

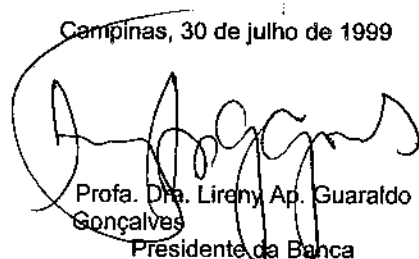
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**“TEORES DE ISÔMEROS *TRANS* EM GORDURAS VEGETAIS
HIDROGENADAS AVALIADOS POR DIFERENTES TÉCNICAS
INSTRUMENTAIS”**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Cristiane Hess de Azevedo aprovada pela Comissão Julgadora em 30 de julho de 1999.

Campinas, 30 de julho de 1999



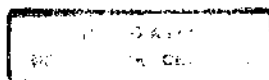
Profa. Dra. Lireny Ap. Guaraldo
Gonçalves
Presidente da Banca

Cristiane Hess de Azevedo
(Engenheira de Alimentos)

Profa. Dra. Lireny Ap. Guaraldo Gonçalves
(Orientadora)

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP
para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos

Campinas – 1999



9915730

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	
Ex.	
	38 409
	229/99
	☐ ☒
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	21/08/99
N.º CPD	

CM-00125599-1

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

Az25t

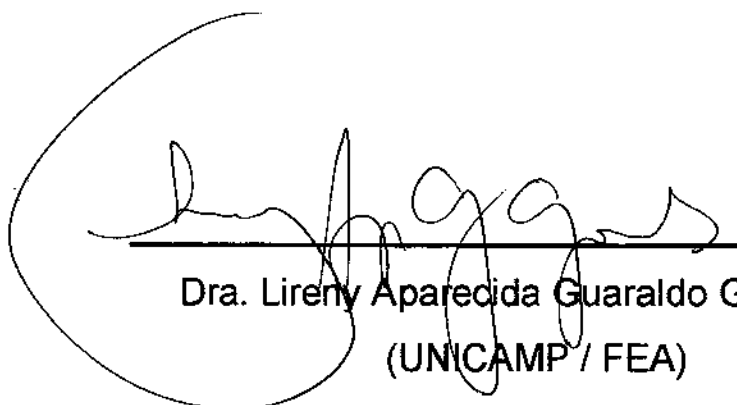
Azevedo, Cristiane Hess de

Teores de isômeros trans em gorduras vegetais
hidrogenadas avaliados por diferentes técnicas instrumentais /
Cristiane Hess de Azevedo. – Campinas, SP: [s.n.], 1999.

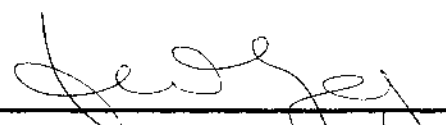
Orientador: Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Isômeros – Métodos – Análise. 2.Cromatografia de gás.
3.Espectrofotometria. 4.Óleos e gorduras. I.Gonçalves,
Lireny Aparecida Guaraldo. II.Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos. III.Título.

Banca Examinadora:



Dra. Lireny Aparecida Guaraldo Gonçalves
(UNICAMP / FEA)



Dra. Helena Teixeira Godoy
(UNICAMP / FEA)



Dr. Flávio Leite
(Rhodia)

Dr. Cesar Francisco Ciacco
(UNICAMP / FEA)

Dedico esse trabalho ao Pai do céu
por tantas graças e aos pais terrenos
por tanta força e carinho.

Amo vocês, Cristiane Hess.

Agradecimentos:

- A Profa. Dra. Lireny Ap. Guaraldo Gonçalves pela orientação, carinho e paciência.
- Aos meus pais Sandra e Antonio por tanto amor e confiança que não tenho palavras para agradecer.
- Aos meus irmãos Marcelo e Elaine sempre presentes com uma roupinha e uma carona.
- Ao amigo e companheiro Luiz Augusto pela grande força, ajuda e incentivo.
- Aos amigos do laboratório de óleos da UNICAMP, Prof. Dr. Daniel Barrera-Arelano, Veridiana, Cristiane Franco, Daniel Bulli, Renato Grimaldi, Rosana, Eliana, Maria de Luna, amigos nas alegrias e tristezas que colaboraram muito profissionalmente.
- Aos tios Dilma e Wilton e os primos pelo grande carinho e amizade.
- Ao Dr. Flavio Leite e a Aparecida (Cidinha) da Rhodia, pela ajuda técnica e a amizade.
- Ao Prof. Dr. Edson Correa Instituto de Física da UNICAMP, pela orientação com a técnica fototérmica.
- Aos Professores Armando Sabaa e Djalva Santana da UFRRJ pelos grandes conselhos e ajudas.
- Aos amigos da EMBRAPA – CTAA, especialmente a Dra. Rosemar Antoniassi, o Dr. Ronoel e o amigo David pela ajuda na hora do corre-corre.

- Aos docentes da Faculdade de Engenharia de Alimentos, pelas informações e conhecimentos passados.
- Aos funcionários da diretoria, biblioteca, restaurante, secretaria e demais serviços auxiliares da UNICAMP sem os quais o trabalho não seria possível começar e terminar.
- Ao Prof. Dr. Celso Davanzo e a técnica Marcia do Instituto de Química pela ajuda com o infravermelho.
- A pesquisadora Jane Turati e José Alvaro ambos do laboratório de lipídeos do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pelo empréstimo do equipamento e a ajuda.
- As Indústria MAEDA, CARGIL e REFINO DE ÓLEOS DO BRASIL, pela gentileza de cederem as amostras.
- A 3M do Brasil especialmente o Sr. Alexandre Lopes, pelos cartões de análise e principalmente pela atenção oferecida.
- A Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, pela oportunidade de realização do curso de pós-graduação.
- A banca examinadora, pelas sugestões e correções.
- Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado.
- A todos os amigos da UNICAMP e os que me acompanharam no decorrer da vida, pelo carinho e amizade.
- A todos aqueles que tornaram possível a realização deste trabalho.

Muito Obrigada!

ÍNDICE GERAL

Página

ÍNDICE GERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
ÍNDICE DE TABELAS	vi
ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
2.1. Estrutura e composição química de óleos e gorduras.....	2
2.2. Ocorrência e formação dos isômeros trans.....	4
2.2.1. Ocorrência e formação natural.....	4
2.2.2. Ocorrência e formação industrial.....	6
2.2.2.1. Processo de formação industrial-Hidrogenação.....	8
2.3. Gorduras vegetais hidrogenadas.....	11
2.4. Alternativas industriais para produção de gorduras com menores teores de isômeros trans.....	14
2.4.1. Fracionamento.....	15
2.4.2. Interesterificação.....	16
2.4.3. Processo Misto (Hidrogenação+Interesterificação).....	17
2.5. Ácido graxos trans e seus efeitos à saúde humana.....	17
2.5.1. Doenças coronarianas.....	18
2.5.2. Outras doenças.....	19
2.5.3. Efeito sobre os ácidos graxos essenciais (EFA).....	20
2.5.4. Absorção de isômeros trans no corpo humano.....	22
2.5.5. Efeitos gerais.....	24
2.6. Métodos instrumentais de análises dos ácidos graxos trans.....	25

2.6.1. Cromatografia gasosa.....	25
2.6.2. Espectrofotometria infravermelho.....	28
2.6.3. IR-card.....	29
2.6.4. Espectroscopia fotopirelétrica.....	32
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	34
3.1. Material.....	34
3.1.1. Matéria-prima.....	34
3.1.2. Equipamentos.....	36
3.1.3. Reagentes.....	37
3.1.4. Outros materiais.....	37
3.2. Planejamento Experimental.....	37
3.2.1. Amostragem.....	38
3.2.2. Preparação das amostras.....	38
3.3. Métodos analíticos.....	39
3.3.1. Conteúdo de gorduras sólidas (SFC).....	39
3.3.2. Preparação de ésteres metílicos.....	39
3.3.3. Ponto de fusão.....	39
3.3.4. Composição em ácidos graxos.....	39
3.3.5. Quantificação de ácidos graxos trans por cromatografia gasosa método AOCS.....	40
3.3.6. Quantificação de ácidos graxos trans por cromatografia gasosa método alternativo.....	40
3.3.7. Quantificação de ácidos graxos trans por espectrofotometria infravermelho método AOCS.....	41
3.3.8. Quantificação de ácidos graxos trans por espectrofotometria infravermelho método Ir-card.....	42
3.3.9. Quantificação de ácidos graxos trans pela técnica de espectroscopia fotopirelétrica.....	43
3.4. Avaliação dos resultados.....	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1. Caracterização da matéria-prima.....	45

4.2. Estudo da esterificação.....	50
4.3. Técnicas instrumentais.....	53
4.3.1. Cromatografia gasosa.....	54
4.3.1.a) Coluna SP-2340.....	54
4.3.1.b) Coluna CP-Sil 88.....	58
4.3.1.c) Coluna SP-2340 X CP-Sil 88.....	62
4.3.2. Espectrofotometria de infravermelho.....	67
4.3.2.a) Metodologia AOCS (cela de NaCl).....	67
4.3.2.b) Metodologia FTIR-Cartões.....	70
4.3.2.c) IR cela X IR cartões.....	72
4.3.3. Cromatografia gasosa X infravermelho.....	74
4.3.4. Espectroscopia fotopirelétrica.....	76
5.CONCLUSÕES.....	78
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXO I.....	88
ANEXO II.....	95
ANEXO III.....	99
ANEXO IV.....	103
ANEXO V.....	105

ÍNDICE DE FIGURAS

		Páginas
Figura 1	Isômero geométrico cis, isômero geométrico trans.....	3
Figura 2	Hidrogenação de ácidos graxos via rumen e via industrial....	5
Figura 3	Modelo de 3M IR-Card –Análise quantitativa.....	30
Figura 4	Modelo geométrico unidimensional do sistema fotopirelétrico.....	32
Figura 5	Curva de sólidos das amostras C 01 e R 05.....	47
Figura 6	Perfil em ácidos graxos de azeite de oliva.....	51
Figura 7	Perfil em ácidos graxos da amostra referência de trans AOCS.....	51
Figura 8	Perfil em ácidos graxos na coluna SP-2340, amostra C 07...	56
Figura 9	Perfil em ácidos graxos na coluna SP-2340, amostra R 10...	57
Figura 10	Perfil em ácidos graxos na coluna CP-Sil 88, amostra R 10.	60
Figura 11	Perfil em ácidos graxos na coluna CP-Sil88, amostra R 06..	61
Figura 12	Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 1.....	64
Figura 13	Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 3.....	64
Figura 14	Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 7.....	65
Figura 15	Valores de trans isômeros totais dos padrões certificados AOCS 1,3 e 7.....	65
Figura 16	Distribuição do coeficiente de variação pelo número de amostras.....	67
Figura 17	Comparação entre os valores IR obtidos por metodologia AOCS e os valores certificados.....	69
Figura 18	Distribuição de frequência entre as amostras de cela e cartão, em relação ao coeficiente de variação.....	73

Figura 19	Distribuição das amostras pelo coeficiente de variação entre as duas metodologias.....	74
Figura 20	Distribuição das amostras pelo coeficiente de variação entre as duas técnicas: CG e IR.....	76

ÍNDICE DE TABELAS

		Páginas
Tabela 1	Ácidos graxos trans, ocorrência natural.....	5
Tabela 2	Teores de isômeros trans em produtos comerciais.....	7
Tabela 3	Ponto de fusão de ácidos graxos e seus isômeros.....	10
Tabela 4	Aplicação de gorduras hidrogenadas.....	12
Tabela 5	Alternativas tecnológicas para obtenção de gorduras sem isômeros trans.....	15
Tabela 6	Conteúdo de ácidos graxos trans em lipídeos do corpo humano após a ingesta de óleo vegetal parcialmente hidrogenado.....	23
Tabela 7	Teores certificados trans totais para CG e IR.....	34
Tabela 8	Teores certificados em ácidos graxos para CG.....	34
Tabela 9	Aplicações comerciais das gorduras hidrogenadas fornecidas.....	35
Tabela 10	Conteúdo de gordura sólida (SFC) – Amostras CARGILL.....	45
Tabela 11	Conteúdo de gordura sólida (SFC) – Amostras AOCS de referência.....	46
Tabela 12	Conteúdo de gordura sólida (SFC) – Amostras MAEDA.....	46
Tabela 13	Conteúdo de gordura sólida (SFC) – Amostras REFINO DE ÓLEOS BRASIL.....	46
Tabela 14	Composição em ácidos graxos coluna empacotada 10% SILAR 10C.....	48
Tabela 15	Composição em ácidos graxos coluna empacotada 10% SILAR 10C.....	49
Tabela 16	Comparação entre os valores certificados e os obtidos por esterificação.....	52

Tabela 17	Comparação entre os valores da amostra AOCS 3 esterificada por 2 diferentes métodos.....	53
Tabela 18	Composição em ácidos graxos das gorduras comerciais separadas através da coluna SP-2340.....	55
Tabela 19	Composição em ácidos graxos das gorduras comerciais separadas através da coluna CP-Sil 88.....	59
Tabela 20	Trans total obtido por espectrofotometria de infravermelho método AOCS – Cd 14-95.....	68
Tabela 21	Trans total obtido por espectrofotometria de infravermelho método IR-Card.....	71

ABREVIATURAS E SIGLAS

AG – Ácido graxo

AOCS – American Oil Chemists' Society

C 8:0 – Ácido caprílico

C 10:0 – Ácido cáprico

C 12:0 – Ácido láurico

C 14:0 – Ácido mirístico

C 16:0 – Ácido palmítico

C 16:1 – Ácido palmitoléico

C 18:0 – Ácido esteárico

C 18:1 – Ácido oléico

C 18:1t – Ácido elaídico

C 18:2 – Ácido linoléico

C 18:2 tt, ct, tc – Isômeros trans do ácido linoléico

C 18:3 – Ácido linolênico

C 18:3 ttt, cct, tct – Isômeros trans do ácido linolênico

C 20:0 – Ácido araquídico

C 20:1 – Ácido gadoléico

C 22:0 – Ácido behênico

C 24:0 – Ácido lignocérico

CG – Cromatografia gasosa

CHD – (Coronary heart disease) Doença coronariana

EFA – (Essencial fatty acid) Ácido graxo essencial

FAME – (Fatty acid methyl esteres) Ésteres metílicos de ácido graxo

FEA – Faculdade de Engenharia de Alimentos

FTIR – Espectrofotometria Infravermelho – Transformada de Fourier

HDL – (High density lipoproteins) Lipoproteína de alta densidade

IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry

IR – (Infrared) Infravermelho

LDL – (Low density lipoproteins) Lipoproteína de baixa densidade

P.F. – Ponto de fusão

RMN – Ressonância magnética nuclear

SFC – (Solid fat content) Conteúdo de gordura sólida

TFA – Ácidos graxos trans

RESUMO:

Na atualidade, óleos e gorduras são alimentos observados com muita atenção pelos consumidores, por terem relação direta com a saúde. As gorduras hidrogenadas nesse aspecto, merecem especial destaque pois são ingredientes importantes na elaboração de alimentos. Através de processos como a hidrogenação, é possível obter produtos gordurosos de consistência diferenciada e com melhor estabilidade oxidativa. Entretanto, esse percurso leva ao aparecimento de compostos indesejáveis, como por exemplo, os isômeros trans, gerando muita polêmica. Desta maneira, torna-se fundamental o monitoramento da formação desses compostos durante a hidrogenação, e sua quantificação nos produtos finais. Frente a essas informações, esse trabalho teve como objetivo aplicar as diferentes técnicas disponíveis na literatura para a quantificação de isômeros trans, comparando dados obtidos entre as técnicas em amostras reais. Foram utilizadas: cromatografia gasosa com 2 colunas cromatográficas de alta polaridade (SP-2340, CP-Sil 88) e a espectrofotometria infravermelho tradicional (AOCS Cd 14-95) e com uso de cartão IR-Card (3M). Na quantificação tendo como padrão amostras referência AOCS, o método de esterificação segundo HARTMAN & LAGO (1973) foi estudado e não produziu qualquer artefato que afetasse os resultados. Foram avaliadas 28 amostras comerciais de gorduras hidrogenadas brasileiras, de diferentes fornecedores, com teores de isômeros trans na faixa de 9 a 55%. Na comparação entre as colunas de alta polaridade, a fase estacionária com 100% cianopropilpolisiloxano (CP SIL 88) a 185°C apresentou boa eficiência, notadamente na separação de isômeros C 18:3t, que em outra coluna com 78% de cianopropilpolisiloxano (SP-2340) não foram detectadas. Entretanto a coluna SP-2340 apresentou melhor separação dos isômeros do C 18:1 geométricos e posicionais. O método oficial para espectrofotometria infravermelho da AOCS, considerado como técnica padrão, levou à obtenção de resultados de isômeros trans com pequeno coeficiente de variação (0,13% a 1,94%). O uso de IR-cards apresentou tendência a subestimar os valores de isômeros trans, com coeficiente de variação entre 0,54% a 8%. A comparação das duas técnicas de infravermelho apresentou erros consideráveis na faixa de 1,19 a 29,91%. Embora menos precisa, a técnica mais moderna baseada na

quantificação de isômeros trans totais por cartões, apresenta-se como uma boa indicação se as gorduras hidrogenadas produzidas se enquadram em teores baixos, médios ou altos de isômeros.

Palavras-chave: Métodos de análises de isômeros trans, Cromatografia Gasosa, Espectrofotometria Infravermelho, IR-Cards, Óleos e Gorduras.

“ISOMERIC TRANS CONTENTS IN HYDROGENATED VEGETABLE FATS ESTIMATED BY DIFERENT INSTRUMENTAL TECHNIQUES”

ABSTRACT:

Nowadays, oils and fats are classes of food observed with more attention by the consumers, because their direct relationship with the health. The hydrogenated fats in that aspect, deserve special prominence because they are important ingredients in the elaboration of foods. By processes as the hydrogenation, it is possible to obtain fatty products of differentiated consistency and with better oxidative stability. However, these path lead to formation of undesirable components, for example, the isomeric trans, generating a lot of polemic. Therefore it becomes fundamental to inspect the formation of those components during the hydrogenation, and its quantification in the final products. Because those information, the aim of this work was to apply the different available techniques in the literature to the quantification of isomeric trans, comparing data obtained among the techniques in real samples. Gaseous chromatography was used with high polarity 2-chromatographic columns (SP-2340, CP-Sil 88), traditional infrared spectrophotometry (AOCS Cd 14-95) and with IR-Card (3M). In the quantification having as standard samples the AOCS reference, the esterification method according to HARTMAN & LAGO (1973) was studied and it did not produce any artifacts that affected the results. Twenty-eight commercial samples of brazilians hydrogenated fat from different vendors were tested and isomeric trans contents ranging from 9 to 55%. Comparing high polarity columns, the stationary phase with 100% cyanopropylpolisiloxano (CP-SIL 88) for 185^oC and the 78% cyanopropylpolisiloxano column (SP-2340), the first one presented better efficiency, specially in the separation of isomeric C 18:3t, when the 78% cyanopropylpolisiloxano column was used, the isomers C 18:3t were not detected. However the SP-2340 column presented a better separation of the geometric and position isomeric of C 18:1t. The AOCS official method for infrared spectrophotometry - considered as standard technique in this work - lead to isomeric trans results with small variation coefficients (0,13% – 1,94%). The use of IR-Cards presented trends to underestimate the values of isomeric trans with variation coefficient

in the range of 0,54 – 8%. However, the comparison of the two techniques presented considerable mistakes (1,19 – 29,91). Although less accurate, the more modern technique based on the quantification of total trans isomeric by IR-Card present itself as a good tool for industrial applications, because besides being innocuous and fast, this technique locates the valeus of these isomeric in ranges that lead to a good indication if the produced hydrogenated fats presents low, medium or high texts of isomeric.

