71
50:0	PPS	0,175	0,175	0,08	
52	56:2	OOA	0,226	0,263	0,37
		SLIA	0,037		
	54:1	POA	0,196	0,258	0,14
		SSO	0,062		
	52:0	PPA	0,042	0,042	
PSS					
54	56:1	SOA	0,030	0,030	

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9362

Tabela 43: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Nutrimaiz

Número Partição	Grupo	Triglicéridio	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridios	Grupo	
38	54:8	LILLE	0,038	0,038	
40	54:7	LILLE	1,071	1,101	1,32
		OILEE	0,030		
42	54:6	LILLI	9,883	11,565	14,33
		OILLE	1,682		
	52:5	PLILE	0,589	0,826	0,65
		POLLI	0,237		0,53
44	54:5	OLILI	23,288	24,051	20,99
		OOLEE	0,660		
		SLILE	0,103		
	52:4	PLILI	8,157	8,991	10,57
		POLE	0,462		
		POOLI	0,372		
	50:3	PPOLI	0,130	0,211	
		PPILE	0,081		
	46	54:4	OOLI	18,291	19,808
SLILI			1,436		
SOLE			0,081		
53:3		POLI	12,814	12,960	12,96
		POOO	0,146		
		PSLE			
50:2		PPLI	2,244	2,346	1,56
	PPOO	0,102			
48	56:4	LILIA	0,288	0,288	
	54:3	O.O.O	4,788	7,044	7,46
		SOLI	2,256		
	52:2	POO	5,032	5,822	7,81
		PSLI	0,790		
	50:1	P.P.O	1,762	1,762	1,59
48:0	PPP	0,205	0,205	0,045310.450.38	
50	56:3	OLIA	0,453	0,453	1,85
		SOO	0,886		
	54:2	PLIA	0,158	1,113	
		SSLI	0,069		
	52:1	PSO	0,620	0,620	0,41
50:0	PPS	0,108	0,108		
52	56:2	O.O.A	0,178	0,1789	0,92
		SLIA			
	54:1	P.O.A	0,124	0,178	0,30
		SSO	0,054		
	52:0	PPA			
PSS					
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9831

Tabela 44: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Normal

Número Partição	Grupo	Triglicerídio	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicerídios	Grupo	
38	54:8	LILELE			
40	54:7	LILILE	0,133	0,133	0,85
		OILELE			
42	54:6	LILILI	8,698	8,918	12,76
		OILILE	0,220		
	52:5	PLILE	0,097	0,178	0,72
		POLILI	0,081		0,66
44	54:5	OLILI	21,470	21,560	19,74
		OOLE	0,090		
		SLILE			
	52:4	PLILI	9,520	9,734	11,68
		POLE	0,080		
		POOLI	0,134		
	50:3	PPOLI	0,059	0,059	
		PPILE			
46	54:4	OOLI	17,666	19,627	14,71
		SLILI	1,961		
		SOLE			
	53:3	POLI	15,666	15,721	14,57
		POOO	0,055		
		PSLE			
	50:2	PPLI	2,604	2,652	2,72
PPOO		0,048			
48	56:4	LILIA	0,255	8,072	6,71
	54:3	O.O.O	4,845		
		SOLI	3,227		
	52:2	POO	6,445	7,518	8,32
		PSLI	1,073		
	50:1	P.P.O	2,143	2,143	2,72
48:0	PPP				
50	56:3	OLIA	0,419	1,577	0,55
		SOO	1,328		1,66
	54:2	PLIA	0,139		
		SSLI	0,110		
	52:1	P.S.O	0,883	0,883	0,95
	50:0	PPS			0,11
52	56:2	O.O.A	0,172	0,172	0,12
		SLIA			
	54:1	P.O.A	0,114	0,205	0,35
		SSO	0,091		
	52:0	PPA			
		P.S.S			
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9535

Tabela 45: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" e obtida por Clae do óleo de milho Opaco

Número Partição	Grupo	Triglicérido	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridos	Grupo	
38	54:8	LILELE			
40	54:7	LILILE	0,202	0,902	1,16
		OILELE			
42	54:6	LILILI	12,089	13,282	16,83
		OILILE	1,193		
	52:5	PLILE	0,544	0,769	2,52
		POOLIL	0,225		1,74
44	54:5	OLILI	23,993	24,459	18,84
		OOLE	0,394		
		SLILE	0,072		
	52:4	PLILI	10,951	11,609	11,63
		POLE	0,360		
		POOLI	0,298		
	50:3	PPOLI	0,136	0,197	
		PPILE	0,061		
46	54:4	OOLI	15,874	17,372	12,42
		SLILI	1,451		
		SOLE	0,047		
	53:3	POLI	14,490	14,588	11,53
		POOO	0,098		
		PSLE			
	50:2	PPLI	2,480	2,570	1,75
PPOO		0,090			
48	56:4	LILIA	0,120	0,120	
	54:3	O.O.O	3,500	5,420	9,90
		SOLI	1,920		
	52:2	POO	4,793	5,450	6,11
		PSLI	0,657		
	50:1	P.P.O	1,640	1,640	1,76
	48:0	PPP			0,48
50	56:3	OLIA	0,159	0,159	0,65
		SOO	0,635		
	54:2	PLIA	0,054	0,732	
		SSLI	0,043		
	52:1	PSO	0,434	0,434	
50:0	PPS			0,50	
52	56:2	O.O.A	0,052	0,052	
		SLIA			
	54:1	P.O.A	0,036	0,036	0,16
		SSO			
	52:0	PPA			
PSS					
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9509

Tabela 46: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Pajimaca

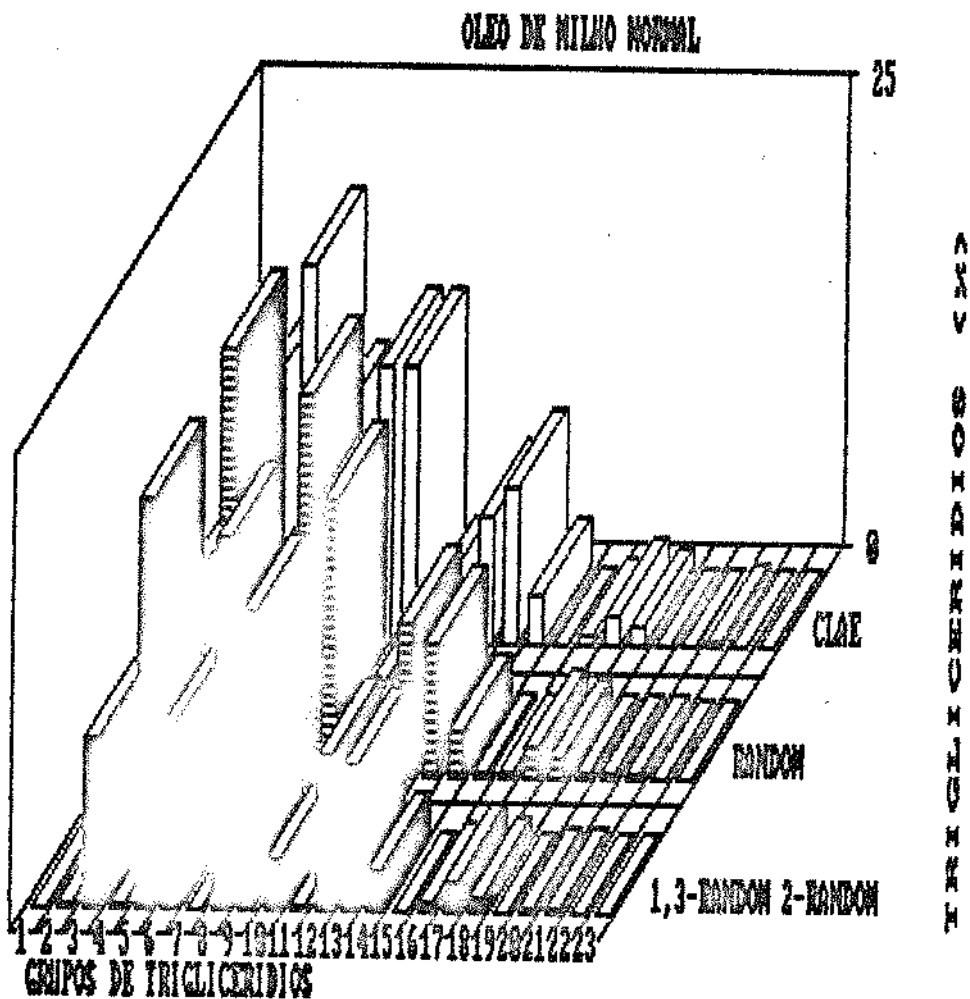
Número Partição	Grupo	Triglicérido	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridos	Grupo	
38	54:8	LILELE	0,033	0,033	
40	54:7	LILILE	0,901	0,901	
		OILELE			
42	54:6	LILILI	8,058	9,531	16,75
		OLILE	1,473		
	52:5	PLILE	0,724	0,912	2,27
		POLILI	0,188		1,26
44	54:5	OLILI	19,757	20,471	17,85
		OOLE	0,602		
		SLILE	0,112		
	52:4	PLILI	9,716	10,615	11,45
		POLE	0,592		
		POOLI	0,307		
	50:3	PPOLI	0,151	0,260	
		PPILE	0,109		
46	54:4	OOLI	16,146	17,740	13,10
		SLILI	1,503		
		SOLE	0,091		
	53:3	POLI	15,881	16,039	12,74
		POOO	0,125		
		PSLE	0,033		
	50:2	PPLI	2,928	3,051	2,28
PPOO		0,123			
48	56:4	LILIA	0,368	0,368	
	54:3	O.OO	4,398	6,856	10,51
		SOLI	2,458		
	52:2	POO	6,489	7,395	7,32
		PSLI	0,906		
	50:1	PPO	2,393	2,393	2,13
	48:0	PPP			0,29
50	56:3	OLIA	0,601	0,601	0,56
		SOO	1,004	1,295	1,38
	54:2	PLIA	0,221		
		SSLI	0,070		
	52:1	PSO	0,741	0,741	0,71
	50:0	PPS			0,08
52	56:2	O.OA	0,245	0,279	0,37
		SLIA	0,034		
	54:1	POA	0,181	0,238	0,14
		SSO	0,057		
	52:0	PPA			
		PSS			
54	56:1	SOA			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9340

Tabela 47: Composição triglicéridica (mol%) calculada segundo distribuição "1,3-Random 2-Random" e obtida por CLAE do óleo de milho Nutrimaiz.