Keywords: Trans isomers methods, Gas Chromatography, Infrared Spectrophotometry, IR-Cards, Oils and fats.

1 - INTRODUÇÃO

Existe hoje um aumento de interesse biológico e nutricional sobre os efeitos dos isômeros trans e outros ácidos graxos saturados na saúde humana. No entanto não se dispõe de informações a respeito do conteúdo desses ácidos na dieta pela quantidade limitada de dados analíticos em óleos, gorduras e seus derivados, associada às dificuldades na quantificação de ácidos graxos trans em todos os teores.

É sabido que sempre que existe uma ligação dupla em um ácido graxo, existe a possibilidade de formação de estruturas isoméricas. A hidrogenação parcial das duplas ligações dos triacilgliceróis que compõem um óleo podem mudar a isomeria da dupla ligação da configuração cis para a configuração trans. Por isso os produtos derivados da hidrogenação de óleos, tais como margarinas e outras gorduras industriais, apresentam altos conteúdos de ácidos graxos com isomeria trans (VALENZUELA *et alii*, 1995).

As implicações para a saúde derivadas do consumo de ácidos graxos trans na dieta, são na atualidade motivo de muitas controvérsias. Já se demonstrou que os ácidos graxos trans comportam-se biologicamente como gorduras saturadas. Os ácidos graxos trans aumentam o colesterol de baixa densidade (LDL) e diminuem simultaneamente o colesterol de alta densidade (HDL), sendo consideradas ambas as situações como aterogênicas (BRISSEON, 1981).

Para colaborar com a comunidade científica e o setor industrial, este trabalho enfatiza o uso de diferentes técnicas de quantificação de isômeros trans em gorduras hidrogenadas vegetais brasileiras, tendo em vista problemas de quantificação detectados por um estudo colaborativo preliminar envolvendo laboratórios de pesquisa e o setor industrial no Brasil.

Em metodologias hoje utilizadas para quantificação e identificação de isômeros trans, a busca por associação ou alternativa de técnicas deve ser incentivada.

2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DE ÓLEOS E GORDURAS.

Óleos e gorduras são substâncias de origem vegetal, animal ou mesmo microbiana, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos. Seus principais componentes são os triacilgliceróis. Estruturalmente um triacilglicerol é formado pela reação de uma molécula de glicerol com três moléculas de ácido graxo. Os ácidos graxos são compostos que conferem aos lípideos as principais propriedades nutricionais, diferindo basicamente entre si pelo comprimento de sua cadeia de hidrocarbonetos (4 - 24 átomos de carbono) e pelo número (1 a 6) e posição de suas duplas ligações. Essas características são responsáveis pelas diferentes propriedades físicas e químicas desses compostos (SONNTAG, 1979).

Em óleos e gorduras naturais os ácidos graxos insaturados, como ácidos oléico e linoléico, possuem ligações duplas na forma *cis*. A ligação *trans*, uma forma de isomeria geométrica da ligação *cis*, aparece em pequenas quantidades nos ácidos graxos dos óleos e gorduras vegetais, em teores relativamente maiores em óleos e gorduras de origem animal e em grandes quantidades em gorduras modificadas pelo processo de hidrogenação (GUNSTONE *et alii*, 1994).

Quando os dois átomos de hidrogênio estão do mesmo lado da cadeia, a dupla ligação é parte de uma estrutura rígida em forma de "arco" constituída ao longo do ácido graxo (configuração *cis*, predominante em ácidos insaturados conhecidos). Ao contrário, quando os hidrogênios se encontram em lados opostos em relação à cadeia hidrocarbonada, a dupla ligação é dita na configuração *trans* e o ácido graxo apresenta-se como uma cadeia praticamente linear, como pode ser observado na Figura 1 (ECKEY, 1954).

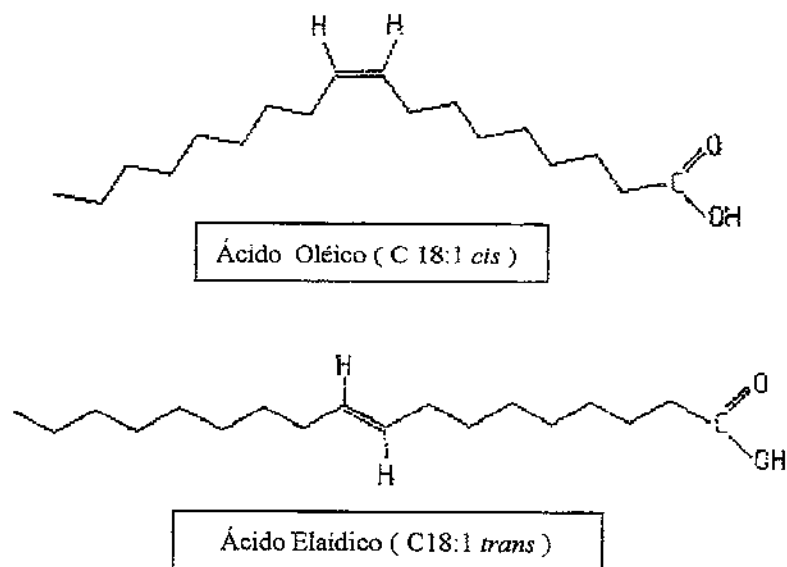


Figura 1: Isômeros geométrico *cis* (ácido oléico), Isômeros geométrico *trans* (ácido eláidico).

Quando o mesmo número de duplas ligações está presente, mas localizadas em posições diferentes na cadeia, os ácidos graxos são ditos isômeros posicionais (DUGAN, 1976).

As insaturações presentes associam-se às gorduras líquidas e de menor ponto de fusão, maior solubilidade e maior reatividade química. Estas podem estar distribuídas de diferentes formas ao longo da cadeia hidrocarbonada (SONNTAG, 1979).

2.2 – OCORRÊNCIA E FORMAÇÃO DOS ISÔMEROS TRANS

2.2.1 – Ocorrência e Formação Natural

Ácidos graxos trans (TFA) já foram chamados como substâncias “não-fisiológicas” ou “não-naturais” (SOMMERFELD, 1983). Entretanto hoje sabe-se não ser verdade. Os trans isômeros podem ser encontrados entre os vegetais normalmente consumidos pelo organismo humano e em algumas espécies de plantas principalmente em sementes e folhas (SOMMERFELD, 1983; MANCINI & CHEMIM, 1996). Alguns exemplos onde teores de trans isômeros podem ser encontrados incluem vegetais como: ervilhas, alho-poró, espinafre e alface.

A origem desses ácidos trans em produtos de origem animal deve-se a um processo natural de biohidrogenação em animais ruminantes, através de sistemas enzimáticos da flora microbiana (MANCINI & CHEMIM, 1996).

Esses ácidos graxos vão ser absorvidos pelo trato gastrintestinal e incorporados em diferentes tecidos do organismo animal, podendo ser encontrados no leite e seus subprodutos, em músculos, no tecido adiposo, etc, estando assim sempre presentes em parte da dieta humana (OVERSEN *et alii*, 1996).

Os ácidos graxos trans são largamente encontrados em gorduras animais com destaque especial à manteiga, onde pode-se citar uma variação entre 4 a 11% do teor de ácidos trans. Os ácidos graxos C18:1, C18:2 e C18:3 da manteiga são conhecidos pela mistura complexa de isômeros posicionais e geométricos. Como outra fonte de origem animal destacam-se o sebo e a banha de porco contendo em média 5 a 10% de isômeros trans (DEMAN & DEMAN, 1983).

Esses isômeros também podem surgir durante reações de isomerização nas etapas de desodorização de óleos vegetais.

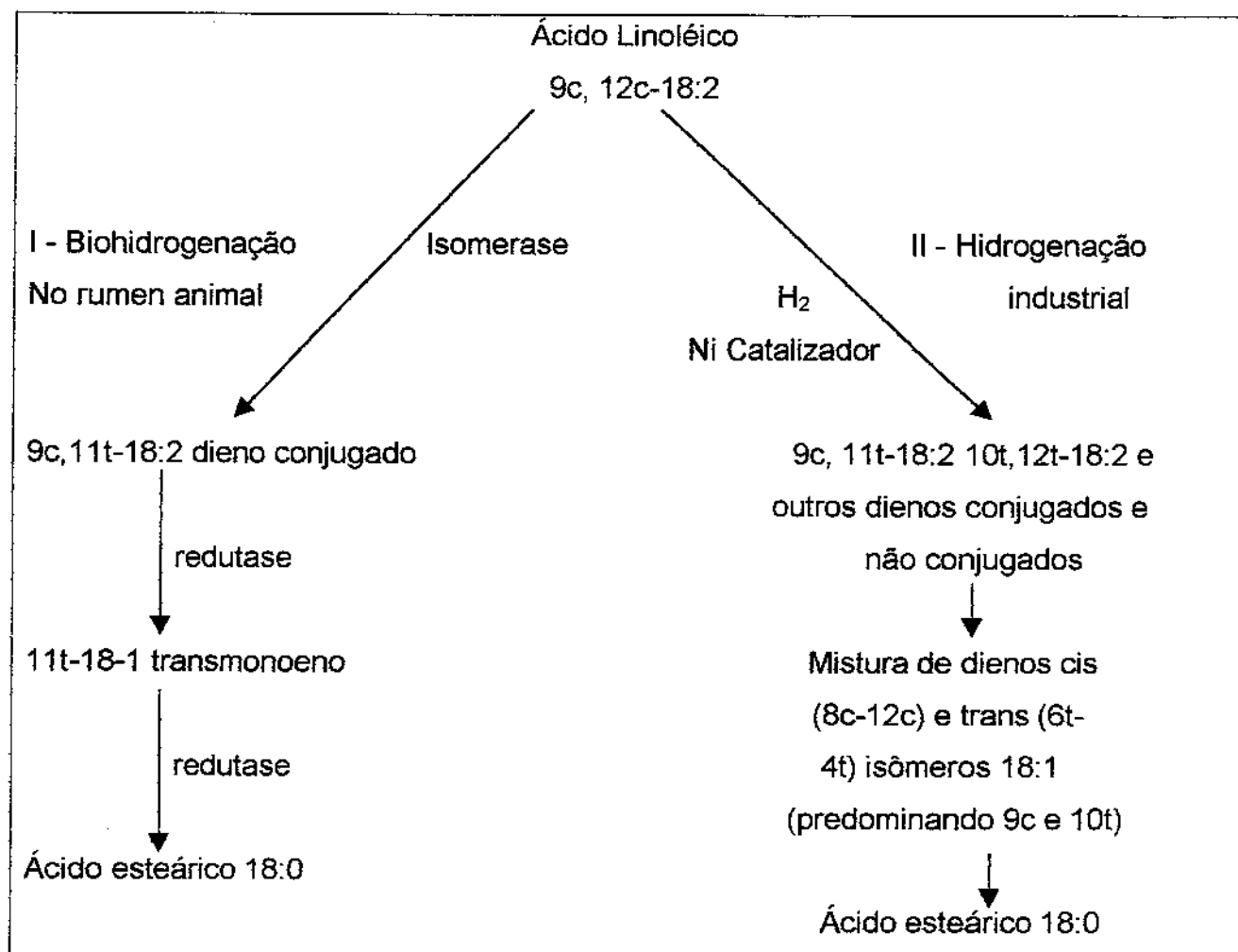
A Tabela 1 demonstra a ocorrência natural de ácidos graxos *trans* em alguns vegetais.

Tabela 1: Ácidos graxos *trans*, ocorrência natural.

OCORRÊNCIA	AG	% TRANS
Abóbora	Tricosânico	11 - 17
Calêndula	C 18:3 (8t,10t,12c)	~50
Alface	C16:1 (3t)	Não especificado
Jacarandá	C18:3 (8c,10t,12c)	31

Fonte: SOMMERFELD, 1983.

A Figura 2 apresenta a comparação entre a formação de TFA natural por biohidrogenação e o processo industrial.



Fonte: GURR, 1992.

Figura 2: Hidrogenação de ácidos graxos via rumen e via industrial

2.2.2 – Ocorrência e Formação Industrial

As mudanças alimentares ao longo deste século, acompanhadas pelo desenvolvimento tecnológico das indústrias de alimentos, exerceram uma influência fundamental sobre o perfil alimentar do homem contemporâneo. Atualmente os alimentos industrializados ocupam um espaço significativo em nossa dieta, seja por questões de ordem econômica, prática ou mesmo questões subjetivas.

GIOIELLI (1996), relatou a demanda de consumo em óleos comestíveis como sendo somente 1/3 da produção total, enquanto 2/3 dos óleos líquidos são consumidos no estado semi-sólido, após algum tipo de modificação de consistência, na qual a hidrogenação ocupa um lugar de destaque.

Indiretamente um adicional de ingestão dos isômeros trans hoje é derivado do processo industrial de hidrogenação de óleos vegetais e marinhos usados na manufatura de margarinas e "shortening" (OVERSEN *et alii*, 1996). No Brasil não há disponibilidade de óleos marinhos hidrogenados pelo fato da matéria prima não estar disponível, entretanto segundo a legislação de formulação de margarinas em vigor no país, essa fonte é permitida (Legislação de Margarina, 1997).

Esses isômeros são formados quando o óleo vegetal líquido é parcialmente hidrogenado para a formação de margarinas e gorduras técnicas. Essas gorduras vegetais são usadas em substituição às gorduras animais, as quais contêm ácidos graxos saturados e colesterol, opção esta levando-se em conta a preocupação com a saúde. Entretanto tem-se presenciado teores de 5-50% de trans nessas gorduras nos Estados Unidos (WILLET *et alii*, 1993).

ASCHERIO *et alii* (1994) estimaram que os óleos vegetais parcialmente hidrogenados contribuem em 74% do total da ingestão de ácidos graxos trans pela população.

Em princípio, existe pouca diferença entre o processo catalítico químico de redução de duplas ligações utilizado pelas indústrias de alimentos e o processo catalítico enzimático anaeróbico fermentativo dos microrganismos de animais ruminantes. A maior diferença é a maior variedade e concentração dos isômeros trans formados pela hidrogenação industrial, devido as mais drásticas condições e menor controle (VALENZUELA *et alii*, 1995).

Em 1990, SOARES & FRANCO fizeram um levantamento dos teores de trans totais em produtos brasileiros, utilizando a técnica de espectrofotometria infravermelho metodologia AOAC com cela de NaCl. Margarinas, cremes vegetais e gorduras hidrogenadas apresentaram teores de isômeros trans na faixa de 14,4 a 42,3%, sendo que o maior teor foi encontrado em amostra de creme vegetal. KAWASHIMA & SOARES em 1993 pesquisaram trans totais por infravermelho em sorvetes brasileiros, estando estes com teores de 12,7 a 45,1%.

Em diferentes produtos alimentícios são observados faixas diferentes de isômeros trans, chegando a teores próximos de 30% conforme a Tabela 2.

Tabela 2: Teores de isômeros trans em produtos comerciais.

PRODUTOS	CONTEÚDO DE GORDURA TOTAL (%)	ÁCIDOS GRAXOS TRANS (%)
Pão	2	10 – 28
Bolo	11 – 26	10 – 24
Pudim	3 – 18	31 – 36
Batatas fritas	7 – 15	5 – 35
Snacks	36	14 – 34
Manteiga	82	1 – 7
Margarinas duras	81	18 – 36
Margarinas cremosas	81	0 – 21
Gorduras hidrogenadas	99	13 – 37

Fonte: ENIG *et alii*, 1983 citado por: BARRERA – ARELLANO & BLOCK, 1993.

2.2.2.1 – Processo de Formação Industrial - Hidrogenação

Os óleos vegetais em sua forma natural não possuem propriedades e características adequadas para sua incorporação em grande número de alimentos. Para uma melhor adequação esses óleos necessitam de uma modificação que os torne plásticos, aumentando assim sua aplicação. Dentre esses processos de modificação, a hidrogenação é o processo industrial mais amplamente usado (NICHOLS, 1989).

A hidrogenação de óleos é um processo unitário no qual o hidrogênio é adicionado à dupla ligação carbono-carbono dos ácidos graxos, na presença de catalisador, para formar uma gordura sólida ou semi-sólida. O controle deste processo é efetuado através de análise de insaturação do óleo, por índice de refração ou índice de iodo (ALLEN, 1982).

Este processo tem dois propósitos: o primeiro é proporcionar aumento da estabilidade oxidativa do óleo mantendo suas características organolépticas aceitáveis e estendendo a vida de prateleira do produto acabado; o segundo é transformar óleos e gorduras em produtos que tenham características de fusão e de manipulação mais apropriadas às aplicações específicas de uso e aceitabilidade (PATTERSON, 1983).

A reação de hidrogenação ocorre a 180^oC, sob pressão na presença de óleo insaturado (líquido), o catalisador níquel (sólido) e o hidrogênio (gás) sob agitação eficiente. Em geral, a reação heterogênea envolve uma série de passos como: difusão de reagentes, catálise de superfície, adsorção, reação superficial, desorção e difusão de produtos. Reações paralelas como a adsorção, dessorção e isomerização também ocorrem (ALLEN, 1982).

A velocidade da reação é dependente das características do material a ser hidrogenado, da natureza e concentração do catalisador, da temperatura, da pressão e do grau de agitação usado no processo. O catalisador metálico atua adsorvendo os

reagentes sobre a sua superfície. Esse processo rompe parcialmente a ligação $C = C$ e a ligação $H - H$, enquanto ligações secundárias se estabelecem com o catalisador (PATTERSON, 1983).

Ambas ligações saturada e insaturada, são desorvidas na superfície do catalisador e difundidas no óleo principal. Assim, não somente saturam-se as duplas ligações, mas algumas podem também ser isomerizadas a uma nova posição ou forma geométrica (BUEHLER, 1988).

A hidrogenação parcial pode ser seletiva ou não-seletiva. A hidrogenação é seletiva quando a adição de hidrogênio aos ácidos graxos mais insaturados prevalece sobre a hidrogenação dos menos insaturados. Assim, a hidrogenação seletiva de um óleo ou gordura contendo ácidos linoléico e oléico, favorece a conversão do ácido linoléico ($C18:2$) em oléico ($C18:1$) ou seus isômeros, em esteárico ($C18:0$). A seletividade aumenta com o aumento da temperatura de reação e diminui com o aumento da pressão e da intensidade de agitação (PATTERSON, 1983).

A seletividade e a isomerização ocorrem no mesmo sentido. Torna-se muito difícil utilizando catalisador de níquel, hidrogenar seletivamente e com baixa isomerização, o que é sério problema para a obtenção de óleos mais estáveis para frituras, sem trans (BUEHLER, 1988).

O processo de hidrogenação, em paralelo, faz surgir uma série de compostos não existentes no óleo original, tais como: (a) novos ácidos graxos saturados, (b) isômeros *trans*, (c) isômeros posicionais e (d) ácidos graxos conjugados (PATTERSON, 1983). Muitas dessas moléculas nunca foram encontradas naturalmente (WILLET & ASCHERIO, 1994).

Alguns fatores podem acelerar a formação de isômeros *trans*, tais como, temperaturas de hidrogenação não recomendadas, a seletividade do catalisador, o tipo

de metal catalítico usado, a dimensão e o desenho do reator, a possibilidade de acúmulos das impurezas na superfície do catalisador e a adoção de catalisador novo ou usado (OKONED *et alii*, 1996).

Tecnologicamente a formação de ácidos trans durante a hidrogenação é muito útil porque confere às gorduras hidrogenadas características físicas semelhantes às das gorduras provenientes de animais, ou seja, de maior ponto de fusão. A passagem das estruturas de cis para trans resulta em expressiva mudança no ponto de fusão, promovendo também modificações das características químicas e sensoriais (WEISS, 1983).

Os isômeros trans, além de terem um efeito marcante no ponto de fusão, podem influenciar as características tecnológicas das gorduras hidrogenadas, modificando os processos de cristalização e conseqüentemente a textura do produto (WEISS, 1983). Vale salientar que o aparecimento de isômeros trans durante a hidrogenação de óleos vegetais, leva à produção de gorduras sem o consumo de hidrogênio, levando a um processo de custo reduzido para obtenção de um produto de características semelhantes. Na Tabela 3 verifica-se a mudança no ponto de fusão dos ácidos graxos quando se obtêm seus respectivos isômeros trans, incluindo-se entre eles 3 ácidos graxos saturados a título de comparação.

Tabela 3: Ponto de fusão de ácidos graxos e seus isômeros.

Comprimento Da cadeia	Ácido Graxo	Ponto de Fusão °C
12	12:0	44,2
16	16:0	62,7
18	18:0	69,6
18	9c-18:1	13,2
18	9t-18:1	44
18	9c,12c-18:2	-5
18	9t,12t-18:3	28,5
18	9c,12c,15c-18:3	-11
18	9t,12t,15t-18:3	29,5

Fonte: GUNSTONE & NORRIS, 1983.

Apesar de sua utilidade tecnológica, os efeitos do consumo desses ácidos nos alimentos tem sido objeto de grande controvérsia, no que diz respeito aos aspectos de digestibilidade, metabolismo, absorção, acúmulo no organismo e os seus efeitos nas funções enzimáticas, formação de prostaglandinas, transporte e deposição de colesterol nas artérias, doenças cardíacas e câncer (MEAD *et alii*, 1986; VALENZUELA *et alii*, 1995; MANCINI & CHEMIN, 1996).

2.3 – GORDURAS VEGETAIS HIDROGENADAS.

As gorduras hidrogenadas, acompanhando a modernidade e o desenvolvimento das indústrias de alimentos, têm se tornado cada vez mais específicas, com características físicas especiais para cada aplicação, cumprindo o objetivo de melhorar a qualidade sensorial de diversos alimentos. Através da seleção das matérias-primas, do controle do processo de hidrogenação e da mistura apropriada de óleos vegetais e gorduras hidrogenadas, é possível a obtenção de gorduras (margarinas e produtos finais) para todo tipo de aplicação (THOMAS III, 1978).

SCHMUTZLER (1994) apresentou um resumo das aplicações de gorduras hidrogenadas no Brasil, apontando a característica física necessária para cada aplicação. A Tabela 4 apresenta algumas exigências para essas gorduras.

Tabela 4: Aplicações de gorduras hidrogenadas.

Produto Acabado	Desempenho Requerido da Gordura	Tipo de Gordura Utilizada
Pães e biscoitos	Efeito "Shortening"-facilidade de se misturar com a farinha	Soja, PF=34-36°C. "Steep" para assegurar total derretimento. Mistura com emulsificantes para aumentar a vida do pão.
Recheios de biscoito	Resistir a maquinabilidade (aquecimento devido ao atrito da rosca)	Soja, alto ponto de fusão: 47-48°C. Em mistura com alfa mono glicerídio e propileno glicol mono esterato.
Recheio de chocolate líquido para biscoito	Manter-se líquido em mistura com manteiga de cacau	Soja, PF=22°C. Em mistura com manteiga de cacau, açúcar, leite em pó.
Balas e confeitos	Gerar consistência	Soja, PF=40°C.
Gomas de mascar	Gerar consistência	Soja, PF=40°C + emulsificante saturado.
Sorvetes (massa)	Rápida cristalização para se obter produtividade – ótimo derretimento	Soja, PF=32°C
Crems – Bolos	Absorver ar durante o batimento para aumentar volume e melhorar consistência. Formar creme com açúcar e a gordura no bolo. Cristais mistos, grandes e pequenos, para melhorar aeração. Lubrificação da massa. Melhorar a cor.	Soja, PF=38-40°C. Em composição com soja líquida.
Frituras	Resistência a altas temperaturas. Consistência adequada para facilitar manuseio. Conservação da gordura no produto acabado. Menor absorção pelo produto frito.	Soja, PF=22°C, algodão, PF=22°C, palma, PF=40°C.
Cobertura tipo chocolate	Dureza elevada a 20-25°C. Ótimo derretimento a 35°C. Bom "cracking".	Láuricos fracionados e hidrogenados (palmiste). Babaçu hidrogenado.
Caldos de sopa, cubos com caldo de carne e galinha	Alto ponto de fusão para resistir a temperatura de prateleira, evitando exsudação da gordura para a embalagem.	Algodão, PF=46°C
Sorvetes (cobertura)	Cristalização rápida, ótimo derretimento	Babaçu, PF=28°C, babaçu PF=39°C interesterificado. Algodão hidrogenado até saturação e posterior interesterificação com babaçu.
Massa folhada	Plasticidade/maquinabilidade. Formar camadas isolantes para prender vapores. Resistência ao trabalho mecânico. Cristalização compatível com plasticidade.	Palma, PF=44°C. Palma líquido e outros óleos líquidos.

Fonte: SCHMUTZLER, 1994.

No caso da aplicação de hidrogenados em alimentos podemos dividir essa utilização em dois grupos:

- a) Produtos para mesa: margarinas, cremes vegetais, halvarinas e gorduras para uso geral em cozinha.
- b) Produtos para uso industrial: são aqueles utilizados em frituras, sopas, sorvetes, biscoitos, confeitaria, coberturas, chocolates e panificação.

Os produtos parcialmente hidrogenados para uso industrial são também chamados de gorduras comerciais ou "shortenings" apresentando composição em ácidos graxos e propriedades físicas distintas além de funcionalidade específica para usos diversos.

O monitoramento da hidrogenação e a caracterização final das gorduras são realizados pelo teor de gordura sólida, fornecendo um perfil de sólidos da gordura nas diferentes temperaturas, tornando-se possível obter informações sobre o comportamento de fusão e consistência do produto e permitindo especificar as funcionalidades das gorduras hidrogenadas (SCHMUTZLER, 1994).

As propriedades físicas desejáveis em determinada gordura (SFC, ponto de fusão, índice de iodo, teor de polinsaturados) são alcançadas através da formulação, por "blending", onde várias bases hidrogenadas e/ou óleos vegetais são misturados. O número e a complexidade das bases hidrogenadas utilizadas na formulação de uma gordura dependem do produto final. O conjunto de bases disponíveis varia entre as diferentes empresas como resultado de respostas práticas obtidas ao longo do tempo para se alcançar especificações de um novo produto (BLOCK, 1997).

2.4- ALTERNATIVAS INDUSTRIAIS PARA PRODUÇÃO DE GORDURAS COM MENORES TEORES DE ISÔMEROS TRANS.

A indústria de óleos vem desenvolvendo diferentes estratégias para reduzir o conteúdo de ácidos graxos trans em gorduras hidrogenadas, e dispõe-se atualmente de margarinas e outros produtos hidrogenados com baixos teores destes isômeros (VALEZUELA *et alii*, 1995).

A solução da redução de ingesta apontada por WILLET *et alii* (1993) é a utilização de margarinas mais cremosas tendo alta quantidade de cis, cis linoléico e baixo conteúdo de trans ou seja, gorduras vegetais menos hidrogenadas. Essa mudança nos USA já indicou uma redução do conteúdo de isômeros para 7-24% em margarinas e para 15% em gorduras comerciais (WILLET *et alii*, 1993).

Estes mesmos autores apontam ainda que a grande fonte de preocupação nos Estados Unidos é a indústria de distribuição por cadeia de alimentos prontos, mais conhecidas como "fast-food". Na última década estas indústrias fizeram a troca de gorduras animais (em média 3-5% trans) por gorduras vegetais hidrogenadas (em torno de 30% de trans), chegando a produtos finais como a batata frita com 24-35% de trans.

WILLET & ASCHERIO (1994), relataram que a maior limitação para o controle desse problema é a rotulagem, a qual deveria conter os teores de TFA incluindo os produtos da rede "fast-food". Margarinas e shortenings produzidos sem trans já são produtos disponíveis na Europa, mas ainda não são encontrados nos EUA e outros países. Segundo os mesmos autores, os caminhos para se evitar TFA se iniciam com uma mudança de hábitos alimentares e uma conscientização das indústrias alterando seus produtos de forma imperceptível ao consumidor.

Como perspectiva para o futuro, acredita-se na contínua redução do conteúdo de isômeros trans nos produtos industriais e no desenvolvimento e melhoria das técnicas instrumentais, para acompanhar com rapidez e precisão a evolução tecnológica.

A Tabela 5 apresenta as tecnologias para modificações das propriedades de óleos comestíveis já existentes no comércio mundial para evitar ou minimizar a formação de ácidos trans.

Tabela 5: Alternativas Tecnológicas para obtenção de gorduras sem isômeros trans.

Fracionamento

Interesterificação: - química
 - enzimática
 - dirigida

Hidrogenação total da gordura e posterior mistura com gorduras fluidas ou interesterificação com óleo

2.4.1- Fracionamento

O fracionamento é um processo físico. Consiste na separação das fases sólida e líquida dos óleos e gorduras. A fase sólida já existente naturalmente ou formada pela cristalização dos triacilgliceróis de ponto de fusão mais alto, sob condições de resfriamento e agitação controladas, são separadas por filtração. Os produtos obtidos são oleínas (frações líquidas) e estearinas (frações sólidas) (DEFFENSE, 1985).

Na indústria de alimentos, o processo é amplamente usado para produção de substitutos de manteiga de cacau ou gorduras especiais para confeitaria a partir de gorduras de coco, palmiste e palma (DEFFENSE, 1985). Porém, pelo menos no Brasil, ainda está muito distante de ser um processo de substituição à hidrogenação. O óleo mais estudado por fracionamento é o óleo de palma cujas frações já são disponíveis nos armazéns portuários do Brasil para aplicações diversas em indústrias de gorduras.

2.4.2- Interesterificação

A interesterificação é uma redistribuição dos ácidos graxos na molécula de triacilglicerol, podendo este fenômeno ocorrer aleatoriamente ou dirigido. O processo é catalítico (catalisador é o metóxido de sódio) envolvendo a quebra da ligação éster e simultaneamente a formação de outras. Ao contrário da hidrogenação, a interesterificação não altera a estabilidade do óleo, porém importantes alterações físico-químicas acontecem, como por exemplo mudanças nos pontos de fusão, cristalização e re-cristalização (SCREENIVASAN, 1978).

Por esse processo pode-se produzir margarinas e produtos similares isentos de isômeros trans. A interesterificação também é muito usada na obtenção de um tipo de gordura especial para confeitaria chamada "hard butter". Estas gorduras frequentemente são usadas em substitutos da manteiga de cacau, em coberturas de bolos e outras aplicações (HUSTEDT, 1976).

Existem três tipos de interesterificação (ERICKSON, 1995):

- *Interesterificação química* - A redistribuição dos ácidos graxos é aleatória, porém respeitando as leis da probabilidade. Esta reação ocorre em temperaturas acima do ponto de fusão da mistura

- *Interesterificação dirigida* - Acontece a baixas temperaturas, quando parte dos triacilgliceróis cristalizam. Na forma sólida estas moléculas não participam da reação, que continua somente na fase líquida.

- *Interesterificação com enzimas* - Geralmente usam-se lipases, que catalisam as alterações dos ácidos graxos somente nas posições externas da molécula de triacilglicerol, deixando assim, a posição 2 inalterada. A utilização mais comum deste processo é na área das gorduras quando se almeja produzir composições de triacilgliceróis similares às da manteiga de cacau.

2.4.3 – Processo Misto (Hidrogenação + Interesterificação).

Uma última tecnologia bastante difundida no meio industrial é o uso de hidrogenação total do óleo onde já não se encontram mais sítios de dupla ligações para darem margem à formação de isômeros trans.

Através do uso destes produtos como matérias-primas, faz-se a adição de óleo líquido (normalmente polinsaturado) e interesterifica-se as frações para melhoria de textura e polimorfismo. Desta maneira, a tecnologia não dispensa a hidrogenação mas, ao contrário, estimula o seu uso a níveis mais altos para levar à hidrogenação total do produto de partida.

2.5 – ÁCIDOS GRAXOS TRANS E SEUS EFEITOS À SAÚDE HUMANA

A atenção especial que é dedicada aos lipídeos se justifica pelas diversas funções biológicas no organismo, pois estes participam de forma determinante da estrutura de membranas, são ligantes dos receptores de superfície das células, são âncoras de proteínas associadas às membranas e, ainda, agrupam substâncias que

atuam como mediadoras das funções celulares (MANCINI & CHEMIN, 1996).

A média americana de consumo de ácidos graxos trans foi estimada na faixa de 6-8 g/por pessoa/por dia. Essa quantidade segundo GRUNDY (1984) corresponde a 3% do total de calorias ingeridas. Entretanto WILLET *et alii* (1993), quase 10 anos depois, apontaram um aumento estimado para 5-6% do total de ingesta nos USA. As questões levantadas são quanto a inocuidade desses compostos, o efeito sobre o corpo humano e as doenças desenvolvidas como consequência.

2.5.1 – Doenças Coronarianas.

A influência do consumo de gorduras parcialmente hidrogenadas e consequentemente ácidos graxos trans sobre o colesterol sérico tem recebido muita atenção por estar associado a doenças cardiovasculares (CHD) (GARY, 1991). Outro dado preocupante segundo WILLET *et alii* (1993) foi uma prévia pesquisa analítica em pessoas que haviam morrido de doenças esquêmicas encontrando-se uma quantidade de isômeros trans sempre maior que o teor encontrado em pessoas com outras causas de morte.

PRECHT & MOLKENTIN (1995), relataram que vários estudos mostram uma intensiva discussão sobre o efeito negativo de lipídeos no plasma, com o aumento do consumo de trans. Esses autores realçam que o Programa Nacional de Educação de Colesterol dos USA em 1988, correlacionou a concentração desses lipídeos no plasma com doenças cardiovasculares em muitos estudos.

Atualmente, discute-se muito o papel das lipoproteínas na saúde. Estas lipoproteínas são complexos agregados de proteína e lipídeos, solúveis no sangue. São transportadores de colesterol, ésteres de colesterol, fosfolipídeos, triacilgliceróis e outros lipídeos. As lipoproteínas são classificadas de acordo com suas densidades

(peso/volume). O aumento de interesse nos últimos anos explica-se pelas funções destas na fisiologia humana. Algumas lipoproteínas possuem funções especiais como a lipoproteína de baixa densidade (LDL), que distribui o colesterol para todas as células do corpo onde este é necessário. A função da lipoproteína de alta densidade (HDL), ainda é discutida, mas estudos mostraram seu envolvimento na prevenção de aterosclerose e doenças esquêmicas. Segundo BRISSON (1981) uma hipótese da sua função seria de transportar o colesterol das células, inclusive as células da parede arterial, e tecidos do corpo para o fígado onde seria transformado em ácidos biliares e eliminado via bili no intestino. Por essa razão HDL é chamado de "bom" colesterol.

GRUNDY (1984) apontou como preocupação do consumo de dietas com altos teores de ácidos graxos trans monoinsaturados o fato desses compostos terem um efeito global negativo no balanço LDL/HDL. Esses compostos aumentam o colesterol LDL e diminuem HDL. Assim sendo, como os saturados, os ácidos graxos trans causam um pequeno, mas significativo aumento nos triacilgliceróis do sangue quando comparados com o ácido oléico.

Alguns estudos em humanos compararam o conteúdo de ácidos graxos trans com ácidos graxos saturados, encontrando-se que ácido graxo trans em óleos vegetais parcialmente hidrogenados aumentam menos o colesterol que os ácidos graxos saturados (GARY, 1991).

2.5.2 – Outras doenças.

Fosfolipídeos e cerebrosídeos são encontrados em largas quantidades no cérebro. Os ácidos graxos trans contidos nesses compostos são influenciados pelo conteúdo encontrado na dieta. A concentração desses lipídeos no cérebro, todavia, são sempre menores que as frações lipídicas isoladas em outros órgãos. Entretanto a influência dos ácidos graxos trans nas funções cerebrais são desconhecidas (BRISSON, 1981).

É difícil até o presente esclarecer como os ácidos graxos *trans* podem estar associados com certos tipos de câncer. É sabido, todavia, que o consumo de óleos vegetais parcialmente hidrogenados causam um aumento dos ácidos graxos *trans* na fração lipídica do corpo. Também sabe-se que esses ácidos têm propriedades físico-químicas e bioquímicas diferente dos isômeros naturais *cis*. Assim, pode ser importante recordar que as composições das frações lipídicas das membranas celulares afetam a permeabilidade e a fluidez dessas membranas e pode-se suspeitar que a incorporação de ácidos graxos *trans* nos fosfolípidos afetam o funcionamento normal das membranas celulares e conseqüentemente o desenvolvimento e proliferação de certas células anormais. Contudo, essa explanação é apenas hipotética (BRISSON, 1981).

PRECHT & MOKKENTIN (1995), relataram um aumento de câncer de intestino em ratos com o aumento de ácidos graxos *trans* na dieta. Entretanto, em humanos essa incidência não é comprovada.

WAHLE & JAMES citado por MANCINI & CHEMIN (1996), descreveram que ácidos graxos *trans* estão relacionados com algumas alterações metabólicas que resultam na fragilidade dos eritrócitos, no inchaço das mitocôndrias e na alteração dos cardiomiócitos, as quais puderam ser observadas em ensaios biológicos com animais que consumiram dietas contendo ácidos graxos *trans*. A possível explicação segundo GURR (1992), é que estas alterações metabólicas possam ser atribuídas a mudanças físico-químicas das membranas celulares induzidas pelos isômeros *trans*.

2.4.4 – Efeito sobre os Ácidos Graxos Essenciais (EFA).

Os ácidos graxos linoléico e alfa linolênico são os ácidos graxos essenciais (EFA), que através de processos enzimáticos, com a participação de elongases e dessaturases, formam ácidos graxos com vinte átomos de carbono e três (dihomogamalinolênico n-6), quatro (araquidônico n-6) e cinco (eicosapentanoico n-3)

duplas ligações, respectivamente. Com ação de enzimas como as cicloxigenases e lipoxigenases formam os eicosanóides. Entre os eicosanóides encontramos as prostaglandinas, tromboxanas, prostaciclina, leucotrienos, lipoxinas e outros hidroxiácidos. Estas substâncias são moduladoras de muitas funções vitais participando de processos de secreção, digestivos, reprodutivos, imunológicos e circulatórios (MEAD *et alii*, 1986).

A deficiência de EFA principalmente resultante da falta do ácido linoléico, leva a sintomas relatados como comprometimento no crescimento, pele escamosa, perda de cabelo e outras mudanças histológicas (KOCHHAR & MATSUI, 1984).

É importante destacar que as substâncias originadas dos ácidos graxos essenciais, apresentam a estrutura na forma conformacional *cis*. Quando a configuração *trans* é utilizada no alongamento e sofre as transformações da via metabólica de síntese, este não possui as características de atividades fisiológicas de EFA, o que é natural na série isômera *cis* (BRISSON, 1981).

PRECHT & MOLKENTIN (1995) relataram que a ingestão de ácidos graxos *trans* causa um aumento da necessidade de EFA, ressaltando que o *trans* isômero do ácido linoléico não possui efeitos de EFA.

Um dos principais efeitos dos ácidos graxos *trans* no processo metabólico é a competição com os ácidos graxos essenciais. Quando os TFA estão presentes em elevadas concentrações, eles passam a ser substrato alternativo das dessaturases, resultando na formação de eicosanóides sem atividade biológica. Além disso eles podem também atuar como inibidores das dessaturases (MANCINI & CHEMIN, 1996). Ácidos graxos *trans* competem ainda no metabolismo com EFA inibindo sua incorporação na membrana de fosfolípídeo, resultando em deficiência de EFA (VALENZUELA *et alii*, 1995).

2.4.5 – Absorção de isômeros trans no corpo humano.

O tipo de gordura ingerida na dieta tem influência na composição do depósito lipídico do homem e dos animais não-ruminantes. Quando gorduras insaturadas são consumidas, o tecido adiposo deve conter alto teor de ácido graxo insaturado. Toda fração lipídica do corpo é reflexo da composição lipídica consumida. Essa relação com a saúde já é um fenômeno definido (BRISSON, 1981).