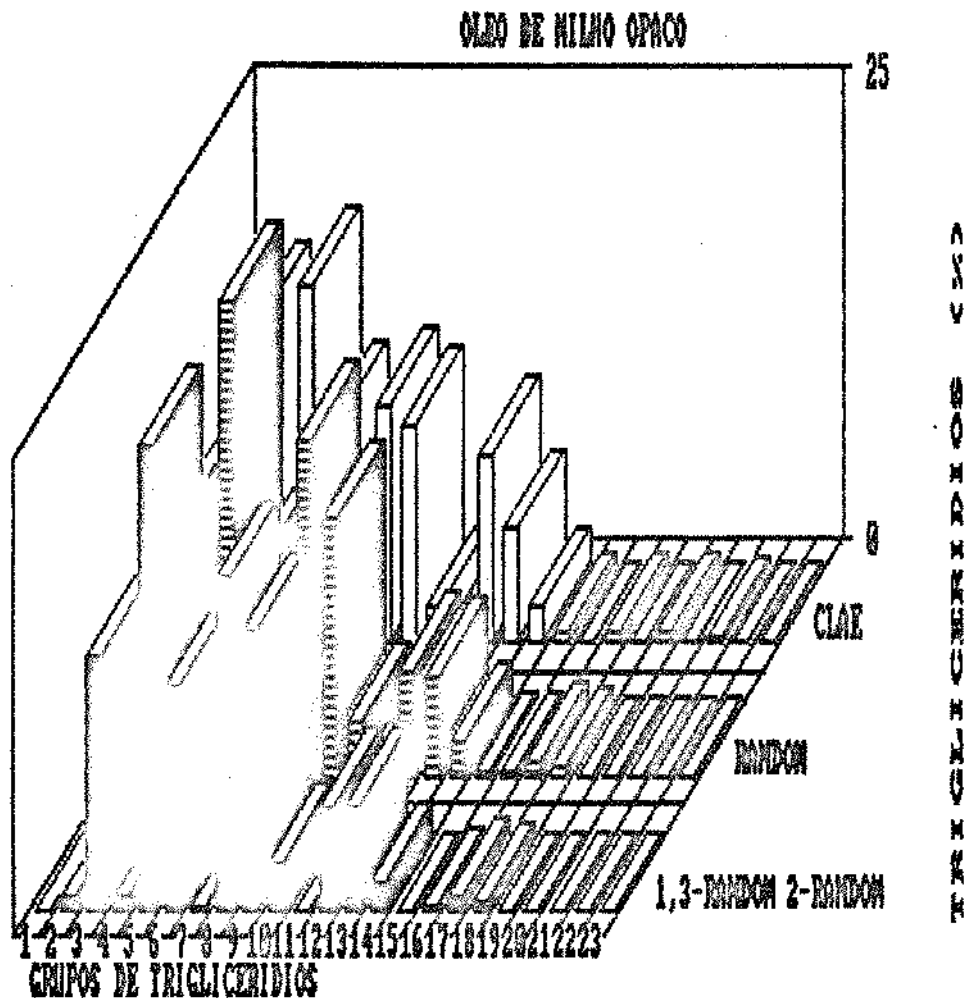
Número Partição	Grupo	Triglicéridio	Calculado (%)		CLAE (%)
			Triglicéridios	Grupo	
38	54:8	LILELE	0,037	0,037	
40	54:7	LHLE	1,046	1,046	1,32
		OLELE			
42	54:6	LILILI	9,652	11,295	14,33
		OLILE	1,643		
	52:5	PLILE	0,633	0,864	0,65
		POLIL	0,231		
44	54:5	OLILI	22,744	23,500	20,99
		OOLE	0,645		
		SLILE	0,111		
	52:4	PLILI	8,765	9,626	10,57
		POLE	0,497		
		POOLI	0,364		
	50:3	PPOLI	0,140	0,211	
		PPIE	0,071		
46	54:4	OOLI	17,863	19,493	16,74
		SLILI	1,543		
		SOLE	0,087		
	53:3	POLI	13,768	13,910	12,96
		POOO	0,142		
		PSLE			
	50:2	PPLI	1,989	2,099	1,56
PPOO		0,110			
48	56:4	LILIA	0,310	0,310	
	54:3	O.O.O	4,676	7,100	7,46
		SOLI	2,424		
	52:2	POO	5,407	6,107	7,81
		PSLI	0,700		
	50:1	P.P.O	1,562	1,562	1,59
48:0	PPP			0,18	
50	56:3	OLIA	0,487	0,487	
	54:2	SOO	0,952	1,153	1,85
		PLIA	0,140		
		SSLI	0,061		
	52:1	P.S.O	0,550	0,550	0,41
50:0	PPS				
52	56:2	O.O.A	0,191	1,191	0,92
		SLIA			
	54:1	P.O.A	0,110	0,158	0,30
		S.S.O	0,048		
	52:0	PPA			
PSS					
54	56:1	S.O.A			

Coefficiente de correlação entre valor calculado do grupo e CLAE = 0,9852



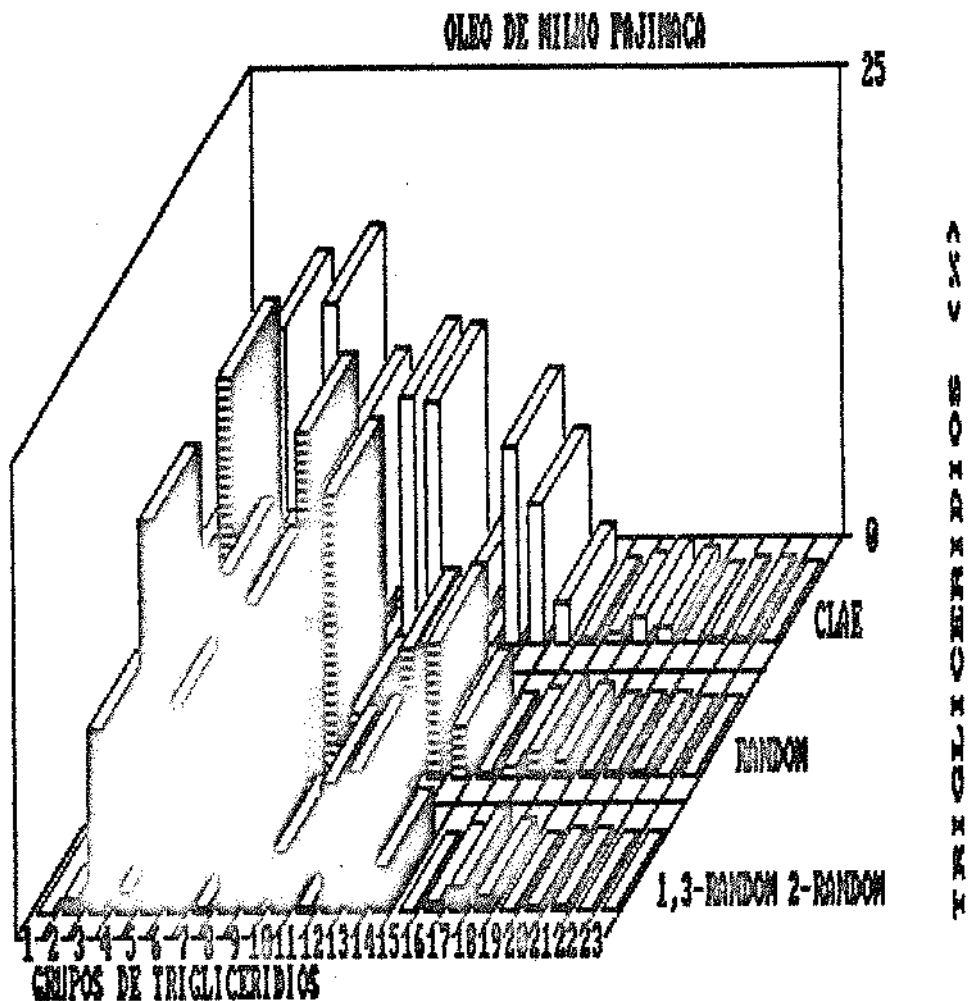
GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO
1	LILELE	8	O O LI	16	O LIA
2	LILILE		S LILI	17	S O O
	O LELE		S O LE		P LIA
3	LILILI	9	P O LI		S S LI
	O LILE		P O O	18	P S O
4	P LILE		P S LE	19	P P S
	P O LILI	10	P P LI	20	O O A
5	O LILI		P P O O		S LIA
	O O LE	11	LILIA	21	P O O A
	S LILE	12	O O O		S S O
6	P LILI		S O LI	22	P P A
	P O LE	13	P O O		P S S
	P O O LI		P S LI	23	S O A
7	P POLI	14	P P O		
	P P LE	15	P P P		

Figura 7. Porcentagem de triglicerídios calculados segundo distribuição "Random", "1,3-Random 2-Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Normal.