GURR (1992), relatou que não existem evidências de que a eficiência da digestão, absorção e subsequente oxidação dos ácidos graxos para fornecer energia, possa ser alterada pela presença de TFA. Porém a digestibilidade dos ácidos graxos trans depende do ponto de fusão individual.

Ácidos graxos trans não se acumulam somente em fosfolípidos da mitocôndria do músculo cardíaco, mas em tecidos adiposos e nas frações lipídicas por todo o corpo. Em biopsias do organismo humano foram encontrados cerca de 14% de ácidos trans no fígado e no tecido adiposo. Os ácidos encontrados no tecido adiposo são esterificados na forma de triacilglicerol. Nos outros tecidos como coração, fígado ou cérebro, os ácidos graxos trans são encontrados com maior frequência nos fosfolípidos (BRISSON, 1981). A Tabela 6 mostra a concentração máxima observada em vários tecidos e órgãos.

Tabela 6: Conteúdo de ácidos graxos *trans* em lipídeos do corpo humano após a ingestão de óleos vegetais parcialmente hidrogenados (valores máximos observados e expressos em termos de ácido eláídico [*trans* – C 18:1 Δ^9] porcentagem do total de ácidos graxos)

Fonte de Lipídeos	<i>trans</i> (%)
- Plasma Sanguíneo	
Lipídeos totais	18
Triacilgliceróis	15
Ésteres de Colesterol	16
Fosfolipídeos	23
- Lipoproteínas	
Ésteres de Colesterol	16
Triacilgliceróis	40
Fosfolipídeos	23
Ácido Graxos Livres	23
- Fígado	
Ésteres de Colesterol	22 – 34
Fosfolipídeos	16 – 22
- Tecido Adiposo	
Lipídeos totais	25 – 32*
- Músculo Cardíaco	
Lipídeos totais	17
Fosfolipídeos	16
- Mitochondria	
Lipídeos totais	13
Cardiolipídeos	22
Fosfatidiletanolamina	29
Fosfatidilcolina	22
- Embrião	
Lipídeos totais	3
- Cérebro	
Fosfolipídeos – Cerebrosídeos	10

*Em homens, 14% de ocorrência neste nível.

Fonte: BRISSON, 1981.

Até o momento as consequências da presença dos ácidos graxos *trans* para a saúde em várias concentrações do tecido não são bem conhecidas. Um fato: a dieta natural ou a ingestão de ácidos graxos *trans* tem marca influente nas gorduras depositadas nos tecidos e nos ácidos graxos específicos que compõem a fração lipídica do corpo (BRISSON, 1981).

2.5.5 – Efeitos Gerais.

EMKEN (1983) relatou que estudos conduzidos há 20-30 anos tendem a apresentar resultados apontando as gorduras vegetais parcialmente hidrogenadas produzindo efeitos adversos à saúde. Entretanto estudos publicados nos últimos 10 anos mostram tais efeitos à saúde em menor grau. Conclui-se que somente quando resultados de numerosos estudos bioquímicos e metabólicos com isômeros trans forem combinados com resultados de estudos com ácidos graxos cis na dieta, a humanidade terá linhas de diretrizes para saber o efeito dos ácidos graxos trans sobre a saúde.

A característica inerte em relação ao aspecto nutricional dos ácidos graxos trans tem sido cada vez mais discutida e apesar das controvérsias surgidas, seria recomendada uma discussão mais profunda. Várias alternativas têm sido propostas, como a formulação de gorduras hidrogenadas sem trans isômeros por mistura de gorduras completamente saturadas e óleos vegetais e gorduras plásticas produzidas por interesterificação e fracionamento (BARRERA-ARELLANO & BLOCK, 1993).

No futuro prescinde-se um maior número de pesquisas e publicações sobre estes compostos a nível tecnológico e nutricional, que nos levem a conclusões concretas sobre os efeitos da presença de ácidos graxos trans em alimentos.

Mais estudos devem ser realizados procurando elucidar os efeitos dos ácidos graxos trans sobre o metabolismo humano e animal, pois se de um lado tem-se tentado demonstrar a interrelação destes ácidos graxos com os problemas cardiovasculares, por outro, tem se verificando que o ácido graxo conjugado (CLA) que é uma mistura de isômeros geométricos e de posição do ácido linoléico, tem a propriedade de inibir parcialmente a carcinogênese de pele, do estômago e mamária. Entretanto não se tem a afirmação se somente em ácidos conjugados isso seria verdade (MANCINI & CHEMIN, 1996).

2.6 – MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISES DOS ÁCIDOS GRAXOS *TRANS*

As duplas ligações *trans* são termodinamicamente mais estáveis do que as *cis*, pois apresentam menor densidade eletrônica e também uma estereoquímica que não favorece algumas reações. Como consequência, os ácidos graxos *trans* são menos reativos que os ácidos graxos *cis* (ALLISON *et alii*, 1995 citado por MANCINI & CHEMIN, 1996).

No presente, os métodos analíticos mais comumente utilizados na detecção de ácidos graxos *trans* em gorduras hidrogenadas, margarinas e produtos similares são Cromatografia Gasosa e Espectrofotometria Infravermelho, havendo em ambas as técnicas aspectos positivos e negativos (FAVIER *et alii*, 1996).

2.6.1 – Cromatografia Gasosa.

Atualmente a quantificação de ácidos graxos não é basicamente a separação pelo tamanho da cadeia ou número de duplas ligações, mas tem-se a preocupação de separar diferentes isômeros geométricos e posicionais. Esse tipo de dado com a especificação detalhada da amostra já vem sendo utilizado em trabalhos com dietas controladas para determinados grupos da população. Entretanto essas especificações ainda não são requeridas pelas legislações de alimentos. A importância dessa identificação de isômeros *trans* é o apelo nutricional para ácidos graxos monoinsaturados e *cis-cis* polinsaturados (DUCHATEAUX *et alii*, 1996).

O interesse na quantificação de isômeros *trans* vem desde a década de 50. A primeira técnica cromatográfica de separação dos isômeros *trans* foi utilizando a camada delgada impregnada com nitrato de prata (TLC - AgNO₃). Essa técnica ainda hoje é utilizada em separações rápidas entre os isômeros *cis* e *trans* e é de muito uso como etapa preparativa de amostras para separação de algum isômero específico (PRECHT & MOLKENTIN, 1995).

Algumas fases para uso em cromatografia líquida de alta eficiência são hoje disponíveis impregnadas igualmente com AgNO_3 para quantificar isômeros trans (CHISTIE, 1982)

A grande vantagem da cromatografia gasosa é a resposta na composição em ácidos graxos, sendo esta a única técnica capaz de identificar e quantificar isômeros individuais de ácidos graxos.

O método oficial da AOCS por cromatografia em coluna capilar, utiliza coluna com fase estacionária muito polar com alta substituição por cianopropil. O método prescreve a coluna SP 2340 com fase variando entre 75% - 78% de substituição. Entretanto, essa limitação do método dificulta a otimização na quantificação de alguns isômeros como por exemplo os isômeros do C 18 com problemas de sobreposição (DUCHATEAUX *et alii*, 1996, LANZA & SLOVER, 1981).

O problema dessa técnica está na complexidade dos isômeros presentes nos óleos vegetais parcialmente hidrogenados (na maioria monoenóicos cis e trans) dificultando a separação. Alguns fatores também podem interferir, como o grau de hidrogenação da amostra, o teor de trans e a quantidade de amostra aplicada no cromatógrafo levando a problemas de sobreposição de picos e por consequência obtenção de valores errôneos dos teores de trans e cis (RATNAYAKE, 1995).

A maior atenção é dada aos isômeros do C 18:1 sendo esse o principal grupo presente em margarinas e hidrogenados. Os isômeros do C 18:2 também estão sempre presentes em hidrogenados mas em níveis menores. Algumas margarinas contêm em média 5-6% do C 18:2t. Os isômeros do C 18:3 estão presentes em quantidades muito pequenas chegando em alguns produtos aparecer como traços (RATNAYAKE *et alii*, 1990). Isto se deve à seletividade dos catalisadores industriais que hidrogenam preferencialmente o C 18:3.

RATNAYAKE & BEARE-ROGERS (1990) confirmam o problema de separação dos monômeros do C 18:1 e acrescentam a grande dificuldade também com os isômeros do C 18:3 que formam uma mistura geométrica do C 18:3 Δ 9,12,15(cis e trans) podendo coeluir com o α -linolênico (cis, cis, cis). Esse problema entretanto não é preocupante uma vez que em gorduras hidrogenadas e composições oleosas para produção de margarinas esses isômeros estão presentes em quantidades muito pequenas.

Visando uma melhor separação dos picos e conseqüentemente melhores resultados, DUCHATEAUX *et alii* (1996) pesquisou a variação do método oficial com diferentes colunas e em diferentes temperaturas, mostrando o bom desempenho da coluna CP-Sil 88 (100% cianopropilpolisiloxano) em condições isotérmicas de análise. Outras fases estacionárias hoje utilizadas na quantificação do trans são a Silar 10C, Silar 9CP, SP 2340, OV 275 e a CPSil 88, todas com as mesmas características de polaridade e boa resistência a temperatura.

WOLFF & BAYARD (1995) apontam como uma solução para melhorar a separação na área do 18:1 o uso de colunas maiores como por exemplo 100 metros de comprimento. Esses autores pesquisaram a CP-Sil 88 de 100 metros com condições isotérmicas de 160°C melhorando quase que completamente a separação. Mas por outro lado o tempo de análise elevou-se para 1,3 horas somente para início de eluição dos picos de 18:1. Industrialmente esta solução não é bem vinda em rotina, pois limita a agilidade de tomada de decisões.

2.6.2 – Espectrofotometria Infravermelho - IR.

Antes do advento de colunas com fases estacionárias especiais para quantificação de isômeros trans individuais, a técnica de espectrofotometria infravermelho já se disponibilizava na quantificação de isômeros trans totais,

principalmente após a década de 50 com surgimento de gorduras hidrogenadas substituindo gorduras animais.

O uso de espectrofotometria infravermelho - transformada de Fourier na década de 80, pela sua maior sensibilidade de detecção, teve ampla aplicação na quantificação de isômeros trans, principalmente com o surgimento de catalisadores específicos na hidrogenação destinados para obtenção de produtos com valores reduzidos de isômeros trans.

A radiação infravermelha corresponde à parte do espectro eletromagnético situada na faixa de 0,78 a 1000 μm entre as regiões do visível e das microondas. O espectro infravermelho é dividido em três sub-regiões: I.R. próximo, médio (chamado fundamental) e longínquo. A maioria dos dados analíticos encontra-se na faixa do I.R. médio correspondendo à região compreendida entre 2,5 a 25 μm (400 a 4000 cm^{-1}) (SILVERSTEIN *et alii*, 1981).

Uma das formas convencionais para se quantificar a formação de isômeros trans em gorduras hidrogenadas é a utilização da Espectrofotometria Infravermelho. A base para a quantificação de trans por IR origina-se na característica da deformação não plana da banda C-H onde a configuração isolada trans absorver exclusivamente em 966 cm^{-1} . Essa é uma técnica rápida de quantificação dos isômeros monoenoicos e dienóicos dos ácidos graxos. A resposta é dada em trans isômeros totais (IUPAC, 1989).

A determinação apresenta algumas limitações como, menor precisão nos resultados quando a quantificação é utilizada para amostras com teores abaixo de 15% e a limitação das informações uma vez que os isômeros trans calculados não são atribuídos especificamente ao tipo do ácido graxo presente (RATNAYAKE, 1995).

A interferência de acilgliceróis é inerente à medida direta dos ácidos graxos trans para presença inferiores a 15% em amostras de gordura e similares, por causa da banda larga de absorção na região da deformação não plana do C-H trans. Para contornar essa desvantagem, normalmente se esterifica o material com baixos teores de trans. Porém esses ésteres metílicos produzem valores de isômeros trans que são de 1,5-3% menores (ULBERTH & HAIDER, 1992).

Um outro problema está nas duplas trans conjugadas que absorvem muito próximo das ligações trans isoladas e podem interferir na medida do trans, sendo também um problema em amostra de baixo teor.

Os problemas operacionais merecem destaque, como necessidade de dissolução quantitativa da amostra em dissulfeto de carbono, solvente volátil e muito tóxico e de odor fétido, além da operação com celas de cloreto de sódio apresentando alta higroscopicidade (ULBERTH & HAIDER, 1992).

Apesar dos inconvenientes, a espectrofotometria de infravermelho ainda pode ser apontada como uma excelente ferramenta para a rápida determinação de ácidos graxos trans totais em gorduras e similares, sendo de calibração muito boa, uma vez que utiliza-se metil elaidato como padrão, apresentando porém como maior limitação a quantificação para baixos teores de trans (ALI *et alii*, 1996).

2.6.3 – IR - Card.

Vários métodos alternativos (ALI *et alii*, 1996; VOORT *et alii*, 1995) para determinação de isômeros trans têm sido propostos para análises mais simplificadas e com maior precisão, onde se procura eliminar os problemas presentes no método convencional. Essa busca por técnicas novas e a redução de complexidade é sempre o desejo da área analítica, em que se almeja o crescente desenvolvimento paralelo às

inovações industriais.

Objetivando minimizar o tempo de análise e reduzir seus inconvenientes, foi apresentado recentemente à comunidade científica uma técnica alternativa de trabalho utilizando o IR, eliminando-se a preparação da amostra. Essa técnica faz uso dos “IR-Cards”, cuja aplicação das amostras é direta sobre o cartão (Manual Disponible IR CARD 3M, 1997).

Os “IR cards” são destinados à análises quantitativas e qualitativas no infravermelho em faixa espectral entre 4000 a 200 cm^{-1} . Os cartões possuem uma base cartonada de 5 cm x 10 cm com uma abertura circular de 19 mm de diâmetro, sendo que nessa área localiza-se o filme poroso de polietileno. Nessa região, aplica-se a amostra e segue-se a leitura usual no IR. A Figura 3 ilustra o IR-Card.

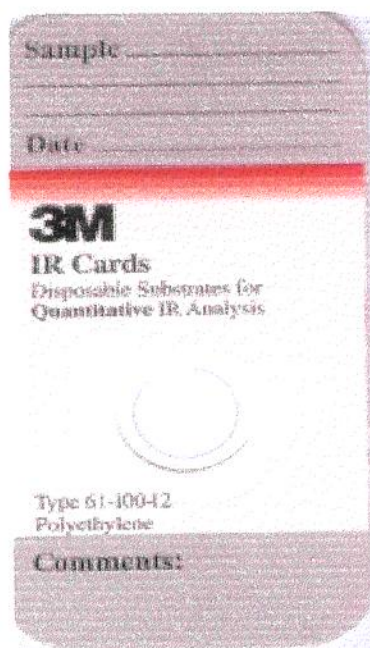


Figura 3: Modelo de 3M - IR Card - Análise quantitativa.

O uso desses cartões pode reduzir a complexidade das análises, tendo-se um ganho de tempo, redução de gastos, redução do uso e exposição a solventes, simplifica o preparo da amostra, gerando menos resíduos. Todos os problemas associados com as células líquidas são eliminados com esta técnica.

O Grupo da Universidade de Mc Gill em 1997 pesquisou alguns componentes de margarinas fazendo uso dos IR-cards e apontou os cartões como sendo de alto potencial, com resultados rápidos, usando muita pouca amostra e sem nenhuma preparação prévia. Segundo estes usuários, eles são muito úteis no monitoramento do processo de óleos hidrogenados e na avaliação do estado de oxidação durante a operação de fritura.

2.6.4 – Espectroscopia Fotopirelétrica (Método Fototérmico).

Os materiais pirelétricos foram descobertos logo após a 1ª guerra mundial, sendo sugerido seu uso como detectores de radiação infravermelha. O efeito pirelétrico se deve à mudança de temperatura. Esses materiais apresentam características desejáveis para o desempenho como sensor sendo elas:

- 2 Alto coeficiente pirelétrico – para gerar maior quantidade de carga possível para um incremento de temperatura.
- 2 Baixa condutividade elétrica – para evitar perdas das cargas induzidas.
- 2 Baixa constante dielétrica – para que as cargas induzidas sejam convertidas em maiores valores de tensão.
- 2 Alta temperatura T_c (temperatura crítica – temperatura que controla as propriedades ferroelétricas do material).

Alguns exemplos de materiais pirelétricos são: polivinilidieno de flúor II (PVDF), LiTaO_3 , BaTiO_3 , titânio ziconato de chumbo (PZT), PbTiO_3 , etc.

Uma representação teórica da espectroscopia pirelétrica é o modelo de MANDELIS & ZVER ilustrando a geometria unidimensional do sistema fotopirelétrico. O método fototérmico faz uso da luz pulsada incidindo sobre a amostra que modifica seu comportamento molecular e deste modo cada componente estrutural dessa amostra responderá em diferentes comprimentos de onda. Assim sendo, o detector pirelétrico registrará o comportamento espectral da amostra frente as variações dos comprimentos de onda. As respostas são obtidas em forma de gráfico de amplitude do sinal em função do comprimento de onda, com a interpretação semelhante a qualquer outra técnica instrumental. Como instrumento de detecção pode-se ter o sensor pirelétrico ou uma variação fotoacústica seguindo o mesmo princípio fototérmico. O modelo é mostrado na Figura 4.

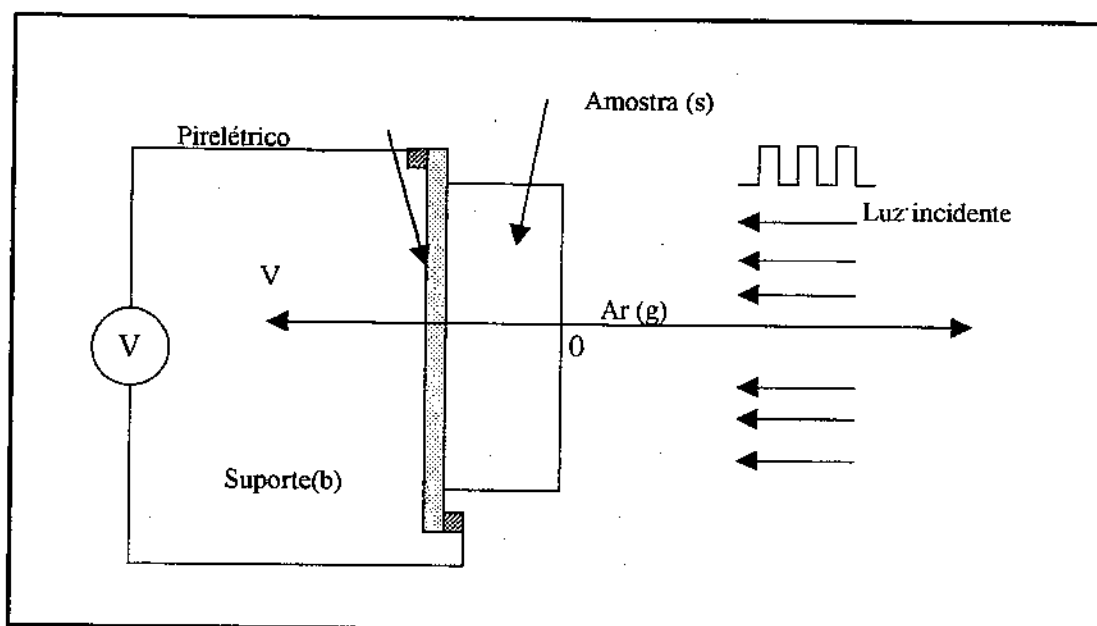


Figura 4: Modelo Geométrico unidimensional do sistema Fotopirelétrico.

Essa técnica possui aplicações em análises térmicas ou espectroscópicas e pode ser utilizada no estudo de superfícies, propriedades térmicas, perfil de profundidade, transição de fase, reflectividade e espectro de coeficiente de absorção óptica. As amostras de trabalho podem ser sólidas, líquidas, pastosas e gasosas, opacas ou transparentes.

DARDALAT et alii (1995) relataram que o detector pirelétrico pode registrar variações de temperatura na amostra de menos de $1\mu^{\circ}\text{C}$ em análises de alimentos.

FAVIER et alii (1996) utilizaram essa técnica na determinação de isômeros trans em amostras de margarina, com detector fotoacústico, obtendo valores satisfatórios na faixa de 2-60%. A quantificação dos ácidos graxos trans pelos mesmos autores deu-se na faixa média do infravermelho com absorção a 966cm^{-1} observando-se boa repetibilidade e reprodutibilidade do método.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - MATERIAL

3.1.1 - Matéria-prima

Na elaboração deste trabalho foram utilizadas as seguintes matérias-primas:

- i) Três padrões AOCS certificados para Cromatografia Gasosa e Infravermelho com teores de ácidos graxos trans baixo, médio e alto (Tabelas 7,8).

Tabela 7: Teores certificados trans totais para CG e IR.

Padrões	CG %(m/m)	IR*
AOCS 1	29,123810 ± 2,5669883	31,377778 ± 1,493969
AOCS 3	9,258140 ± 1,121486	10,900000 ± 1,240967
AOCS 7	20,457073 ± 2,623080	22,090000 ± 1,2119699

Estudo interlaboratorial AOCS (Anexo I)

* - % em termos de metil elaidato.

Tabela 8: Teores certificados em ácidos graxos para CG (% m/m).

Padrões	C 18:1 Trans	C 18:2 Trans	C 18:3 trans
AOCS 1	21,835714 ± 2,655764	6,835714 ± 0,677809	0,171429 ± 0,145310
AOCS 3	6,098605 ± 0,697101	2,753810 ± 0,434864	0,310488 ± 0,206784
AOCS 7	15,617073 ± 2,007723	4,644324 ± 0,411532	0,132750 ± 0,124571

Estudo interlaboratorial AOCS (Anexo I)

ii) Gorduras técnicas comerciais parcialmente hidrogenadas ou "shortening", para usos específicos fornecidas pelas Indústrias "MAEDA", "REFINO DE ÓLEOS BRASIL" e "CARGILL", totalizando 34 amostras. Todas representam amostras de linha, comercialmente disponíveis para Indústrias Brasileiras de Alimentos. As aplicações das gorduras industriais, segundo os fabricantes, seguem na Tabela 9.

Tabela 9: Aplicações comerciais das gorduras hidrogenadas fornecidas.

Amostras	Aplicações
M 1A	Substituto para chocolate *
M 2B	Fritura
M 3C	Sopas e caldos
M 4D	Óleo de algodão
M 5E	Substituto para chocolate
R 01	Gordura de uso geral
R 02	Spray para biscoito e fritura
R 03	Blend para margarina
R 04	Blend para margarina
R 05	Blend para margarina
R 06	Base estoque para blends
R 07	Sorvete
R 08	Creme para recheio de biscoito
R 09	Base para estoque para blends
R 10	Sorvete
R 11	Sorvete
R 12	Recheio para biscoito, uso geral
R 13	Substituto de manteiga de cacau
C 01	Gordura de uso geral
C 02	Fritura
C 03	Gordura para panificação
C 04	Gordura de uso geral
C 05	Fritura
C 06	Glacê
C 07	Gordura para cremes
C 08	Gordura de uso geral
C 09	Glacê
C 10	Substituto para chocolate
C 11	Gordura de uso geral
C 12	Gordura de uso geral
C 13	Gordura para panificação
C 14	Gordura de uso geral
C 15	Gordura de uso geral
C 16	Gordura de uso geral

Fonte: Indústrias fornecedoras das gorduras.

* - Amostra hidrogenada com catalisador contaminado por enxofre intencionalmente pelo fabricante.

iii) Padrões cromatográficos NUCHECK - Prep, Inc., Elysian, MN.

iv) Azeite de oliva extra-virgem, marca CARBONELL, Espanha, como amostra controle zero-trans.

3.1.2 - Equipamentos

Utilizou-se os seguintes equipamentos no decorrer do trabalho:

i) Cromatógrafo gasoso: marca Perkin Elmer, modelo Sigma 3B, detetor FID, acoplado a integrador Perkin Elmer LCI – 100.

ii) Cromatógrafo gasoso: marca Hewlett Packard, series II 5890, detetor FID, acoplado a integrador Hewlett Packard, HP 3396A.

iii) Espectrofotômetro Infravermelho com Transformada de Fourier: BOMEM - FTIR, Hartman & Braun, modelo B-100, MB series.

iv) Cromatógrafo gasoso PHILIPS PYE UNICAM PU 4550, detetor FID acoplado ao software Borwin Chromatography.

v) Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Brüker, modelo minispec pc 120.

vi) Protótipo de equipamento Fototérmico (Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear – Instituto de Física – UNICAMP).

vii) Banhos maria: digital mgw Lauda, modelos RC 20/ RC 6 com precisão de 0,1°C.

3.1.3 - Reagentes

Foram utilizados reagentes de grau P.A., de acordo com as especificações dos métodos analíticos.

3.1.4 - Outros materiais

3M IR – Cards - Estes cartões foram doados pela 3M do Brasil, em disponibilidade para testes.

3.2 – PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Óleos e Gorduras da FEA – UNICAMP, Campinas, S.P.; tendo como colaboradores:

- Laboratório de Lipídeos do Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, S.P.;
- Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, Instituto de Física - UNICAMP, Campinas, S.P.;
- Laboratório de Infravermelho do Instituto de Química -UNICAMP ,Campinas, S.P.
- Laboratório de Óleos Vegetais - EMBRAPA - CTAA , Rio de Janeiro,R.J.

Sendo a proposta deste trabalho de aplicação prática, o objetivo foi apresentar uma contribuição ao estudo de técnicas instrumentais de quantificação de isômeros geométricos trans em amostras de gorduras hidrogenadas e similares para aplicações industriais. Foi dado ênfase na aplicação de metodologias alternativas utilizando-se técnicas convencionais e modernas, almejando melhoria quantitativa e rapidez nos resultados.

3.2.1 -Amostragem

O primeiro lote de amostras foi constituído de 34 gorduras comerciais hidrogenadas, algumas muito semelhantes. A triagem inicial foi realizada através de comparação das curvas de sólidos (RMN), ponto de fusão e composição em ácidos graxos por CG coluna empacotada; tendo como objetivo eliminar amostras de semelhante perfil térmico e composição graxa. Definiu-se um conjunto de 28 amostras de trabalho composto por gorduras com características bem distintas entre si.

3.2.2 - Preparação das Amostras

As amostras foram fundidas, homogeneizadas e separadas em frascos distintos para cada análise, evitando o aquecimento contínuo e possível isomerização dos ácidos graxos.

As amostras submetidas à cromatografia gasosa (para todos os teores) e infravermelho (somente para teores abaixo de 15%) foram esterificadas segundo HARTMAN & LAGO (1973).

Antes da escolha do método de esterificação foi preciso verificar a inocuidade da metodologia a ser adotada frente aos ácidos graxos pois poderia-se gerar trans isômeros durante as etapas de esterificação.

O estudo de isomerização foi realizado com os padrões certificados AOCS e com azeite de oliva "extra virgem". Este foi escolhido por não possuir isômeros trans em sua composição, sendo obtido por prensagem a frio, técnica em que se tem ausência de alteração geométrica na estrutura de seus ácidos graxos. Qualquer possível formação desses isômeros neste padrão seria fruto do processo de derivação.

3.3 - MÉTODOS ANALÍTICOS

Os seguintes métodos analíticos, sem modificações foram utilizados:

3.3.1 - Conteúdo de gordura sólida (SFC): segundo técnica de RMN, método AOCS Cd 16-81 (1993). Método serial utilizando-se como temperaturas de leitura: 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50°C.

3.3.2 – Preparação de ésteres metílicos. Os ésteres metílicos foram obtidos segundo HARTMAN & LAGO (1973) adaptado por MAIA (1992).

3.3.3 - Ponto de fusão. A determinação dessa constante foi estimada a 5% na curva de sólidos totais obtida por SFC, segundo TIMMS (1985).

Como a proposta deste trabalho envolve avaliação metodológica, serão discutidos a seguir as técnicas empregadas, e suas respectivas adaptações:

3.3.4 - Composição em ácidos graxos. A cromatografia gasosa dos ésteres metílicos dos ácidos graxos foi realizada em cromatógrafo gasoso Perkin Elmer Sigma 3B com detector de ionização de chama. Coluna: 4m de comprimento, 1/8" de diâmetro, empacotada com 10% SILAR 10C. Temperatura: coluna 175°C, injetor e detector 225°C. Fluxo de nitrogênio: 25mL/min. A identificação dos ésteres de ácidos graxos foi realizada por comparação de tempos de retenção relativos com padrões de ésteres metílicos e quantificação por normalização de áreas a 100%.

3.3.5 - Quantificação de ácidos graxos trans por Cromatografia Gasosa método AOCS. Utilizando-se os ésteres metílicos seguiu-se o método AOCS Ce 1c-89.

A quantificação foi feita com coluna de alta polaridade de 78% de cianopropilmetilsiloxano, marca QUADREX (1999), nome comercial de SP 2340 com 60 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e espessura do filme de 0,25 μm . A temperatura da coluna inicial foi de 150°C com passo de 1,3°C por minuto até 200°C permanecendo por 10 minutos. A temperatura do injetor foi de 210°C e fez-se a modificação na temperatura do detetor FID de 210°C (sugerida no método) para 280°C obtendo-se melhor resultado. A razão de split foi de 1:100, sendo utilizado hidrogênio como gás de arraste. A identificação dos ácidos graxos foi feita igualmente pelos tempos de retenção relativos e normalização de áreas.

Um estudo com essa coluna em condições isotérmicas de 170°C e 192°C estudadas por DUCHATEAUX (1996) foram testadas para os padrões de trans. Observou-se que a eluição de todos os picos foi muito rápida, porém com a perda de eficiência dos picos de trans. A 192°C teve-se inclusive o comprometimento de ácidos graxos de cadeias menores e igual perda de isômeros trans.

3.3.6 - Quantificação de ácidos graxos trans por Cromatografia Gasosa método alternativo. Como proposta alternativa de análise utilizou-se o método descrito por DUCHATEAUX (1996) com a coluna 100% cianopropilpolysiloxano nome comercial CP-Sil 88, marca CHROMPACK (1997), otimizando-se as condições de trabalho com as amostras padrões, chegando-se na melhor proposta para a boa eficiência de separação dos picos de trans isômeros os seguintes parâmetros:

- Coluna CP-Sil 88 - CHROMPACK, 50 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,2 μm de espessura do filme:
- Temperatura do injetor: 270°C

- Temperatura do detector: 300°C
- Temperatura da coluna: 180°C
- Fluxo de gás de arraste (hidrogênio): 5 mL / min
- Razão de split 1:100

A identificação dos ácidos graxos foi realizada igualmente por comparação dos tempos de retenção relativos através de padrões dos ésteres metílicos e a quantificação por normalização de áreas.

Teste preliminares foram realizados com temperaturas programadas iniciando em 150°C, $\Delta t = 0,4^\circ\text{C}/\text{min}$ até 160°C permanecendo por 2 min., e 160°C $\Delta t = 5^\circ\text{C}/\text{min}$ até 200°C permanecendo por 10 min. Essa programação foi sugerida segundo técnicos da área de pesquisa da Indústria Gessy Lever. No entanto não verificamos boa separação e o tempo de corrida tornava-se mais longo.

3.3.7 - Quantificação de ácidos graxos trans por Espectrofotometria Infravermelho (IR) método AOCS. Determinou-se segundo método AOCS Cd 14-95. Utilizando-se como referência o desvio padrão tabelado segundo AOCS Procedure M-1-92 (1993).

Para a quantificação dos ácidos graxos trans por IR, dilui-se quantitativamente as gorduras em dissulfeto de carbono e o ajuste da massa foi realizado mantendo-se a absorbância na faixa de linearidade da Lei de Lambert-Beer entre 0,2 - 0,7A.

O cálculo do pico limitou-se ao intervalo de 945 - 990 cm^{-1} recomendado pelo método ficando o máximo de absorção entre 966-967 cm^{-1} . As amostras foram quantificadas em triplicata; o padrão utilizado foi o metil elaidato (99,9%) e os resultados foram obtidos de forma direta pela Lei de Lambert-Beer ($A = abc$). Os dados representam os ácidos graxos trans totais.

3.3.8 - Quantificação de ácidos graxos trans por Espectrofotometria Infravermelho método do IR-Cards. A determinação também foi feita com 3 repetições para cada amostra sendo a metodologia desenvolvida utilizando os cartões de infravermelho da 3M.

Por se tratar de uma técnica nova, foi preciso estabelecer previamente a metodologia de trabalho e verificar a sua validade na quantificação de trans isômeros.

O grupo Mc Gill IR apresentou junto ao 89th AOCS Meeting, Seattle, Washington, 1997, um trabalho promissor utilizando esses cartões de polietileno na quantificação de TFA. Baseando-se nessa pesquisa, definiu-se a técnica.

- Metodologia estabelecida na quantificação de TFA utilizando-se IR-Cards.

Procedimento:

1. As amostras foram completamente fundidas e com a pipeta automática aplicou-se 10µL sobre o cartão apoiado em uma base demarcada (essa base foi montada com isopor e desenhada para a localização do cartão) de modo que todos os cartões recebessem a gordura igualmente formando um filme homogêneo e transparente. Cada amostra foi aplicada em três cartões e após cada aplicação eliminou-se o excesso de gordura da superfície com papel absorvente ultra-fino.
2. Após a aplicação das amostras não se pode mais tocar no polietileno e os cartões devem ser guardados em dessecador até a leitura, tomando-se o cuidado de não tocar na aplicação.
3. As leituras foram feitas imediatamente após aplicação e um cartão sem amostra foi utilizado como branco para "zerar" o equipamento previamente.

4. As gorduras certificadas AOCS foram usadas como padrão e analisadas de forma análoga às amostras, sempre em triplicata.

Cálculos:

Com os resultados dos padrões montou-se uma curva de calibração (Absorbância X Concentração) onde as amostras foram graficadas, encontrando-se os valores de trans isômeros nas gorduras desejadas.

3.3.9 - Quantificação de ácidos graxos trans pela técnica de espectroscopia Fotopirelétrica.

As três amostras padrões foram submetidas a essa técnica realizada junto ao Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear do Instituto de Física da UNICAMP, sob orientação do Prof. Dr. Edson Correa.

As amostras eram colocadas no detetor pirelétrico fazendo-se incidir sobre elas uma luz modulada na região do infravermelho próximo, o comportamento dessas amostras frente esse feixe de luz em diferentes comprimentos de onda foram registradas em software (desenvolvido no instituto) e o gráfico de amplitude do sinal por comprimento de onda era obtido em seguida.

Essa nova técnica não foi utilizada no Brasil mas em função de resultados já publicados por FAVIER *et alii*, 1996, foi apontada como uma técnica alternativa promissora para quantificação de TFA, apresentaram desempenho interessante e revelando um novo campo de pesquisa na área de alimentos.

3.4 – AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

Os dados foram avaliados por análise estatística com o parâmetro do Teste t, comparando-se dados pareados independentes. Assim analisou-se as duas colunas cromatográficas e a variação metodológica da cela com o cartão de infravermelho. Utilizou-se essa comparação também para verificar a correlação entre as técnica de cromatografia e infravermelho.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA - PRIMA

Para as diferentes aplicações de gorduras na Indústria alimentícia um parâmetro importante de avaliação é a curva de sólidos, na qual se estabelece o comportamento de derretimento da gordura e o teor de sólidos presente a diversas temperaturas, principalmente na temperatura do corpo humano quando esta participa diretamente de um produto final e não apenas como ingrediente.

As Tabelas 10, 11, 12 e 13 apresentam os resultados do conteúdo de gordura sólida (SFC) e ponto de fusão das gorduras inicialmente recebidas.

Tabela 10: Conteúdo de Gordura Sólida (SFC) - Amostras CARGILL.

Amostras	10°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	P.F. °C
C 01	51,06	31,19	25,67	18,16	9,53	3,69	1,37	0,05	38,9
C 02	14,06	3,57	1,11	0,18	0	-	-	-	18,6
C 03	5,70	3,31	3,21	2,12	1,69	0,83	0,33	0	12,9
C 04	35,88	16,45	11,84	6,28	1,97	0	-	-	31,5
C 05	22,04	5,67	2,07	0,21	0	-	-	-	20,9
C 06	41,89	19,46	13,53	6,54	1,56	0,06	0	-	31,6
C 07	46,55	32,17	29,31	26,07	17,90	10,02	4,85	0,32	44,9
C 08	67,76	48,40	42,23	30,44	16,29	4,87	0	-	39,9
C 09	37,37	17,23	11,63	5,63	1,66	0	-	-	30,8
C 10	15,35	6,86	4,99	2,43	0,79	0,08	0	-	24,9
C 11	37,76	19,58	14,53	7,86	2,57	0	-	-	32,7
C 12	52,13	30,67	24,01	16,97	9,04	3,38	1,60	0,21	38,6
C 13	6,67	4,12	3,89	2,84	1,75	1,00	0,38	0,09	16,6
C 14	49,18	29,37	24,30	15,97	8,00	2,71	0,27	0,06	37,8
C 15	51,74	30,73	24,98	17,86	9,97	4,01	1,36	0,10	39,2
C 16	35,27	17,80	13,56	7,84	3,33	0,50	0,02	0	33,2

Tabela 11: Conteúdo de Gordura Sólida (SFC) - Amostras AOCS de referência.

Amostras	10°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	55°C	60°C	P.F. °C
AOCS 1	33,66	14,16	6,94	2,44	0,07	0	-	-	-	-	27,2
AOCS 3	2,09	0,34	0	-	-	-	-	-	-	-	-
AOCS 7	66,82	56,24	49,36	43,28	36,94	31,29	24,02	16,58	8,17	0,07	56,9

Tabela 12: Conteúdo de Gordura Sólida (SFC) - Amostras MAEDA.

Amostras	10°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	P.F. °C
M1A	78,08	60,79	54,36	38,08	17,83	1,65	0	-	39,0
M2B	41,64	20,74	15,65	8,20	2,57	0,06	0	-	32,8
M3C	81,54	68,05	64,30	59,77	46,68	24,59	8,96	0,17	47,3
M4D	0,77	0,55	0,25	0	-	-	-	-	-
M5E	69,34	49,95	44,08	31,52	16,39	3,71	0	-	39,5

Tabela 13: Conteúdo de Gordura Sólida (SFC) - Amostras REFINO DE ÓLEOS BRASIL.

Amostras	10°C	20°C	25°C	30°C	35°C	40°C	45°C	50°C	P.F. °C
R 01	11,15	2,48	0,41	0,16	0,12	0	-	-	17,1
R 02	22,82	8,84	5,47	1,62	0	-	-	-	25,6
R 03	18,40	10,31	9,06	6,68	3,91	0,78	0,20	0	33,0
R 04	24,33	11,95	8,39	3,64	0,64	0	-	-	28,6
R 05	21,20	10,96	8,02	5,09	2,28	0,20	0	-	30,2
R 06	28,02	9,44	4,11	0,78	0,13	0,20	0,19	0	24,5
R 07	48,65	22,43	13,41	4,03	0,18	0,06	0	-	29,8
R 08	71,84	51,27	44,16	30,36	13,02	2,61	0	-	38,9
R 09	80,91	66,12	61,97	58,91	47,27	29,09	13,71	0,73	48,4
R 10	68,24	25,96	4,93	0	-	-	-	-	24,9
R 11	48,17	23,36	15,58	6,54	1,00	0	-	-	31,4
R 12	50,88	26,76	19,75	11,23	3,98	0,27	0	-	34,3
R 13	78,20	60,95	55,07	44,38	23,30	3,79	0,28	0	39,7

A figura 5 ilustra, a título de representação, as curvas de sólidos de duas amostras C 01 e R 05, caracterizando o comportamento térmico das mesmas. Através dessas curvas foi possível acompanhar o perfil térmico das gorduras e se obter seus pontos de fusão. A 5% de sólidos não existe a percepção sensorial e padroniza-se como a temperatura de fusão (TIMMS, 1985).