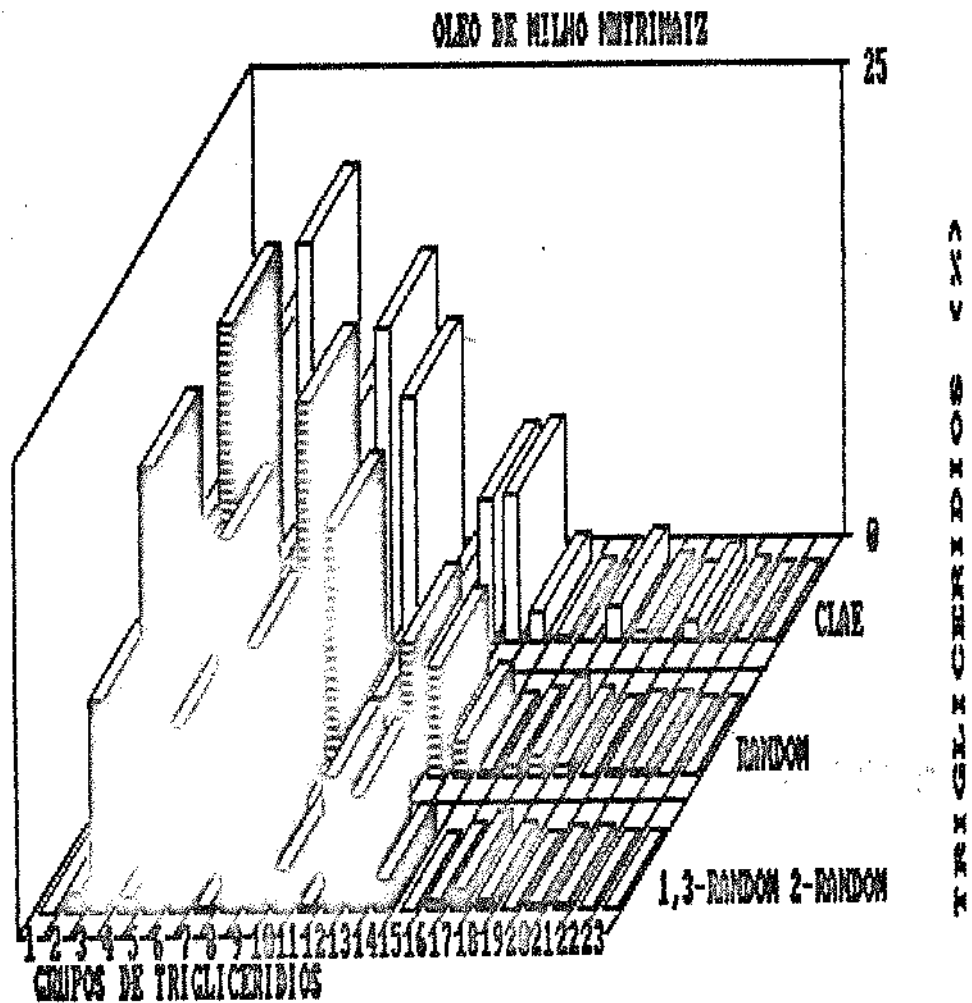
GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO
1	LILELE	8	O O LI	16	O LIA
2	LILILE		S LILI	17	S O O
	O LELE		S O LE		P LIA
3	LILILI	9	P O LI		S S LI
	O LILE		POO O	18	P S O
4	P LILE		P S LE	19	P P S
	POLILI	10	P P LI	20	O O A
5	O LILI		P PO O		S LIA
	O O LE	11	LILIA	21	POO A
	S LILE	12	O O O		S S O
6	P LILI		S O LI	22	P P A
	P O LE	13	P O O		P S S
	POO LI		P S LI	23	S O A
7	P POLI	14	P P O		
	P P LE	15	P P P		

Figura 8. Porcentagem de triglicerídios calculados segundo distribuição "Random", "1,3-Random 2-Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Opaco.



GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO
1	LILELE	8	O O LI	16	O LIA
2	LILILE		S L LI	17	S O O
	O LELE		S O LE		P LIA
3	LILILI	9	P O LI		S S LI
	O LILE		P O O O	18	P S O
4	P LILE		P S LE	19	P P S
	P O LIL	10	P P LI	20	O O A
5	O LILI		P P O O		S LIA
	O O LE	11	LILIA	21	P O O A
	S LILE	12	O O O		S S O
6	P LILI		S O LI	22	P P A
	P O LE	13	P O O		P S S
	P O O LI		P S LI	23	S O A
7	P POLI	14	P P O		
	P P LE	15	P P P		

Figura 8. Porcentagem de triglicerídios calculados segundo distribuição "Random", "1,3-Random 2-Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Pajimaca.



GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO	GRUPO	TRIGLICERÍDIO
1	LILELE	8	O O LI	16	O LIA
2	LILILE		S LILI	17	S O O
	O LELE		S O LE		P LIA
3	LILILI	9	P O LI		S S LI
	O LILE		P O O	18	P S O
4	P LILE		P S LE	19	P P S
	P O LILI	10	P P LI	20	O O A
5	O LILI		P P O		S LIA
	O O LE	11	LILIA	21	P O O A
	S LILE	12	O O O		S S O
6	P LILI		S O LI	22	P P A
	P O LE	13	P O O		P S S
	P O O LI		P S LI	23	S O A
7	P POLI	14	P P O		
	P P LE	15	P P P		

Figura 10. Porcentagem de triglicéridios calculados segundo distribuição "Random", "1,3-Random 2-Random" e determinada por CLAE do óleo da variedade de milho Nutrimaiz.

4.4.10. Teor de tocoferóis

Tocoferóis são importantes constituintes da matéria insaponificável dos óleos. CONTRERAS-GUZMAN (1982) desenvolveu um extenso trabalho sobre os tocoferóis presentes nas variedades de milho em questão.

O teor de tocoferóis totais das 4 variedades de milho estudadas encontram-se na Tabela 48.

Tabela 48: Teor de tocoferóis totais das 4 variedades de milho.

VARIETADE	TOCOFERÓIS (mg/100g)
Normal	7,0
Opaco	7,5
Pajimaca	9,2
Nutrimaiz	9,1

Os resultados obtidos estão de acordo com os de CONTRERAS-GUZMAN (1982) e demonstram que realmente as variedades Pajimaca e Nutrimaiz possuem um teor mais elevado de Tocoferol que as demais variedades em questão, o que do ponto de vista nutricional é bastante interessante, além de aumentar a estabilidade oxidativa do óleo.

4.4.11. Composição em esteróis

A identificação dos esteróis presentes nas amostras analisadas, foi feita segundo metodologia descrita no item 3.2.2.n e as 4 variedades de milho apresentaram os resultados da Tabela 49.

Tabela 49: Composição em esteróis das 4 variedades de milho.

VARIEDADE	ESTEROL (%)			
	CAMPEST.	STIGMAS.	β SITOST.	NÃO IDENT.
Normal		23,59	71,72	4,68
Opaco	20,14	4,88	73,33	1,64
Pajimaca		21,58	71,40	7,01
Nutrimaiz		24,56	69,99	5,45

Para as variedades de milho Normal, Pajimaca e Nutrimaiz o cromatograma não registrou a separação entre campesterol e stigmasterol a nível de ser quantificado isoladamente pelo integrador, obtendo-se somente a quantificação destes dois esteróis em conjunto. A variedade de milho Opaco apresentou um teor mais elevado de β sitosterol em relação às demais.

Os dados de literatura (SWERN, 1979) nos levam a crer que o componente não identificado corresponde ao avenasterol, porém a nossa falta na confirmação decorre da impossibilidade de obter padrão para essa identificação.

O valor de campesterol e estigmasterol para o Nutrimaiz é intermediário entre as variedades progenitoras, enquanto que o Opaco apresenta mais alto teor dentre as demais variedades analisadas.

É interessante observar que a maioria dos óleos comuns, não apresenta significativos níveis de variação dos componentes esteróis, isso somente é importante no caso da soja onde campesterol e estigmasterol perfazem cerca de 40%, e no óleo de oliva, onde o β sitosterol chega a 90%. Os dados obtidos neste trabalho são compatíveis com os obtidos por POMERANZ (1978).

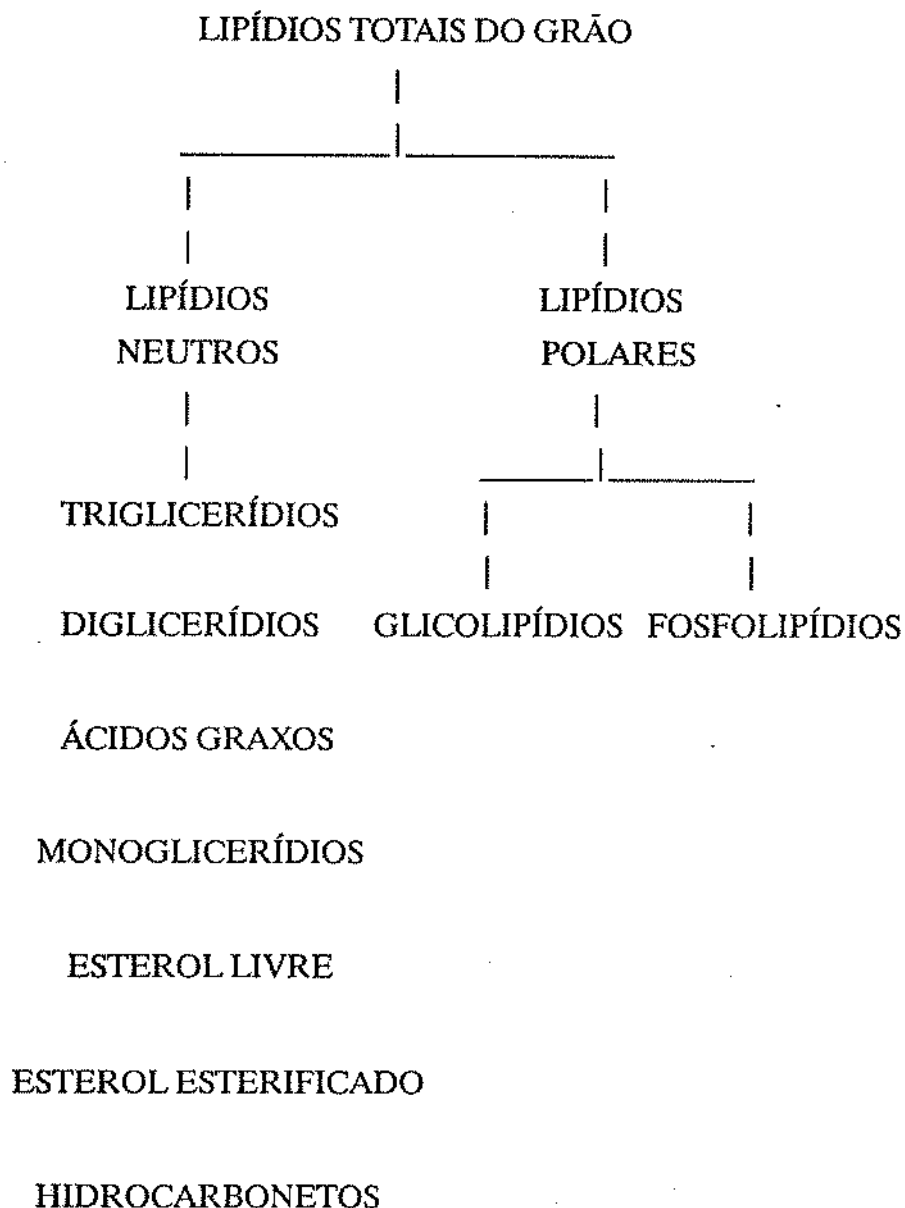
4.4.12. Classes de lipídios

A composição dos lipídios do grão de milho pode apresentar variações tanto

em função dos procedimentos utilizados para extração como em função da variedade estudada.

Os lipídios presentes no milho possuem a distribuição que pode ser vista na Figura 11.

Figura 11: Distribuição das classes de lipídios no grão de milho.



Este estudo foi realizado com o emprego da metodologia descrita no item 3.2.2.p.

Padrões dos compostos pertinentes foram submetidos ao mesmo procedimento analítico e propiciaram as definições de tempos de retenção (tr) e fatores de resposta do detector, as quais são apresentadas na Tabela 50.

Tabela 50: Tempo de retenção e fator de resposta de padrões em análise de classes de lipídios realizada em Iatroscan.

COMPOSTO	tr (seg)	FATOR DE RESPOSTA
ESTEROL ESTERIFICADO	6,70	1,07
TRIGLICERÍDIO	10,30	1,05
ÁCIDO GRAXO	12,68	1,09
DIGLICERÍDIO	16,84	0,93
ESTEROL LIVRE	23,70	0,78
MONOGLICERÍDIO	27,20	1,58
POLARES	29,00	—

Os cromatogramas dos lipídios totais das 4 variedades de milho obtidos em Iatroscan encontram-se na Figura 12.

A análise dos lipídios totais das 4 variedades de milho apresentou em Iatroscan os resultados da Tabela 51.

Tabela 51: Composição em classes de lipídios das 4 variedades de milho estudadas (%)

VARIETADE	ESTEROL ESTERIF.	TRIGLICERÍDIO	AC.GRAXO LIVRE	DIGLICE-RÍDIO	MONOGLICERÍDIO	POLARES
Normal	—	89,55	1,53	1,02	1,75	6,14
Opaco	0,87	89,18	1,55	1,31	1,20	5,88
Pajimaca	0,74	90,06	1,25	0,53	1,46	5,95
Nutrimaiz	0,67	90,31	1,75	0,92	0,75	5,59

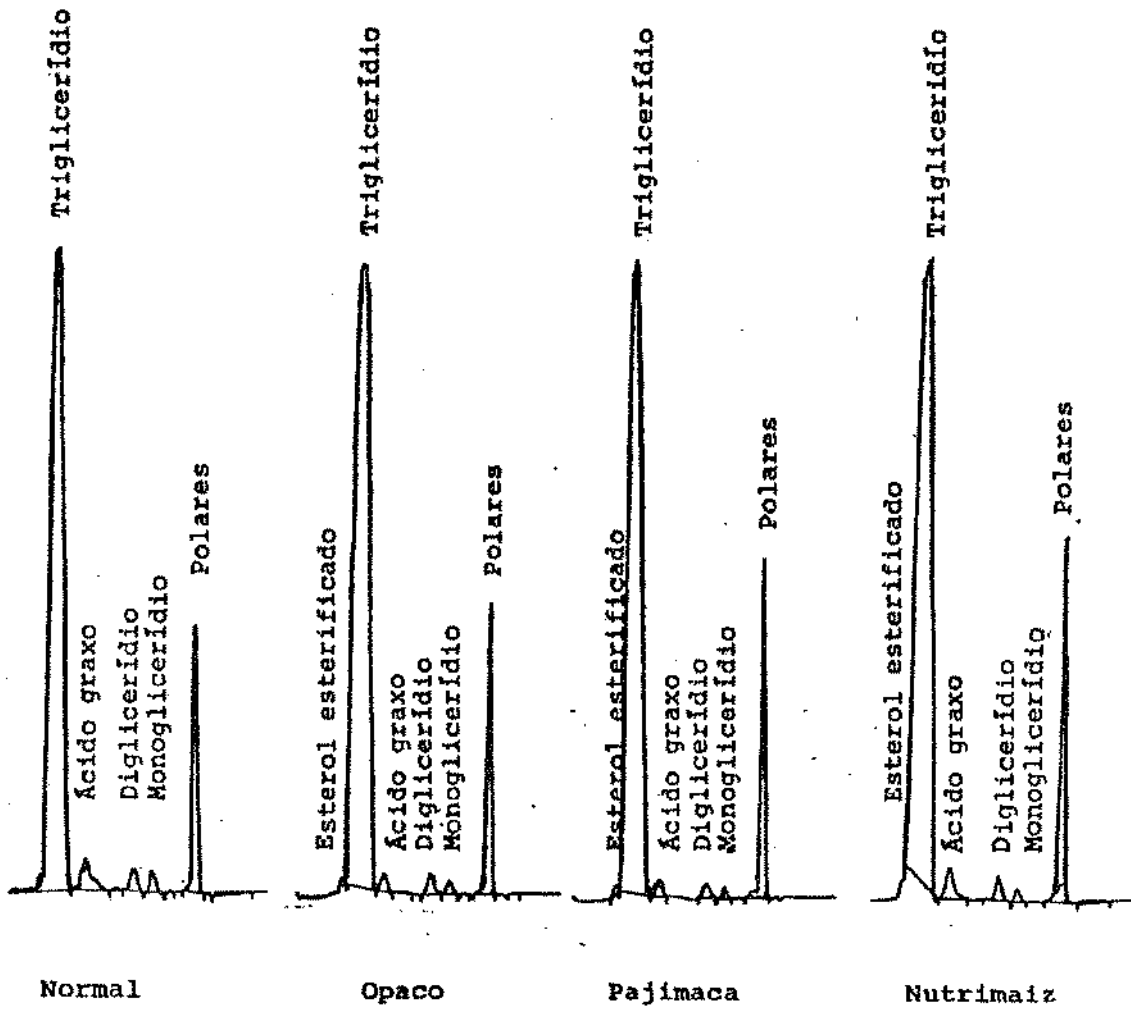


Figura 12. Cromatogramas (TLC-FID) das classes de lipídios obtidos em latroscan para as variedades de milho Normal, Opaco, Pajimaca e Nutrimaiz.