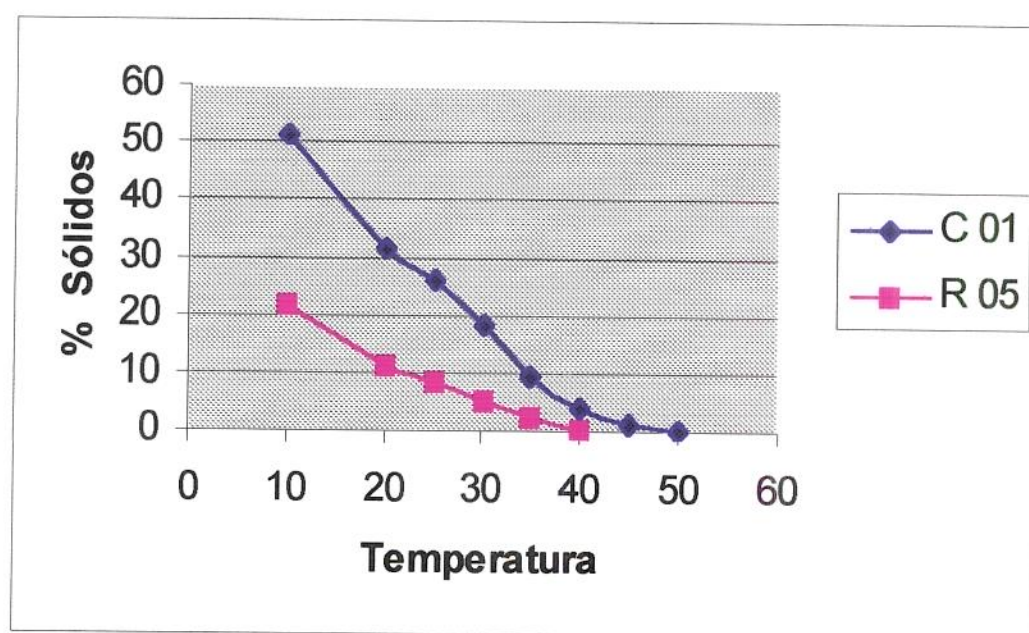


FIGURA 4: Curva de Sólidos das amostras C 01 e R 05.

As Tabelas 14 e 15 apresentam as composições dos ácidos graxos obtidos em coluna empacotada 10% Silar 10C das mesmas gorduras.

Tabela 14: Composição em ácidos graxos coluna empacotada 10% SILAR 10C (%m/m).

Amostras	C12:0	C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C20:0	C22:0	P.T.	N.I.	SAT.	INS.
C 01	-	0,10	11,31	0,07	13,42	66,66	6,06	-	0,25	0,07	2,02	0,04	27,17	72,79
C 02	-	0,20	13,12	0,06	5,79	51,43	27,69	1,38	0,31	-	-	0,03	19,42	80,56
C 03	-	0,10	11,46	-	6,34	39,83	38,72	3,21	0,34	-	-	-	18,24	81,76
C 04	0,06	0,13	12,56	-	9,29	66,01	10,23	-	-	-	1,73	-	23,77	76,24
C 05	-	0,09	11,56	0,12	6,48	60,13	18,74	0,53	0,24	0,30	1,60	0,20	20,27	79,52
C 06	0,08	0,13	12,46	-	9,73	67,60	7,40	-	0,09	-	2,50	-	24,99	75,00
C 07	-	0,52	18,09	0,23	16,10	48,58	15,25	0,25	0,05	-	0,91	-	35,67	64,31
C 08	0,05	0,11	11,99	0,04	16,22	68,60	1,53	-	0,19	-	1,28	-	29,84	70,17
C 09	0,05	0,26	14,14	-	7,36	64,82	10,83	0,07	0,18	-	2,20	0,08	24,19	75,72
C 10	-	0,11	11,20	0,05	7,14	45,94	31,90	2,63	0,39	0,25	0,21	0,19	19,30	80,52
C 11	-	0,09	11,04	-	9,35	66,15	10,97	0,20	0,27	0,08	1,83	-	22,66	77,32
C 12	0,05	0,12	12,12	0,07	12,66	67,36	5,41	-	0,18	-	1,93	0,09	27,06	72,84
C 13	-	0,10	11,46	0,04	5,98	38,36	39,53	3,30	0,29	0,28	0,31	0,35	18,42	81,23
C 14	-	0,12	12,08	-	9,94	68,40	6,76	-	0,37	-	2,33	-	24,84	75,16
C 15	0,05	0,12	12,17	0,07	14,18	65,72	5,07	-	0,35	0,27	2,00	-	29,14	70,86
C 16	0,06	0,15	12,86	0,07	8,85	64,96	11,16	-	0,14	-	1,76	-	23,82	76,19
AOCS 1	-	0,06	9,83	-	6,32	66,72	13,94	0,37	0,23	0,13	2,04	0,35	18,62	81,03
AOCS 3	-	0,06	10,03	-	4,76	38,13	41,79	4,25	0,18	0,29	-	0,51	15,32	84,17
AOCS 7	-	0,25	14,43	-	32,22	41,89	9,01	0,03	0,33	-	1,34	0,51	48,56	50,93

* P.T. - Possíveis trans identificados.

** N.I. - Não identificados.

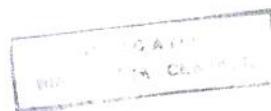
Coluna 10% Silar 10C, Temperatura isotérmica 175°C, injetor e detector 225°C, fluxo de N₂: 25mL/min.

Tabela 15: Composição em ácidos graxos coluna empacotada 10% SILAR 10C (%m/m).

Amostras	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	C 20:0	C 22:0	*P.T.	**N.I.	SAT.	INS.
M 1A	-	-	-	0,80	23,56	0,29	6,11	67,39	1,72	-	0,14	-	-	-	30,61	69,40
M 2B	-	-	-	0,79	23,44	0,44	3,94	56,90	12,71	0,27	-	-	1,16	0,35	29,33	70,32
M 3C	-	-	-	0,76	23,69	0,08	23,05	50,72	1,21	-	0,10	-	0,40	-	48,00	52,01
M 4D	-	-	-	0,76	21,56	0,56	2,18	17,34	57,46	-	0,13	-	-	-	24,63	75,36
M 5E	-	-	-	0,82	25,48	0,09	10,89	60,13	1,63	-	-	-	0,96	-	38,15	61,85
R 01	-	-	-	0,11	11,18	0,07	4,93	49,35	29,81	1,23	0,14	0,05	-	3,12	16,41	80,46
R 02	-	-	-	0,73	22,20	0,49	3,46	50,97	22,03	0,04	-	-	-	0,06	26,39	73,53
R 03	-	-	0,06	0,30	18,07	0,14	6,13	44,20	26,45	3,03	0,28	0,17	1,16	-	26,17	73,82
R 04	-	-	0,12	0,16	11,44	0,07	7,68	51,02	25,75	2,88	-	-	0,85	-	20,25	79,75
R 05	-	-	0,84	0,45	13,86	0,17	7,10	48,97	25,75	1,70	0,21	0,04	0,92	-	23,42	76,59
R 06	-	-	0,04	0,13	10,86	0,04	5,94	67,25	12,58	-	0,20	0,05	2,64	0,25	19,86	79,87
R 07	-	-	-	0,10	10,85	0,03	5,38	76,04	5,23	-	0,14	0,04	2,18	-	18,69	81,30
R 08	-	-	-	0,09	10,66	0,08	13,18	73,93	0,64	-	0,24	0,11	1,06	-	25,34	74,65
R 09	-	-	0,30	1,01	40,03	0,06	14,29	42,02	1,81	-	0,24	-	0,20	0,04	56,07	43,89
R 10	4,29	3,64	41,79	13,07	9,14	-	6,96	13,99	0,05	-	0,01	-	6,97	0,09	85,87	14,04
R 11	-	-	-	0,13	12,35	0,06	7,24	73,32	4,71	0,11	0,16	0,32	1,60	-	21,80	78,20
R 12	-	-	-	-	6,09	-	15,15	76,11	0,96	-	-	0,65	1,04	-	22,93	77,07
R 13	-	-	-	0,69	21,97	0,11	7,77	61,38	2,13	-	0,20	-	5,77	-	36,40	63,62

* P.T. - Possíveis trans identificados.

** N.I. - Não identificados.

Coluna 10% Silar 10C, Temperatura isotérmica 175°C, injetor e detector 225°C, fluxo de N₂: 25mL/min.

Em vista dos resultados obtidos, foram selecionadas as amostras que apresentaram perfil cromatográfico e curva de sólidos mais diferenciados resultando em eliminação para a etapa seguinte do trabalho as amostras:

M4D - Essa amostra não apresentou nenhum grau de hidrogenação, tratando-se de um óleo.

R08 - Perfil muito semelhante à amostra C08.

C03 - Baixo grau de hidrogenação.

C04 - Perfil muito semelhante à amostra C09.

C12 - Perfil muito semelhante à amostra C15.

C16 - Perfil muito semelhante à amostra C09.

Apartir desta seleção estabeleceu-se o grupo de amostras a serem analisadas, totalizando 28 gorduras hidrogenadas.

4.2 - ESTUDO DA ESTERIFICAÇÃO

A Figura 6 apresenta o perfil de ácidos graxos da amostra de referência “zero-trans” de um azeite de oliva extra virgem, não apresentando nenhum traço de TFA. Esta amostra foi esterificada nas condições HARTMAN & LAGO. Os resultados demonstram que não ocorre isomerização durante a derivatização das amostras. Na Figura 7 mostra-se o cromatograma da amostra de referência AOCS com a separação típica dos isômeros trans (C18:1t, C18:2t,t, C18:2c,t, C18:2t,c e C18:3ttt) de seus isômeros cis através da coluna CP Sil 88.

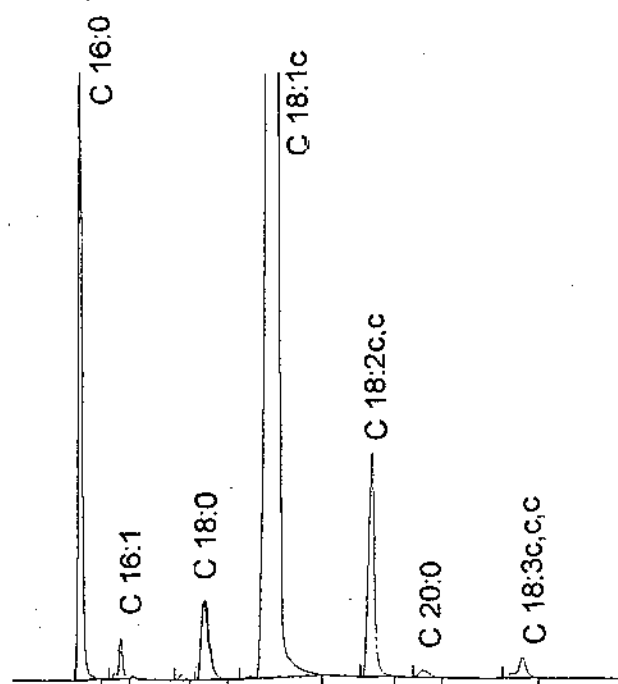


Figura 6: Perfil em ácidos graxos de azeite de oliva.

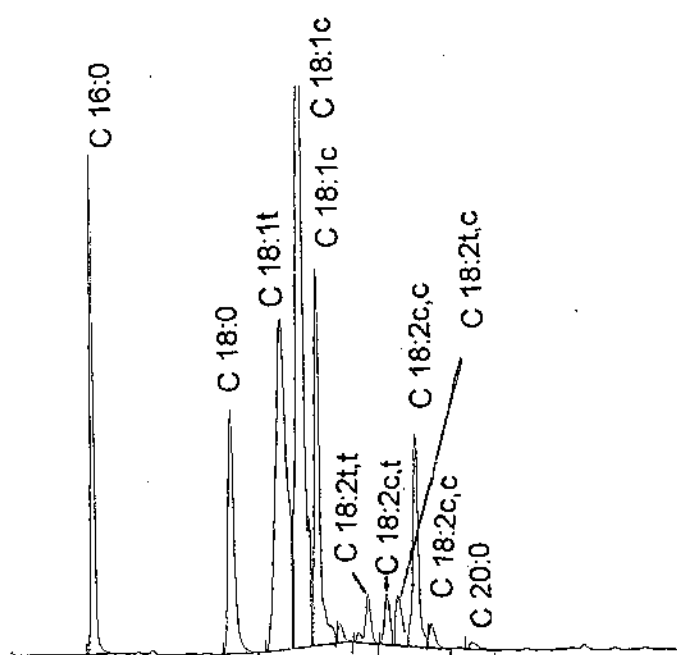


Figura 7: Perfil ácidos graxos da amostra referência de trans AOCS.

Para certificar essa afirmação na Tabela 16 apresentamos a comparação dos resultados dos padrões AOCS de referência com os obtidos após esses serem esterificados segundo HARTMAN & LAGO e analisados por cromatografia gasosa.

Tabela 16: Comparação entre os valores certificados e os obtidos por esterificação.

Amostras	Certificado	Hartman & Lago*
AOCS 1	29,123810 $\pm$ 2,569883	30,68
AOCS 3	9,258140 $\pm$ 1,121486	9,03
AOCS 7	20,457073 $\pm$ 2,623080	20,39

* - O estudo de esterificação foi realizado com a coluna SP 2340 (Método oficial)

Paralelamente ao estudo deste método de esterificação trabalhou-se também com a esterificação utilizando o reagente BF_3 (complexo de trifluoreto de boro em solução 20% com metanol), recomendado pelo método oficial AOCS. Na avaliação da metodologia de esterificação com trifluoreto de boro, considerando os padrões certificados AOCS, observa-se que não se obtém após determinação cromatográfica uma elevação de teores de isômeros trans. Esta constatação é uma boa evidência de que também esta metodologia não afeta a isomerização. A Tabela 17 compara teores totais de trans entre amostra AOCS 3 esterificada por BF_3 com o valor certificado e o método HARTMAN & LAGO, com pequenas diferenças e sem possível problema de isomerização durante as esterificações. Os valores obtidos inferiores corroboram igualmente com a afirmação de que não há isomerização de cis para trans durante essa etapa.

Tabela 17: Comparação entre os valores da amostra AOCS 3 esterificada por 2 diferentes métodos.

Métodos	C 18:1t	C 18:2t	C 18:3t	Total
Certificado	6,10 $\pm$ 0,70	2,75 $\pm$ 0,43	0,31 $\pm$ 0,21	9,26 $\pm$ 1,12
BF ₃	5,64	2,76	0,54	8,94
HARTMAN & LAGO	5,83	2,70	0,33	8,86

Pela inexistência de valores acrescido de isômeros trans nos métodos de metilação disponíveis, estabelecemos o método de HARTMAN & LAGO (1973) como a metodologia utilizada para todas as esterificações neste trabalho.

4.3 - TÉCNICAS INSTRUMENTAIS

Para identificação de picos em amostras complexas, normalmente recorre-se ao cálculo do valor de comprimento de cadeia (ECL) que, graficado contra o número de carbonos de séries homólogas (ésteres metílicos dos ácidos graxos) mostra uma relação linear, em termos de insaturação (CHRISTIE, 1982). Para cadeias curtas comuns entre C 12 e C 22, a relação do log do tempo de retenção com o número de átomos de carbono leva a resultados bastante semelhantes (MAIA, 1992).

Como este trabalho prático envolveu gorduras hidrogenadas com ácidos graxos presentes nesta faixa de cadeia com pouca insaturação, a identificação pelo tempo de retenção relativo apresentou-se satisfatória.

4.3.1 - Cromatografia Gasosa.

4.3.1 - a) Coluna SP 2340

A coluna comercialmente apresentada como SP-2340 é uma cianopropilpolisiloxano com 78% de substituição. Essa alta polaridade, de amplo uso em análises de ésteres metílicos de ácidos graxos e muito importante na separação de isômeros geométricos e de posição, sendo essa a coluna oficial da Sociedade Americana de Óleos e Gorduras.

A Tabela 18 apresenta a composição em ácidos graxos das gorduras hidrogenadas.

Tabela 18: Composição em ácidos graxos das gorduras comerciais separadas através da coluna SP 2340 (%m/m).

Amostras	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	18:1T	C 18:2	18:2T	C 18:3	C 20:0	C 20:1	C 22:0	C 24:0	N.I.	T.T.
M 1A	-	-	-	0,57	21,20	-	6,80	26,50	43,55	-	0,58	-	0,42	-	-	-	0,36	44,13
M 2B	-	-	-	0,42	18,19	0,26	5,28	31,05	27,89	8,27	5,96	-	0,43	0,71	-	-	1,53	33,85
M 3C	-	-	-	0,58	19,24	-	23,78	21,51	32,96	0,58	0,42	-	0,47	-	-	-	0,47	33,38
M 5E	-	-	-	0,47	18,59	-	11,74	28,32	37,57	0,99	1,04	-	0,49	-	0,32	-	0,47	38,61
R 01	-	-	-	-	8,55	-	5,50	31,78	17,45	22,68	7,47	1,24	0,66	1,49	0,73	-	2,48	24,92
R 02	-	-	-	0,50	17,02	0,34	3,92	34,54	18,84	17,20	5,75	-	0,42	0,22	0,30	-	0,98	24,59
R 03	-	-	-	-	15,57	-	6,82	31,01	14,73	24,28	3,25	3,03	0,63	-	0,67	-	-	17,98
R 04	-	-	-	-	7,47	-	8,36	30,67	21,68	23,52	3,37	2,92	0,91	-	0,81	-	0,28	25,05
R 05	-	-	0,60	0,30	11,35	-	7,67	32,23	17,66	23,87	3,37	1,74	0,63	-	0,57	-	-	21,03
R 06	-	-	-	-	8,00	-	6,52	40,98	27,62	5,33	8,65	-	0,64	-	0,83	-	1,40	36,27
R 07	-	-	-	-	8,71	-	7,28	39,28	39,27	2,67	1,97	-	-	-	0,81	-	-	41,24
R 09	-	-	-	0,61	33,14	-	17,58	23,61	22,92	1,40	-	-	0,74	-	-	-	-	22,92
R 10	2,90	2,94	37,31	11,60	8,81	-	8,79	16,15	11,49	-	-	-	-	-	-	-	-	11,49
R 11	-	-	-	-	9,63	-	8,15	39,38	36,84	3,08	1,42	-	0,62	-	0,89	-	-	38,26
R 12	-	-	-	-	4,92	-	15,46	39,19	36,46	0,69	0,82	-	0,47	-	1,41	0,58	-	37,28
R 13	-	-	-	0,58	20,13	-	9,82	41,51	26,12	-	1,29	-	0,53	-	-	-	-	27,41
C 01	-	-	-	-	10,85	-	14,93	32,74	35,92	3,14	2,41	-	-	-	-	-	-	38,33
C 02	-	-	-	-	11,03	-	6,74	37,65	12,30	23,88	5,51	1,45	0,63	-	0,82	-	-	17,81
C 05	-	-	-	-	8,95	-	7,58	35,98	24,91	14,24	5,94	0,97	0,59	-	0,83	-	-	30,85
C 06	-	-	-	-	9,82	-	10,95	35,70	33,86	3,93	4,33	-	0,59	-	0,81	-	-	38,19
C 07	-	-	-	0,27	13,37	-	18,74	26,29	23,71	11,86	3,52	0,60	0,58	-	0,58	-	0,49	27,23
C 08	-	-	-	-	9,31	-	17,41	31,28	39,15	0,66	0,83	-	0,59	-	0,75	-	-	39,98
C 09	-	-	-	-	11,05	-	9,99	36,10	29,12	6,36	5,65	-	0,56	-	0,73	-	0,44	34,77
C 10	-	-	-	-	7,72	-	8,32	32,45	14,43	28,47	5,23	2,37	-	-	1,01	-	-	19,66
C 11	-	-	-	-	7,52	-	10,60	38,25	28,90	7,05	4,80	0,39	0,53	0,39	0,79	0,30	0,49	33,70
C 13	-	-	-	-	8,88	-	7,83	30,01	8,75	33,64	6,50	2,80	0,69	-	0,91	-	-	15,25
C 14	-	-	-	-	8,11	-	14,04	35,51	33,54	3,05	4,00	-	0,60	-	0,86	-	0,29	37,54
C 15	-	-	-	-	9,94	-	15,38	35,23	32,81	1,99	3,49	-	0,51	-	0,63	-	-	36,30
AOC3 1	-	-	-	-	7,94	-	9,40	42,20	22,53	8,43	8,15	-	0,57	-	0,76	-	-	30,68
AOC3 3	-	-	-	-	9,18	-	5,47	32,21	6,00	39,56	3,03	3,95	-	-	0,60	-	-	9,03
AOC3 7	-	-	-	0,27	14,07	-	31,86	27,64	15,86	5,74	4,53	-	-	-	-	-	-	20,39

*N.I. - Não identificados.