Comparando-se os dados obtidos neste trabalho com os obtidos por WEBER (1969), conclui-se que os teores são compatíveis e refletem o estado em que se encontravam os lipídios no momento da análise, pois sabe-se que o teor de ácidos graxos livres, mono di e triglicéridios, bem como a presença de demais compostos estão relacionados com o estado em que se encontram as amostras.

A determinação de classes de lipídios em Iatroscan mostrou-se bastante satisfatória pela rapidez com que se processa a análise e relativa simplicidade.

A importância da avaliação e dosagem de componentes menores, presentes nos óleos em quantidades que, dificilmente, superam os 3%, reside no fato de que só a composição em ácidos graxos não é suficiente para a caracterização do produto.

As técnicas cromatográficas são as mais eficazes no estudo ou análise desses componentes, e neste intuito o Iatroscan tem se mostrado muito eficiente, pois uma análise rápida das classes de lipídios presentes em óleos e gorduras, é de fundamental importância tanto para o controle da matéria prima como também para o acompanhamento durante os diferentes processos a que são submetidos estes produtos.

A separação dos fosfolipídios presentes nas amostras, foi efetuada segundo metodologia descrita anteriormente devido à rapidez da técnica comparada com outras metodologias empregadas para este fim, e a possibilidade de identificação e quantificação das classes de fosfolipídios.

Um dos problemas na análise de fosfolipídios reside na complexidade de cada classe deste componente, pois os mesmos são formados de grande número de espécies moleculares, diferindo na natureza dos ácidos graxos que os compõe, no comprimento da cadeia, grau de insaturação, isomeria cis-trans; fatores estes que afetam a separação cromatográfica destes compostos.

Testou-se várias fases móveis para a separação dos fosfolipídios e optou-se por utilizar clorofórmio- metanol-água (80:35:3) que é a recomendada por diversos autores (HAZEL, 1985; DU PLESSIS e PRETORIUS, 1983; FOOT e CLANDININ, 1982; VANDAMME et alii, 1978) e, no caso, foi a que apresentou resultado mais satisfatório.

Obteve-se para padrões de fosfolipídios, analisados nas mesmas condições que as amostras, tempos de retenção e fator de resposta relacionados na Tabela 52.

Tabela 52: Tempo de retenção e fator de resposta do detector para padrões de fosfolipídios

FOSFOLIPÍDIO	tr(seg)	FATOR DE RESPOSTA
Lisofosfatidilcolina (LPC)	26,05	0,87
Fosfatidilcolina (PC)	23,53	0,85
Fosfatidilinositol (PI)	13,73	0,95
Fosfatidiletanolamina (PE)	13,67	0,96
Ácido Fosfatídico (PA)	11,02	1,44

Cromatogramas obtidos em Iatroscan dos fosfolipídios das 4 variedades de milho são mostrados na Figura 13.

A análise da composição fosfolipídica das 4 variedades de milho apresentou em Iatroscan os resultados da Tabela 53.

Tabela 53: Composição fosfolipídica das 4 variedades de milho

VARIEDADE DE MILHO	FOSFOLIPÍDIO (%)				
	PC	PE + PI	PA	LPC	N.I.*
Normal	97,89	— —	1,01	1,03	0,06
Opaco	88,02	2,40	6,44	1,60	1,41
Pajimaca	69,60	25,81		2,79	1,80
Nutrimaiz	69,90	6,79	4,97	1,58	16,76

*N.I. = não identificado

No confronto com os dados de WEBER (1978), apresentados na Tabela 8, observa-se que a fosfatidilcolina é realmente predominante nessa classe de lipídios.

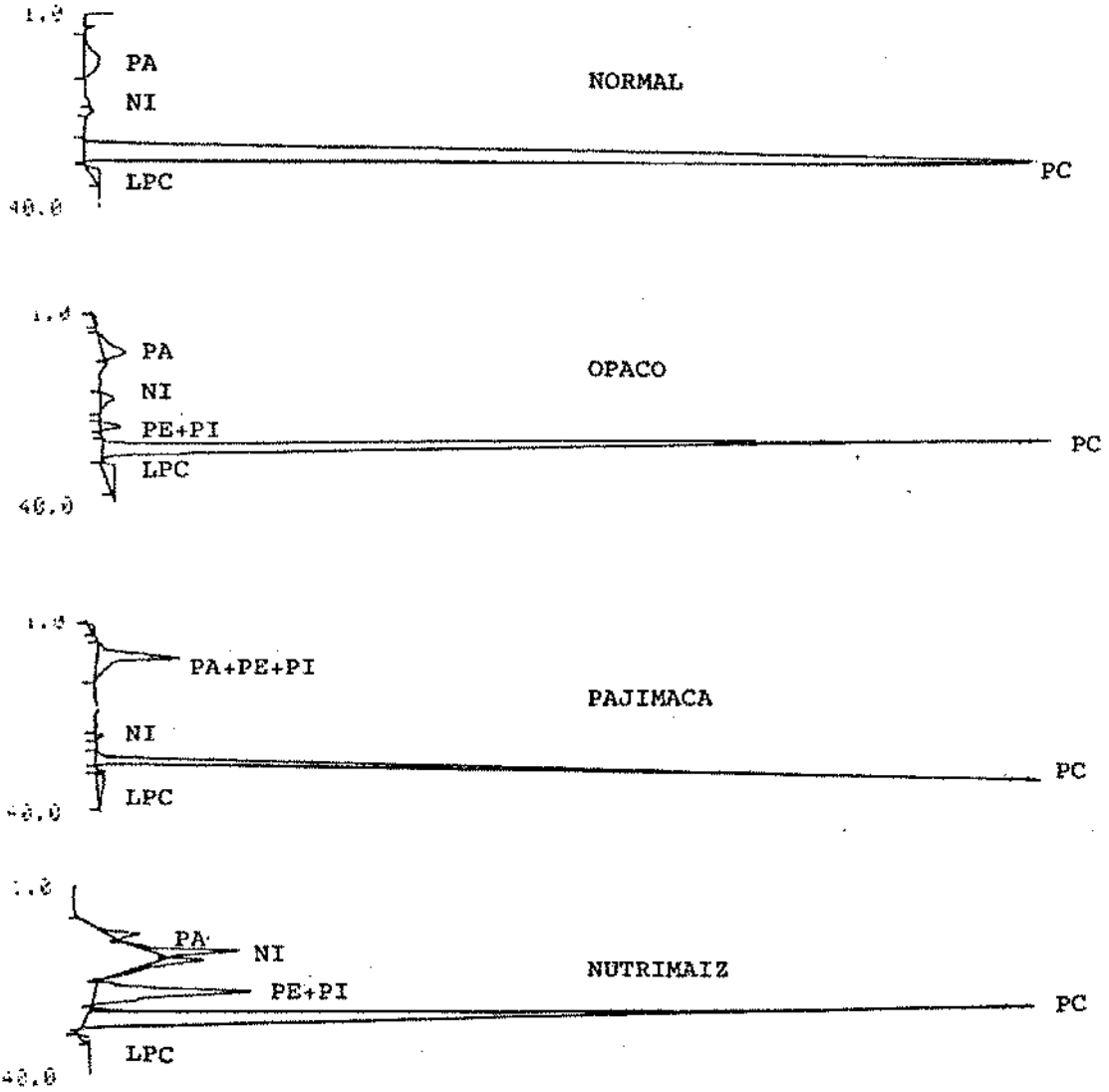


Figura 13. Cromatogramas (TLC-FID) dos fosfolipídios das quatro variedades de milho.

Constata-se também que a dificuldade de separação e identificação de alguns fosfolipídios, através da técnica empregada, era perfeitamente prevista conforme adiantou-se na página 31.

Por outro lado o grupo não identificado pode ser, com muita probabilidade, constituído de difosfatidilglicerol, pois foram assinalados na Tabela 8 como presentes em considerável proporção.

O híbrido Nutrimaiz apresenta um teor de fosfatidilcolina muito próximo do encontrado na variedade Pajimaca.

Calcula-se, baseado na porcentagem de cada fosfolipídio e no peso molecular correspondente, o fator de conversão para fósforo, e os valores encontrados foram de 25,07 para o milho Normal; 24,82 para o Opaco; 24,77 para o Pajimaca e 24,51 para o Nutrimaiz. Tem-se então 24,79 como valor para um fator de conversão médio das quatro variedades de milho analisadas, fator este que melhor representa o teor de fósforo a partir dos fosfolipídios presentes nas amostras, diferente do fator 30 normalmente empregado para esta conversão.

5. CONCLUSÕES

1- As pesquisas realizadas neste trabalho permitem concluir que o milho híbrido da variedade Nutrimaiz, homocigota para os genes *opaco2* e *sugary*, após processo de seleção genética, apresenta elevada a taxa de lipídios no grão em relação ao milho Normal, mantendo proporção equivalente a do seu progenitor Pajimaca, confirmando os resultados obtidos anteriormente por CONTRERAS- GUZMAN (1982).

2- Quanto a fração lipídica, a variedade Nutrimaiz assemelha-se mais proximamente com a cultivar Pajimaca, seu progenitor, quando se observa a maioria dos atributos característicos.

3- A variedade Nutrimaiz, quanto a composição em ácidos graxos, tanto do óleo obtido a partir da farinha de milho integral quanto do obtido a partir do germe apresentou um perfil bastante similar, onde constata-se que o teor de ácidos graxos saturados desta variedade se aproxima da encontrada na variedade Opaco, já o teor de monoinsaturados fica mais próxima da obtida na análise da variedade Pajimaca, enquanto que o teor de polinsaturados apresenta um resultado intermediário do obtido para seus dois progenitores Opaco e Pajimaca.

4- Tanto a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) quanto métodos estatísticos de cálculo "Random" e "1,3-Random 2-Random", baseados na composição em ácidos graxos, se mostraram eficientes para fornecer a composição triglicéridica das quatro variedades.

5- Os métodos estatísticos de cálculo efetuados através de programa de computador, baseados na composição em ácidos graxos, para a elaboração da composição triglicéridica das amostras é uma técnica bastante rápida e de baixo custo em relação à CLAE ou qualquer outra metodologia de análise para a determinação da composição triglicéridica. E em relação às amostras analisadas proporcionaram um resultado bastante satisfatório.

6- A análise da composição triglicéridica efetuada através da associação das

técnicas de CLAE e cálculo estatístico proporcionaram uma rápida identificação dos picos obtidos no cromatograma de CLAE, fato este bastante importante em face a necessidade de grande quantidade de padrões para a identificação dos mesmos, que nem sempre estão disponíveis.

7- A técnica de cromatografia por TLC-FID apresentou-se bastante satisfatória para a análise das classes de lipídios presentes nas amostras devido à rapidez, relativa simplicidade além da vantagem de quantificação. Porém para os fosfolipídios torna-se difícil a separação dos grupos componentes desta classe de lipídios.

8- Ficou constatado, após análise da composição fosfolipídica das amostras, que o fator 24,79 é muito mais realista em relação ao fator de conversão de fósforo do que o valor 30 normalmente empregado.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACKMAN, R. G. Potential for more efficient methods for lipid analysis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 57 (11): 821A-829A, 1980.
- AITZETMÜLLER, K. Recent progress in the high performance liquid chromatography of lipids. *Prog. Lipid Res.*, Elmsford, 21: 171-193, 1982.
- AITZETMÜLLER, K.; WESSELS, H.; WERNER, G. Unterscheidung von palmolen und palmol-fraktionen durch HPLC der triglyceride. *Fat Sci. Technol.*, Leinfelden - Echterdingen, 90 (11): 442-447, 1988.
- AOCS. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists Society, 3. ed. Champaign, 1988 v. 1-2.
- BARBER, M.; MERREN, T. O.; KELLY, W. The mass spectrometry of large molecules. In: *The triglycerides of straight chain fatty acids*. Tetraedron Letters, Elmsford, 18: 1063-1067, 1964.
- BASCOUL, J.; DOMERGUE, N.; OLLE, M.; DE PAULET, A. C. Autoxidation of cholesterol in tallows heated under deep frying conditions: evaluation of oxysterols by GLC and TLC-FID. *Lipids*, Champaign, 21 (6): 383-387, 1986.
- BEADLE, J. B.; JUST, D. E.; MORGAN, R. E.; REINERS, R. A. Composition of corn oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 42: 90-95, 1965.
- BRESSANI, R. The importance of maize for human nutrition in Latin America and other countries. In BRESSANI, R.; M. & BRAHAM, E. eds. *Nutritional improvement of maize*. Guatemala, INCAP 1972.
- BROCKERHOFF, H. & YUKORWSKY, M. Stereospecific analyses of vegetable fats. *J. Lip. Res.*, Bethesda, 7 (1): 62-64, 1966.

- CHRISTIE, W. W. Extraction of lipids from tissues and other preliminaries to analysis. In: CHRISTIE, W. W. *Gas chromatography and lipids*. Ayr, Oil Press, c 1989. p. 27-32.
- CHRISTIE, W. W. & HUNTER, M. L. Separation of neutral lipids on chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 171: 517-518, 1979.
- CONTRERAS-GUZMAN, E. S. *Determinação de tocoferóis e tocotrienóis em extratos lipídicos por redução de íons cúpricos*. Campinas, 1992. 207p. Tese (Doutor em Ciência de Alimentos) - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.
- CONTRERAS-GUZMAN, E. S. & STRONG III, F.C. Determination of tocopherols (vitamin E) by reduction of cupric ion. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* Arlington, 65 (5): 1215-1221, 1982.
- CONTRERAS-GUZMAN, E.; STRONG III, F. C.; SILVA, W. J. Fatty acid and vitamin E content of Nutrimaiz, a Sugary/opaque-2 corn cultivar. *J. Agric. Food Chem.*, Washington, 30: 1113-1117, 1982.
- COTGREAVE, T. & LYNES, A. Quantitative analysis by thin-layer chromatography using a flame ionization detector. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 30: 117-124, 1967.
- D'ALONZO, R. P.; KOZAREK, W. J.; WHARTON, H. W. Analysis of processed soy oil by gas chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 58 (3):215-219, 1981.
- D'ALONZO, R. P.; KOZAREK, W. J.; WADE, R. L. Glyceride composition of processed fats and oils as determined by glass capillary gas chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 59 (7): 292-295, 1982.
- DEFFENSE, A. Application de la chromatographie liquide haute performance à l'analyse des triglycerides des graisses végétales et animales et de leurs fractions obtenues par cristallisation fractionnée. *Rev. Fr. Corps Gras*, Paris, 31 (3): 123-129, 1984.

- DONG, M. W. & DICESARE, J. L. Improved separation of natural oil triglycerides by liquid chromatography using columns packed with 3-um particles. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 60 (4): 788-791, 1983.
- DU PLESSIS, L. M. & PRETORIUS, H. E. Phospholipid composition of some plant oils at different stages of refining, measured by the Iatroscan-Chromarod method. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 60 (7): 1261-1265, 1983.
- ELDRIDGE, M. B.; JOSEPH, J. D.; TABERSKI, K. M.; SEABORN, G. T. Lipid and fatty acid composition of the endogenous energy sources of striped bass (*Morone saxatilis*) eggs. *Lipids*, Champaign, 18 (8): 510-513, 1983.
- EL-HAMBY, A. H. & PERKINS, E. G. High performance reversed phase chromatography of natural triglyceride mixtures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 58 (1): 49-53, 1981.
- FANCELLI, A. L. Tecnologia da produção. In: FANCELLI, A. L. & LIMA, V.A. ed. *Milho: produção, pré-processamento e transformação agroindustrial*. São Paulo, Secretaria do Comércio, Indústria, Ciência e Tecnologia, 1981 p. 1-68.
- FAOPRODUCTION YEARBOOK. Rome, *Food and Agriculture Organization of United Nations*, 1986. v. 39, p. 107.
- FARNWORTH, E. R.; THOMPSON, B. K.; KRAMER, J. K. G. Quantitative determination of neutral lipids on Chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 240: 463-474, 1982.
- FEDELI, E. & MARIANI, C. Composition of the sterol and triterpene fraction of vegetable oils. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, Milano, 51:129-132, 1974.
- FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.*, Bethesda, 226: 497-509, 1957.
- FOOT, M. & CLANDININ, M. T. Separation of diacyl and plasmalogen phospholipids

of rat brain synaptosomal membranes on chromatography. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 241: 428-431, 1982.

FRITZ, D. W.; AMORE, F.; RASHMAWI, K. Analysis of dimerized fatty acids by TLC/FID. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 65 (9): 1488-1492, 1988.

GOH, S. H.; TONG, S. L.; GEE, P. T. Total phospholipids in crude palm oil: quantitative analyses and correlations with oil quality parameters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 61 (10): 1597-1600, 1984.

GOODWIN, T. W. Chemistry and biochemistry of plants pigments, 2. ed. London, Academic Press, 1976. v.2, p. 57-153. GROB, K., Jr.; NUEKOM, H. P.; BATTAGLIA, R. Triglyceride analysis with glass capillary gas chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 57 (9): 282-286, 1980.

GROSSBERGER, T. & ROTHSCHILD, E. Determination of the triglyceride composition of vegetable oils by high performance liquid chromatography. *Mag. Chrom. Sci.*, 7 (5): 439-441, 1987.

GUNSTONE, F. D. The distribution of fatty acids in natural glycerides of vegetable origin. *Chem. and Ind.*, London, (7): 1214-1223, 1962.

GUNSTONE, F. D. & PADLEY, F. B. Glyceride studies. Part III. The component glycerides of five seed oils containing linolenic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 42: 957-961, 1965.

GUTFINGER, T. & LETAM, A. Studies of tocopherol dimers from soybean oil by reaction gas chromatography. *Lipids*, Champaign, 7: 483, 1972.