**T.T. - Trans isômeros totais (soma de C 18:1t, C 18:2T, C 18:3T)

Coluna 78% cianopropilsiloxano, 60m, temp. da coluna 160°C – 200°C 1,3°C/min., com detector a 280°C e injetor a 210°C.

As Figuras 8 e 9 ilustram 2 cromatogramas das amostras R 10 e C 07 obtidos por essa mesma coluna.

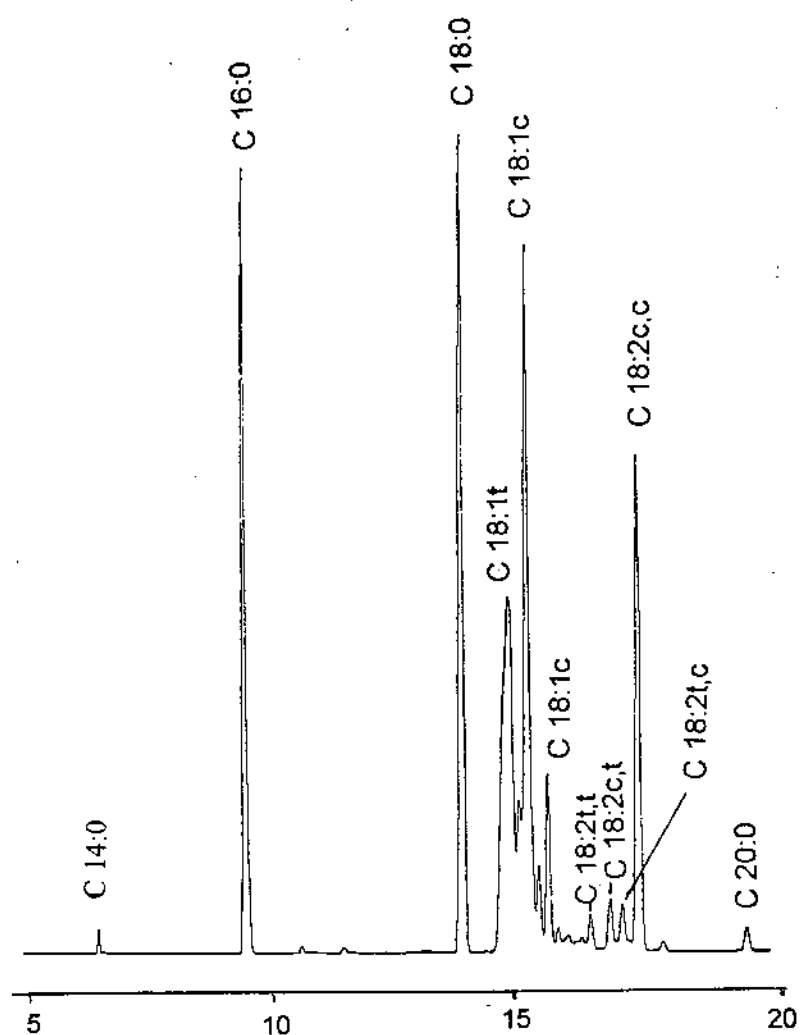


Figura 8: Perfil em ácidos graxos na coluna SP 2340, amostra C 07.

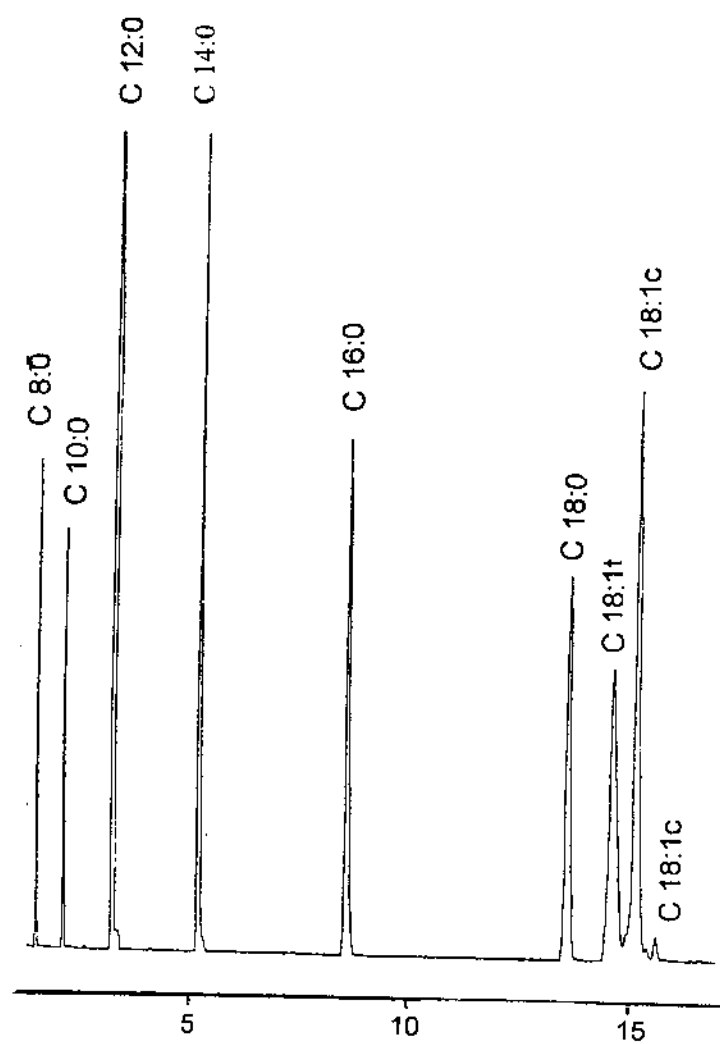


Figura 9: Perfil em ácidos graxos na coluna SP-2340, amostra R 10.

4.3.1 - b) Coluna CP Sil 88

A coluna CP-Sil 88 apresenta uma substituição de 100% de cianopropilpolisiloxano, sendo escolhida para a pesquisa por apresentar fase semelhante à coluna cromatográfica oficial e mostrar-se como uma possível alternativa para a área de óleos, ampliando assim as opções para futuras análises.

A Tabela 19 apresenta composição em ácidos graxos das amostras selecionadas.

Tabela 19: Composição em ácidos graxos das amostras de gorduras comerciais separadas pela coluna CP Sil 88 (%m/m).

Amostras	C 8:0	C 10:0	C 12:0	C 14:0	C 16:0	C 16:1	C 18:0	C 18:1	C 18:2	C 18:3	18:3T	C 20:0	C 20:1	C 22:0	N.I.*	T.T.**
M 1A	-	-	-	0,80	25,90	0,57	6,71	25,71	38,91	0,28	0,76	-	0,24	-	0,13	39,67
M 2B	-	-	-	0,95	23,90	0,31	4,65	29,10	25,72	8,11	5,62	0,22	0,26	-	0,89	31,61
M 3C	-	-	-	0,74	24,00	-	21,94	17,42	34,52	0,85	0,28	-	0,24	-	-	34,80
M 5E	-	-	-	0,71	24,07	0,25	10,52	24,92	37,16	0,71	0,90	-	0,26	-	0,48	38,06
R 01	-	-	-	-	10,52	-	4,95	34,15	16,25	23,70	6,51	1,02	0,37	0,52	2,03	22,76
R 02	-	-	-	0,65	22,22	0,36	3,62	33,34	17,43	16,98	4,46	-	0,22	0,19	0,54	21,89
R 03	-	-	-	0,33	20,83	-	6,08	29,95	12,96	24,20	2,72	2,69	0,24	-	-	15,68
R 04	-	-	0,10	0,12	10,75	-	7,68	31,50	19,67	24,00	2,47	2,55	0,35	-	0,28	22,44
R 05	-	-	0,84	0,45	13,85	0,12	7,33	33,12	15,11	23,13	3,01	1,72	0,50	-	0,35	18,22
R 06	-	-	-	-	10,37	-	6,20	42,58	24,69	6,30	8,34	0,32	0,37	-	0,43	33,03
R 07	-	-	-	-	11,00	-	6,50	38,65	37,63	2,85	2,28	0,19	0,41	-	0,27	39,91
R 09	-	-	0,23	0,88	41,38	-	15,05	20,42	20,36	1,19	0,13	-	0,36	-	-	20,49
R 10	2,99	3,09	41,25	13,06	8,92	-	7,38	13,59	9,45	-	0,13	-	0,14	-	-	9,58
R 11	-	-	-	-	12,11	-	7,12	39,60	36,56	3,01	1,29	-	0,31	-	-	37,85
R 12	-	-	-	-	6,00	-	15,38	40,87	35,63	0,66	0,58	-	0,30	-	0,58	36,21
R 13	-	-	-	0,66	22,36	0,25	7,87	32,62	34,45	0,32	1,02	-	0,24	-	-	35,47
C 01	-	-	-	0,10	11,48	-	14,22	32,59	32,25	3,11	4,44	0,13	0,48	0,10	0,46	36,69
C 02	-	-	-	0,18	12,98	-	6,14	35,16	16,44	22,02	5,05	1,39	0,32	-	0,18	21,62
C 05	-	-	-	-	10,77	-	7,39	36,90	23,77	14,16	4,56	1,09	0,35	-	0,34	28,43
C 06	-	-	-	-	11,32	-	10,43	36,30	30,39	4,07	5,42	0,38	0,44	-	0,48	35,81
C 07	-	-	-	0,51	19,25	0,21	17,14	25,00	22,06	11,45	2,96	0,10	0,28	-	0,50	25,55
C 08	-	-	-	-	11,44	-	18,30	31,27	36,56	0,72	0,92	-	0,44	-	0,34	37,48
C 09	-	-	-	0,22	13,91	-	9,77	36,77	26,05	6,67	5,36	0,31	0,29	-	0,39	31,41
C 10	-	-	-	0,09	11,63	-	8,05	33,18	13,64	26,65	2,91	2,02	0,37	0,15	0,32	16,86
C 11	-	-	-	-	11,17	-	10,73	38,61	29,20	6,84	2,43	0,35	0,38	-	0,29	31,63
C 13	-	-	-	-	11,11	-	7,31	30,03	8,74	32,44	5,83	2,48	0,35	-	0,20	15,36
C 14	-	-	-	-	10,58	-	13,59	35,59	33,05	2,86	3,29	0,16	0,39	-	0,34	36,34
C 15	-	-	-	0,10	11,57	0,10	15,22	35,68	32,04	1,82	3,00	-	0,36	-	0,11	35,04
AOC S 1	-	-	-	-	10,65	-	9,31	43,32	21,74	7,42	6,17	-	0,81	-	0,24	28,24
AOC S 3	-	-	-	-	10,26	-	5,08	31,89	5,83	39,72	2,70	3,55	0,11	-	0,26	8,86
AOC S 7	-	-	-	0,26	14,88	-	31,94	27,46	15,36	5,29	4,03	-	0,49	-	-	19,68

*N.I. - Não identificados. **T.T. - Trans isômeros totais (soma de C 18:1t, C 18:2T, C 18:3T)

Coluna 100% cianopropilpolisiloxano, isoterma a 180°C, injetor - 270°C, detector - 300°C, fluxo de H₂ 5mL/min.

As Figuras 10 e 11 ilustram 2 cromatogramas das amostras R 10 e R 06 obtidos por essa mesma coluna.

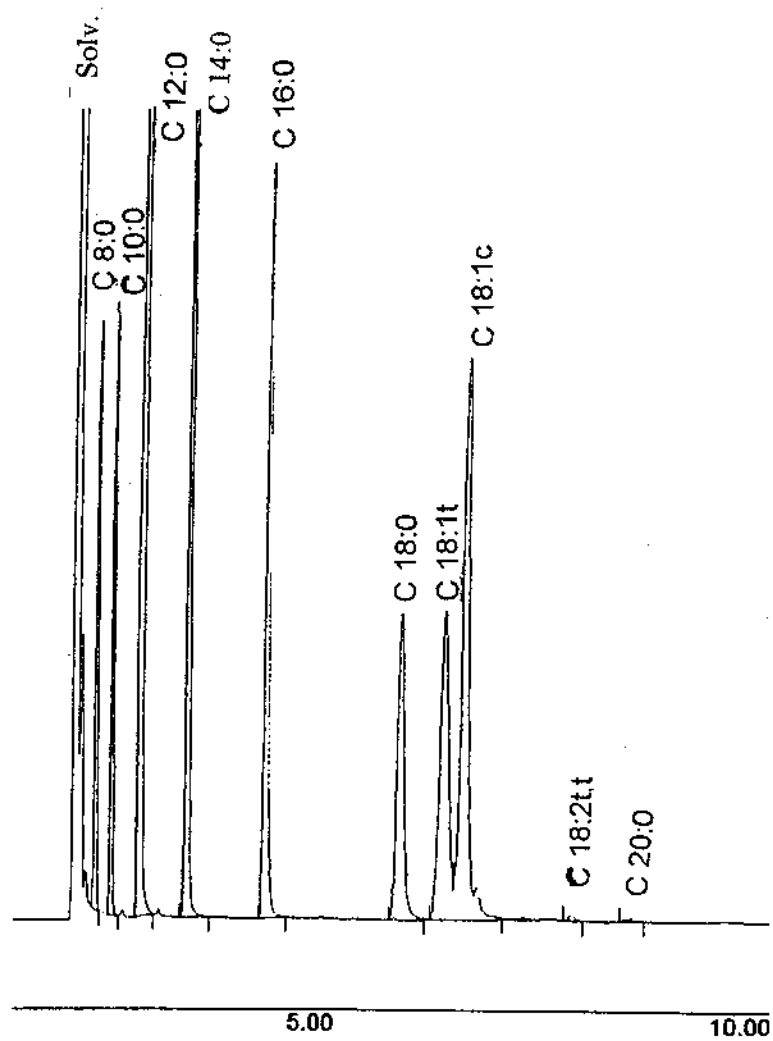


Figura 10: Perfil em ácidos graxos na coluna CP-Sil 88, amostra R10.

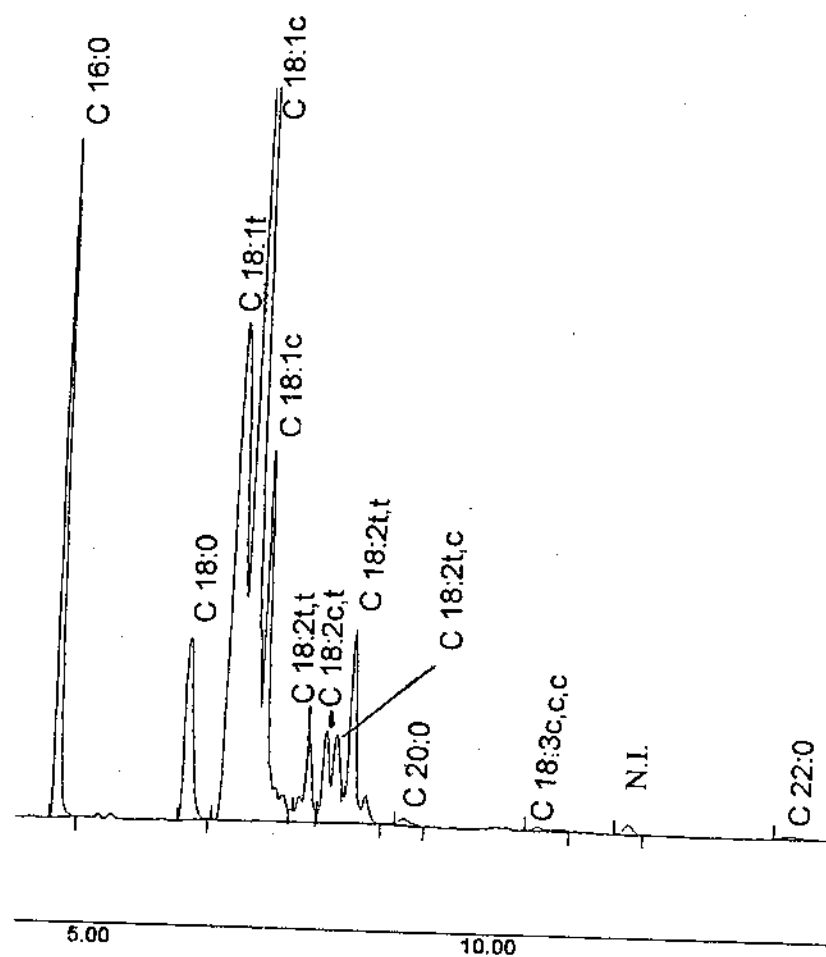


Figura 11: Perfil em ácidos graxos na coluna CP-Sil 88, amostra R 06.

4.3.1 - c) Coluna SP 2340 X CP Sil 88

Ambas colunas mostraram um bom desempenho e com poucas exceções em algumas amostras ficaram discrepantes.

Interessante notar que apenas a amostra R 10 apresenta valores de ácidos graxos de cadeia curta (C8:0 e C10:0), denotando provável composição com óleo de palmiste hidrogenado, pelo alto teor de isômero trans. Esta amostra se não tivesse sido hidrogenada, apresentaria maiores teores do C18:1c e C18:2c,c.

Alguns pontos entretanto pode ser destacados, como por exemplo a coluna CP-Sil 88 ser sensível à detecção do C18:3t; a coluna SP-2340 não apresentou sensibilidade para detectar este isômero, nas condições utilizadas, não cromatografando nenhum pico isomérico nessa região.

ENIG *et alii* (1983) analisaram TFA por cromatografia gás-líquido usando uma SP-2340 em amostras de margarina e também não conseguiram a separação dos isômeros C 18:3t, entretanto os autores não comentaram sobre o problema.

RATNAYAKE & BEARE-ROGERS (1990) conseguiram com a coluna SP-2340 separar os isômeros do C 18:3 com uma coluna de 60m, operando com isoterma de 165°C mas os autores fizeram a separação prévia da amostra em camada delgada de nitrato de prata (AgNO₃-TLC).

DUCHATEAUX *et alii* (1996) afirmam que quando o método AOCS é usado é comum a coeluição do α -linolênico com o 11c-20:1 e essa separação torna-se muito difícil, principalmente em amostras ricas em gadoléico (11-cis 20:1).

Observou-se também que a coluna SP-2340 apresentou eficiência para quantificar em 2 amostras ácido lignocérico (C 24:0) sendo este ácido graxo não cromatografado quando usada a coluna CP-Sil 88.