HARTMAN, L. & LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Lab. Pract.*, London, 22 (8): 475-476, 1973.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A.; ESTEVES, W. Determination of phosphorus in brasilian soya bean oils by the saponification method. *Fette Seifen Anstrichmittel*, Leinfelden - Echterdingen, 87(11): 458-460, 1985.

- HARVEY, H. R.; RIGLER, M. W.; PATTON, J. S. The use of the Iatroscan TH-10 analyser to quantify total lipids in a variety of sample types and lipid classes in human gallblad der bile. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 542-545, 1985.
- HAUMANN, B. F. Corn oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 62 (11): 1524-1531, 1985.
- HAZEL, J. R. Determination of the phospholipid composition of trout gill by Iatroscan TLC/FID: Effect of thermal acclimation. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 516-520, 1985.
- HILDITCH, T. P. & WILLIAMS, P. N. The chemical constitution of natural fats. 4 ed. London, Champman & Hall, 1964. 745p. HIRAMATSU, K. & ARIMORI, S. Rapid determination of lipids in healthy human lymphocytes. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 227: 423-431, 1982.
- HITES, R. A. Quantitative analysis of triglyceride mixtures by mass spectrometry. *Anal. Chem.*, Washington, 42 (14): 1736-1740, 1970.
- HITES, R. A. Mass spectrometry of triglycerides. *Methods Enzimol.*, 35, (Part B): 348-359, 1975.
- HUDSON, B. J. F. & MAHGOUD, S. E. O. Synergism between phospholipids and naturally occurring antioxidants in leaf lipids. *J. Sci. Food Agric.* London, 32 (2): 208-210, 1981.
- INGLETT, G. E. Corn in perspective. In: INGLETT, G. E. ed. *Corn: culture, processing, products*. Westport, AVI, 1970a, p. 1-5.
- INGLETT, G. E. Food uses of corn around the world. In: INGLETT, G. E. ed. *Corn: culture, processing, products*. Westport, AVI, 1970b. p. 138-150.
- ITOH, T.; TAMURA, T.; MATSUMOTO, T. Sterol composition of 19 vegetable oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 50 (4): 122-125, 1973.

- JELLUM, M. D. Fatty acid composition of corn endosperm and germ oils as influenced by different extraction procedures. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 48 (7): 355-357, 1971.
- JENSEN, G. W. Improved separation of triglycerides at low temperatures by reversed-phase liquid chromatography. *Chromatography*, Elmsford, 13 (228): 407-411, 1981.
- JURRIENS, G. & KROESEN, A. C. J. Determination of glyceride composition of several solid and liquid fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 42 (1): 9-14, 1965.
- KAIMAL, T. N. B. & SHANTHA, N. C. Quantitative analysis of lipids on copper (II)sulphate-impregnated Chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 288: 177-186, 1984.
- KAITARANTA, J. K. TLC-FID assessment of lipid oxidation as applied to fish lipids rich in triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 58 (6): 710-713, 1981.
- KAITARANTA, J. K. & NICOLAIDES, N. Response and linearity of different lipid compounds when analysed by thin-layer chromatography with flame ionization detector. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 205: 339-347, 1981.
- KANECO, H.; HOSOHARA, M.; TANAKA, M.; ITOH, T. Lipid composition of 30 species of yeast. *Lipids*, Champaign, 11 (12): 837-844, 1976.
- KARTHA, A. R. S. Studies on the natural fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 30: 280-326, 1953.
- KAUFMANN, H. P. & WESSELS, H. Die Struktur der triglyceride theorien und bestimmungsmethoden. *Fette Seifen Anstrichmittel*, Leinfelden - Echterdingen, 66: 13-21, 1964.
- KRAMER, J. K. G. Comparative studies on composition of cardiac phospholipids in rats fed different vegetable oils. *Lipids*, Champaign, 15 (9): 651-660, 1980.

- KRAMER, J. K. G.; FARNWORTH, E. R.; THOMPSON, B. K. Quantitating heart lipids: comparison of results obtained using the Iatroscan method with those from phosphorus and gas chromatographic techniques. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 536-541, 1985.
- KRAMER, J. K. G.; FARNWORTH, E. R.; THOMPSON, B. K.; CORNER, A. H.; TRENHOLM, H. L. Reduction of myocardial necrosis in male albino rats by manipulation of dietary fatty acid levels. *Lipids*, Champaign, 17 (5): 372-382, 1982.
- KRAMER, J. K. G.; FOURCHARD, R. C.; FARNWORTH, E. R. Effect of neutral lipids on Chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 198: 279-285, 1980.
- KRAMER, J. K. G.; FOUCHARD, R. C.; FARNWORTH, E. R. The effect of fatty acid chain length and unsaturation on the chromatographic behavior of triglycerides on Iatroscan Chromarods. *Lipids*, Champaign, 20 (9): 617-619, 1985.
- KUKSIS, A. Gas chromatography of neutral acylglycerols In: MARINETTI, G. V. ed. *Lipid Chromatographic analysis*, New York, Marcel Dekker, 1976. p. 215-337.
- LEIBOVITZ, Z. & RUCKENSTEIN, C. Our experiences in processing maize (corn) germ oil. *Fette Seifen Anstrichmittel*, Leinfield - Echterdingen, 85: 538-543, 1983.
- LIST, G. R.; EVANS, C. P.; BLACK, L. T.; MOUNTS, T. L. Removal of phosphorus and iron by commercial degumming of soybean oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 55 (2): 275-276, 1978.
- LITCHFIELD, C.; HARLOW, R. D.; REISER, R. Quantitative gas-liquid chromatography of triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 42 (10): 849-857, 1965.
- MACHADO, Magali C. M. S. - *Estudo da composição química, características agronômicas e sensoriais de uma nova cultivar de milho, com endosperma triplo mutante sugary opaque 2waxy*. Campinas, 1988. 113p. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.

- MANGOLD, H. K. & MUKHERJEE, K. D. New methods of quantitation in thin-layer chromatography: tubular thin-layer chromatography (TTLC). *J. Chrom. Sci. Niles*, 8:379, 1970. MANI, V. V. S. & LAKSHMINARAYANA, G. Pancreatic lipase hydrolysis of four seed fats and calculation of the glyceride compositions using a computer. *Fette Seifen Anstrichmittel*, Leinfelden - Echterdingen, 72 (6): 434-438, 1970.
- MARES, P.; RANNY, M.; SEDLACEK, J.; SKOREPA, J. Chromatographic analysis of blood lipids comparison between gas chromatography and thin-layer chromatography with flame ionization detection. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 275: 295-305, 1983.
- MERRITT Jr., C.; VADJI, M.; KAYSER, S. G.; HALLIDAY, J. W.; BAZINET, M. L. Validation of computational methods for triglyceride composition of fats and oils by liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Am. oil Chem. Soc.*, Champaign, 59 (10): 422-432, 1982.
- MERTZ, E. T. *Nutritive value of corn and its products*. In: INGLETT G. E. ed. Corn: culture, processing, products. Westport, AVI, 1970. p. 350-359.
- MERTZ, E. T.; BATES, L. S.; NELSON, O. E. Mutant gene that changes protein composition and increase lysine content of maize endosperm. *Science* 45: 279-280, 1964.
- MERTZ, E. T.; VERON, O. A.; BATES, L. S.; NELSON, O. E. Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, 148: 1741, 1965.
- METCALFE, L. D. Recent advances in the analytical chemistry of fatty acids and derivatives. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 56: 819A-822A, 1979.
- MINISTÉRIO DO INTERIOR. *Contribuição ao desenvolvimento da agroindústria: milho*. Campinas, GEIDA/FCTPTA, 1974. v.14.
- MISRA, P. S.; MERTZ, E. T.; GLOVER, D. V. Studies on corn proteins VI.

Endosperm protein changes in single and double mutants of maize. *Cereal Chem.*, St. Paul, 52: 161, 1975.

MORDRET, F.; PREVOT, A.; LE BARBANCHON, N.; BARBATI, C. Analyse des corps gras par chromatographie en couche mince sur baguette et par chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire de verre. *Rev. Fr. Corps Gras*, Paris, 10: 467-475, 1977.

MOSSE, J.; BANDET, J.; LANDRY, J.; MOUREAUX, T. Etude sur les protéines du maïs. II Comparaison entre les compositions en acide aminé et les proportions mutuelles des fractions protéiques de grains normaux et mutants. *Ann. Physiol. Veg.*, Paris, 8: 331, 1966.

MURATA, T. & TAKAHASHI, S. Analysis of triglyceride mixtures by gas chromatography mass spectrometry. *Anal. Chem.*, Washington, 45 (11): 1816-1823, 1973.

NELSON, O. E.; MERTZ, E. T.; BATES, L. S. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. *Science*, Washington, 150: 1469-1470, 1965.

NEWMAN, J. M. An overview of the Iatroscan. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 501-502, 1985.

NORRIS, F. A. & MATTIL, K. F. A new approach to the glyceride structure of natural fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 24: 274-275, 1947.

OHSHIMA, T.; RATNAYAKE, W. M. N.; ACKMAN, R. G. Cod lipids, solvent systems and the effect of fatty acid chain length and unsaturation on lipid class analysis by Iatroscan TLC-FID. *J. Am. Oil Chem. Soc.* Champaign, 64 (2): 219-223, 1987.

OKUMURA, T. & KADANO, T. Thin-layer chromatography on precoated adsorbents fixed with fused glass. VIII thin-layer chromatography on silica gel and

alumina sintered sticks. *Bunseki kagaku* / Japan Analyst. Tokyo, 22: 980-987, 1973.

OKUMURA, K.; YAMADA, Y.; KONDO, J.; KOBAYASHI, N.; HASHIMOTO, H.; ITO, T. Quantitative determination of 1,2-diacylglycerol in thoracic aorta of the rat using Iatroscan TLC-FID: Effect of norepinephrine. *Lipids*, Champaign, 24 (11): 982-984, 1989.

ONG, S. H. A. & GOH, S. H. *Some chemical aspects of the minor constituents of palm oil*. In: annals of the second chemistry of fatty acids and lipids course. Kuala Lumpur, Palm oil Research Institute of Malaysia, April 11-16, 1983.

PADLEY, F. B. The use of a flame-ionisation detector to detect components separated by thin-layer chromatography. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 39: 37-46, 1969.

PARRIS, N. A. Non-aqueous reversed-phase chromatography of glycerides using infrared detection. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 149: 615-624, 1978a.

PARRIS, N. A. Non-aqueous reversed-phase liquid chromatography. A neglected approach to the analysis of low polarity samples. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 157: 161-170, 1978b.

PARRISH, C. C. & ACKMAN, R. G. Chromarod separations for the analysis of marine lipid classes by Iatroscan thin-layer chromatography flame ionization detection. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 262: 103-112, 1983

PARRISH, C. C. & ACKMAN, R. G. Calibration of the Iatroscan-Chromarod system for marine lipid class analyses. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 521-530, 1985.

PAYNE-WAHL, K.; PLATTNER, R. D.; SPENCER, C. F. Separation of tetra-, penta- and hexadecyl triglycerides by hplc. *Lipids*, Champaign, 14 (7): 601-605, 1979.

PEI, P. T. S.; HENLY, R.; RAMACHANDRAN, S. New applications of high pressure

- reversed-phase liquid chromatography in lipids. *Lipids*, Champaign, 10 (3): 152-156, 1975.
- PERKINS, E. G. & HANSON, A. Application of computer methods to the calculation of triglyceride structure. *J. Am. Oil Chem. Soc.* Champaign, 42: 1032-1035, 1965.
- PETERSSON, B.; PODLAHA, O.; TOREGARD, B. HPLC separation of natural oil triglycerides into fractions with the same carbon number and numbers of double bonds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 58 (11): 1005-1009, 1981.
- PLATTNER, R. D.; SPENCER, G. F.; KLEIMAN, R. Triglyceride separation by reversed phase high performance liquid chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 54(11): 511-515, 1977.
- PIONIS, G. F. Comunicação pessoal. 1990.
- POMERANZ, Y. *Advances in cereal science and technology*. St. Paul, American Association of Cereal Chemists, 1978. 463p.
- RAO, G. A.; RILEY, D. E.; LARKIN, E. C. Comparison of thin layer chromatography flame ionization detection system with other methods for quantitative analysis of liver lipid contents in alcohol fed rats and controls. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 531-525, 1985.
- ROEHM, J. N. & PRIVETT, O. S. Changes in the structure of soybean triglycerides during maturation. *Lipids*, Champaign, 5 (3): 353-358, 1970.
- ROSENTHAL, Amauri. - *Desenvolvimento e otimização de um processo para produção de flocos de milho verde por desidratação em rolos secadores (Drum-dryer)*. Campinas, 1988, 188p. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.
- RYAGE, R. & STENHAGEN, E. Mass spectrometry in lipid research. *J. Lipid Res.*, Bethesda, 1 (3): 361-390, 1960.

SCHÖNHAUS, I. *Composição e valor biológico das proteínas de quatro variedades de milho (Zea mays L.) em dois estágios de maturação*. Campinas, 1980. 88p. Tese (Mestre em Ciência de Alimentos) - Fac. Eng. Alim. - Universidade Estadual de Campinas.

SCHÖNHAUS, I. & SGARBIERI, V. C. Characteristics of composition and protein nutritive value of composition and protein nutritive value of a new cultivar of mayse (Nutrimaiz) in two stages of maturity. *J. Agric. Food Chem.* Washington, 31 (1): 1-7, 1983.

SEBEDIO, J. L.; FARQUHARSON, T. E.; ACKMAN, R. G. Quantitative analyses of methyl esters of fatty acid geometrical isomers, and of triglycerides differing in unsaturation, by the Iatroscan TLC/FID technique using AgNO₃ impregnated rods. *Lipids*, Champaign, 20 (8): 555-560, 1985.

SGARBIERI, V. C.; CONTRERAS, E.; AMAYA, J.; DA SILVA, W. J.; REYES, F. G. R. Composição e valor nutritivo de quatro cultivares de milho (*Zea mays*) em dois estágios de maturação. *Cienc. Tecnol. Aliment.* São Paulo, 2 (2): 180-193, 1982.

SGARBIERI, V. C.; SILVA, W. J.; ANTUNES, P. L.; AMAYA-F., J. Chemical composition and nutritional properties of a sugary-1/opaqué-2 (su1/o2) variety of maize (*Zea mays*, L.). *J. Agric. Food Chem.* Washington, 25 (5): 1098-1101, 1977.

SHANTHA, N. C. & ACKMAN, R. G. Advantages of total lipid hydrogenation prior to lipid class determination on Chromarods SIII. *Lipids*, Champaign, 25 (9): 570-574, 1990.

SILVA, W. J.; TEIXEIRA, J. P. F.; ARRUDA, P.; LOVATO, M. B. Nutrimaiz, a sweet maize cultivar of high nutritional value. *Maydica*, 23: 129, 1978.

SINSEL, J. A.; LARVE, B. M.; MCGRAW, L. D. High-pressure liquid chromatographic analysis of glyceride based lubricants. *Anal. Chem.*, Washington, 47: 1987-1992, 1975.

- SIPOS, J. C. & ACKMAN, R. G. Automated and rapid quantitative analysis of lipids with Chromarods. *J. Chrom. Sci.*, Nolis, 16: 443-447, 1978.
- SLOVER, H. T.; THOMPSON JR., R. H.; MEROLA, G. V. Determination of tocopherols and sterols by capillary gas chromatography. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 60 (8): 1524-1528, 1983.
- SWERN, D. *Composition and characteristics of individual fats and oils*. In: MATTIL, K.F.; NORRIS, F.A.; STIRTON, A.J.; Baileys industrial oil and fat products. 3.ed. New York, Wiley, 1979. v.1, p. 389-398. SZAKASITS, J. J.;
- PEURIFOY, P. V.; WOODS, L. A. Quantitative thin-layer chromatography using a flame ionization detector. *Anal. Chem.* Washington, 42: 351-354, 1970.
- TANAKA, M.; TAKASE, K.; ISHII, J.; ITOH, T.; KANECO, H. Application of a thin-layer chromatography flame ionization detection system for determination of complex lipid constituents. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 284: 433-440, 1984.
- TATARA, T.; FUJII, T.; KAWASE, T.; MINAGAWA, M. Quantitative determination of tri-, di-, monooleins and free oleic acid by thin layer chromatography flame ionization detector system using internal standards and boric acid impregnated Chromarod. *Lipids*, Champaign, 18 (10): 732-736, 1983.
- THOMAS, A. *Fats and fatty oils*. In: GERHARTZ, W. ed. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry, Weinheim, VCH, 1987. A10, p. 173-276.
- VANDAMME, D.; BLATON, V.; PEETERS, H. Screening of plasma lipids by thin-layer chromatography with flame ionization detection on Chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 145: 151-154, 1978.
- VANDER WAL, R. J. Calculation of the distribution of the saturated and unsaturated acyl groups in fats, from pancreatic lipase hydrolysis data. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 37 (1): 18-20, 1960.
- VAN TORNOUT, P.; VERCAEMST, R.; CASTER, H.; LIEVENS, M. J.; DE

KEERSGIETER, W.; SOETEWY, F. ROSSENEU, M. Use of 1-octadecanol as an internal standard for plasma lipid quantitation on Chromarods. *J. of Chrom.*, Amsterdam, 164: 222-227, 1979.

VRIES, B. de. Quantitative separations of lipid materials by column chromatography on silica impregnated with silver nitrate. *Chem. & Ind.*, London, (6): 1049-1050, 1962.

VRIES, B. de. Separation of triglycerides by column chromatography on silica impregnated with silver nitrate. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 41 (6): 403-406, 1964.

WEBER, E. J. Lipids of maturing grain of corn (*Zea mays*, L.): I. Changes in lipid classes and fatty acid composition. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, Champaign, 46 (9): 485-488, 1969.

WEBER, E. J. Corn lipids. *Cereal Chem.* St. Paul, 55 (5): 572-584, 1978.

WRIGHT, K. N. *Nutritional properties and feeding value of corn and its by products*. In: WATSON, S.A. & RAMSTAD, P.E. ed. *Corn Chemistry and technology*. St. Paul, American Association of Cereal Chemists, 1987. 447-455.