Em termos de separação de isômeros do C 18:1, a coluna SP 2340 mostrou-se mais eficiente, com presença de até 6 isômeros desse ácido graxo cuja a identificação não foi possível por não ter, durante esta tese, disponibilidade de padrões para sua certificação.

DUCHATEAUX *et alii* (1996) concluíram que as colunas alta polaridade podem dar respostas semelhantes e que a escolha das condições de trabalho são mais importantes, ressaltando, também, que os parametros para a otimização deve ser a eficiência de separação dos picos do C 18:1 e ausência de coeluição do C 18:3c,c,c ou C18:3t,c,c com o pico do 20:1- 11c.

As Figuras 12, 13 e 14 demonstram a comparação das amostras certificadas AOCS com os resultados obtidos pelas 2 colunas SP-2340 e a CP-Sil 88 com os valores do certificado.

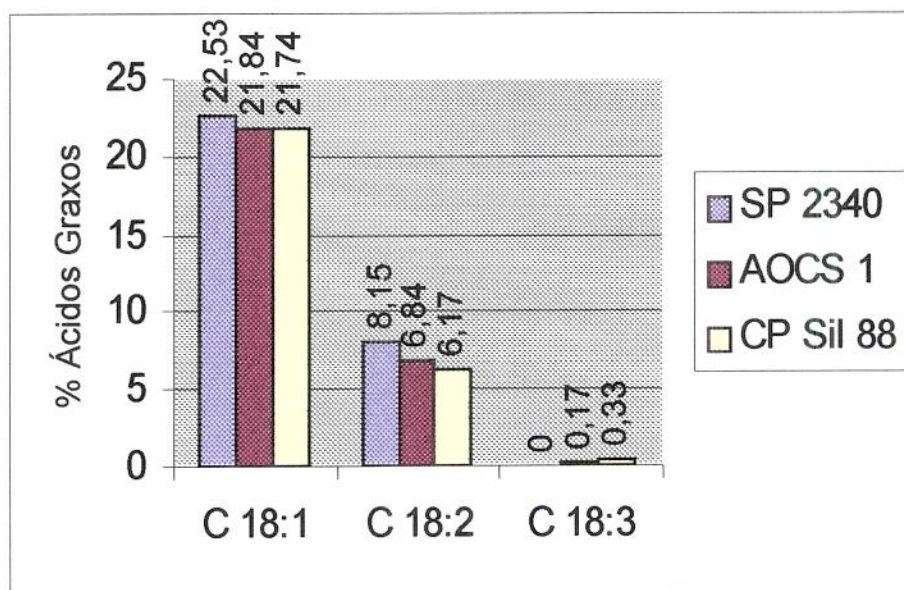


Figura 12: Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 1.

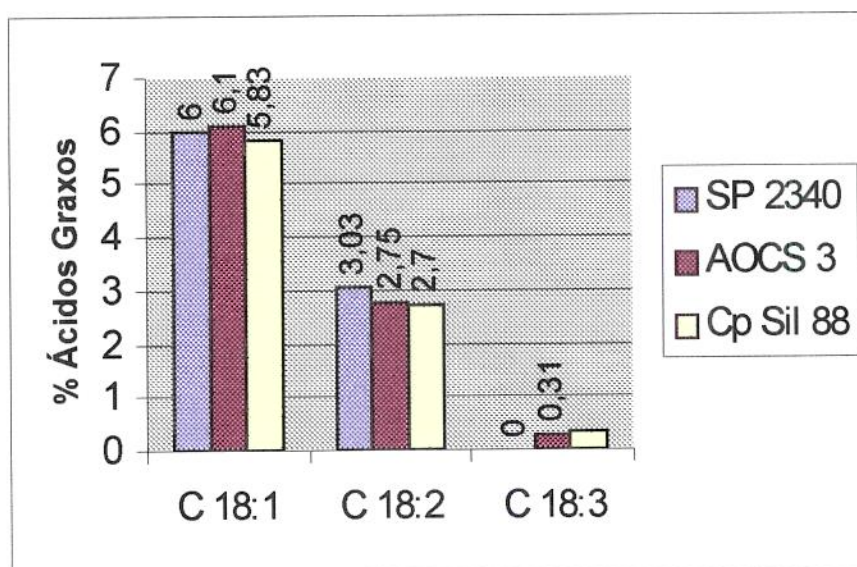


Figura 13: Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 3.

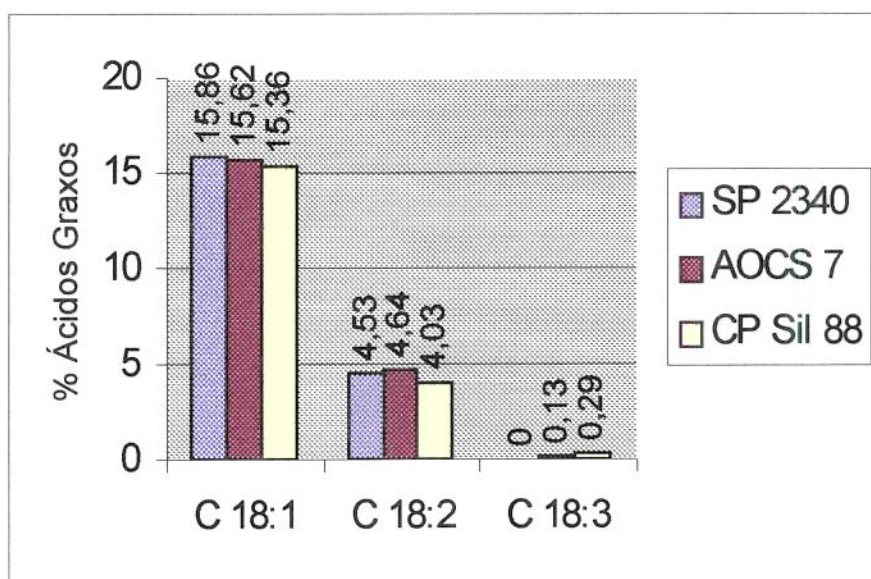


Figura 14: Comparação em ácidos graxos das colunas utilizadas com o valor certificado para a amostra AOCS 7.

A Figura 15 representa a comparação em ácidos graxos trans totais dos padrões AOCS 1, 3 e 7, utilizando-se as duas colunas.

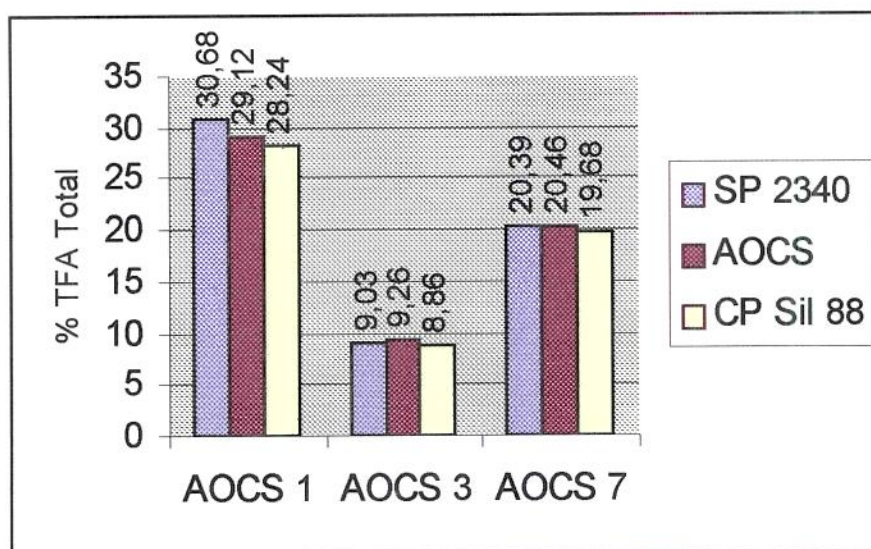


Figura 15: Valores de trans isômeros totais dos padrões certificados AOCS 1, 3 e 7.

Os valores de isômeros trans totais obtidos para as amostras AOCS não revelam, à primeira vista dados que possam concluir pela não equivalência entre as duas colunas aqui empregadas. No entanto, quando se considera o conjunto de amostras avaliadas neste trabalho, o resultado indica diferença significativa entre elas.

Embora em trabalhos avaliados para efeito de pesquisa se conclui em não equivalência entre duas colunas, com base estatística para uma mesma técnica, como o nosso caso, é perfeitamente aceitável a indicação de uma ou outra coluna, nas condições aqui empregadas para controle industrial de hidrogenação.

Indicamos para a comunidade científica o uso da coluna CP-Sil 88 em função da detecção do isômero C 18:3t e a facilidade de se trabalhar no modo isotérmico.

A análise dos dados foi feita utilizando-se o Teste t, comparando os dados pareados, obtendo-se o valor tabelado de $t = 2,042$ para 30 graus de liberdade e análise de confiança de 95%. O t calculado foi 3,19. Como o valor de t encontrado foi maior que o tabelado, verificamos que estatisticamente as colunas não são equivalentes, havendo uma variação estatística significativa, embora os valores estejam muito bons. Os cálculos estatísticos podem ser encontrados no Anexo II.

A Figura 16 apresenta o perfil de distribuição das amostras em relação a razão do desvio padrão pela média (Coeficiente de variação). A Tabela dos dados encontra-se em Anexo III.

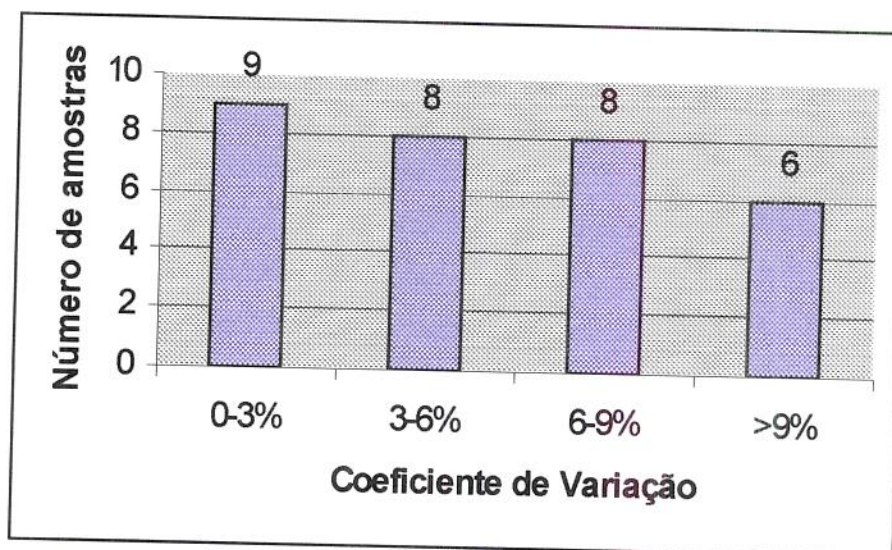


Figura 16: Distribuição do coeficiente de variação pelo número de amostras.

4.3.2 - Espectrofotometria de Infravermelho

4.3.2 a) Metodologia AOCS (Cela de NaCl)

Entre as técnicas aqui pesquisadas, não poderíamos deixar de incluir a espectrofotometria infravermelho, principalmente pelo fato de constar como metodologia recomendada pela AOCS.

Essa metodologia é largamente usada na área de pesquisa de alimentos por ter respostas muito rápidas e permitir um acompanhamento dos teores de isômeros trans dos produtos hidrogenados comerciais.

Na Tabela 20 pode-se observar os resultados de ácidos graxos trans totais obtidos por FTIR pelo método da AOCS.

Tabela 20 - Trans total obtido por Espectrofotometria de Infravermelho método AOCS – Cd 14-95*.

Amostras	X 1	X 2	X 3	Média	Des. Padrão	C.V. (%)
M 1A	54,19	54,23	55,23	54,55	0,59	1,08
M 2B	32,63	32,84	33,37	32,95	0,38	1,15
M 3C	34,92	34,94	35,74	35,20	0,47	1,34
M 5E	40,87	40,42	40,21	40,50	0,34	0,84
R 01	25,81	26,14	26,15	26,03	0,19	0,73
R 02	24,15	24,91	25,03	24,70	0,48	1,94
R 03	20,88	20,55	20,79	20,74	0,17	0,82
R 04	29,41	29,51	30,03	29,65	0,33	1,11
R 05	22,90	22,85	22,91	22,89	0,03	0,13
R 06	40,57	40,65	40,36	40,53	0,15	0,37
R 07	48,30	48,51	48,84	48,55	0,27	0,56
R 09	21,77	21,17	21,48	21,47	0,30	1,40
R 10	9,36	9,58	9,48	9,47	0,11	1,16
R 11	44,31	44,76	44,43	44,52	0,23	0,52
R 12	43,48	43,58	43,75	43,60	0,14	0,32
R 13	53,43	53,27	52,49	53,06	0,50	0,94
C 01	43,22	43,66	43,61	43,50	0,24	0,55
C 02	25,45	25,31	26,01	25,59	0,37	1,45
C 05	33,81	34,47	34,03	34,10	0,34	1,00
C 06	42,93	42,58	43,14	42,88	0,28	0,65
C 07	27,62	27,42	27,96	27,67	0,27	0,98
C 08	47,39	47,35	47,08	47,27	0,17	0,36
C 09	36,73	36,84	37,48	37,02	0,41	1,11
C 10	21,72	21,92	21,85	21,83	0,10	0,46
C 11	37,89	37,98	38,45	38,11	0,30	0,79
C 13	18,43	17,97	18,22	18,21	0,23	1,26
C 14	41,90	42,00	42,67	42,19	0,42	1,00
C 15	41,74	42,68	41,91	42,11	0,50	1,19
AOCS 1	32,44	32,69	32,66	32,60	0,14	0,43
AOCS 3	10,69	11,00	10,76	10,82	0,16	1,48
AOCS 7	22,36	23,11	22,44	22,64	0,41	1,81

* - Cela de NaCl.

C.V.- Coeficiente de variação

Essa metodologia embora apresente inconvenientes operacionais é muito boa quanto à precisão e exatidão dos resultados. As estimativas dos desvios padrões calculados encontram-se dentro dos limites aconselháveis pelo método, tendo em vista as faixas de trans consideradas.

Convém lembrar que as amostras AOCS 3 e R 10 com teores inferiores a 15% de isômeros trans foram esterificadas e dessecadas. O lote de amostras analisadas, não apresentando valores de isômeros trans inferiores a 9% teve nesta técnica excelente resposta. O fato de se conseguir quantificar amostras com teores menores leva a suposição de que pode-se ampliar a faixa de confiabilidade dessa técnica.

A Figura 17 apresenta a comparação entre os resultados obtidos e os valores certificados.

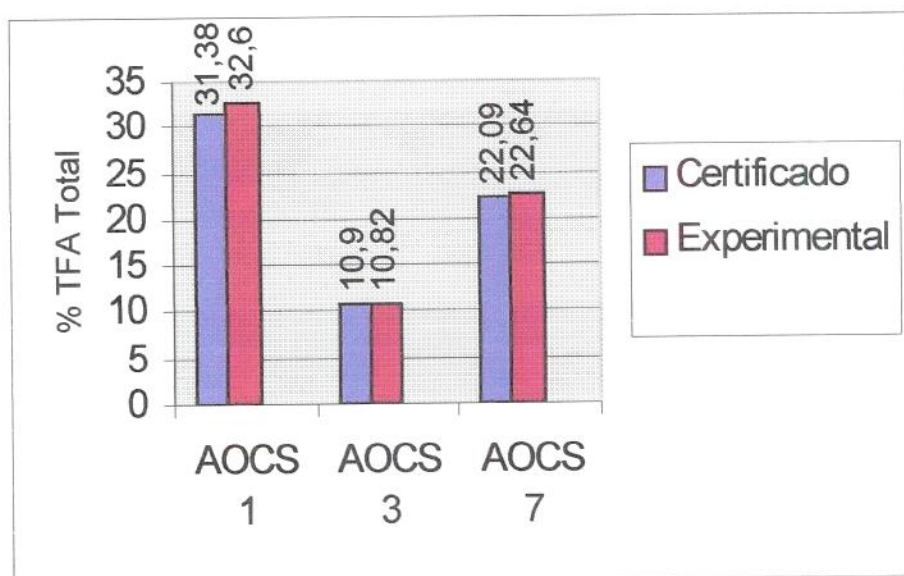


Figura 17: Comparação entre os valores IR obtidos por metodologia AOCS e os valores certificados.

4.3.2 b) Metodologia FTIR - Cartões

A rápida aplicação da amostra torna o trabalho com os IR-cards muito fácil e de grande produtividade.

Na Tabela 21 pode-se observar os resultados de ácidos graxos trans totais obtidos por FTIR pelo método do IR-Card e seus respectivos desvios padrões. Alguns valores foram descartados devido à grande variabilidade em relação aos outros.

Tabela 21 - Trans total obtidos por Espectrofotometria de Infravermelho método "IR-Cards".

Amostras	X 1	X 2	X 3	Média	Des. Padrão	C.V. (%)
M 1A	52,1	50,6	43,3*	51,4	1,1	2,14
M 2B	33,0	36,8*	31,8	32,4	0,8	2,47
M 3C	42,4	41,8	39,2*	42,1	0,4	0,95
M 5E	40,4	37,7*	39,2	39,8	0,8	2,01
R 01	19,7	20,6	21,5	20,6	0,9	4,37
R 02	18,9	19,2	19,1	19,1	0,2	1,05
R 03	15,4*	17,0	18,6	17,8	1,2	6,74
R 04	23,0	22,3	20,3	21,9	1,4	6,39
R 05	17,7*	20,7	22,3	21,5	1,1	5,12
R 06	29,2	30,9	31,0	30,4	1,0	3,29
R 07	45,6	47,5	47,9	47,0	1,2	2,55
R 09	24,1	25,9	31,2*	25,0	1,3	5,20
R 10	8,1	7,0	7,3	7,5	0,6	8,00
R 11	36,8	35,8	36,7	36,4	0,6	1,65
R 12	40,6	40,6	38,7	40,0	1,1	2,75
R 13	42,1*	52,0	50,9	51,5	0,8	1,55
C 01	37,7*	40,9	39,9	40,4	0,7	1,73
C 02	24,9	25,3	23,0	25,1	0,3	1,20
C 05	26,1	26,6	29,2*	26,4	0,4	1,52
C 06	39,9*	37,3	37,1	37,2	0,2	0,54
C 07	28,8	30,6*	28,4	28,6	0,3	1,05
C 08	48,9	44,2*	49,0	49,0	0,1	0,20
C 09	24,9	23,2	33,4*	24,1	1,2	4,98
C 10	22,4	20,8*	22,1	22,3	0,2	0,90
C 11	36,5	38,2*	35,1	35,8	1,0	2,79
C 13	14,3	15,4	17,0*	14,9	0,8	5,37
C 14	42,9	39,6	38,2	38,9	1,0	2,57
C 15	36,0	36,6	33,6*	36,3	0,4	1,10
AOCS 1**	-	-	-	-	-	-
AOCS 3**	-	-	-	-	-	-
AOCS 7**	-	-	-	-	-	-

*- Valores descontados para o cálculo do valor médio e desvio padrão.

** - Utilizados para elaboração da curva de calibração para quantificação, equação da reta obtida: $y = 0,032x + 0,113$.

C.V. – Coeficiente de variação.

Embora essa técnica apresentasse uma rápida forma de quantificação, seus resultados mostraram-se pouco reprodutivos dificultando a escolha de dados coerentes. Não se atingiu qualquer precisão nas medidas ficando apenas a idéia da faixa de teor de isômeros presentes.

Com objetivo de uma análise rápida e uma vaga noção quantitativa esta técnica é bastante útil, principalmente no plano industrial. Porém como se desejava melhor precisão analítica na quantificação, nossas expectativas não foram alcançadas.

4.3.2 c) IR Cella X IR Cartões.

A comparação dessas duas metodologias para infravermelho apresentaram resultados distantes e na maioria das amostras a quantificação através do cartão ficou subestimada.

A explicação plausível para esses valores foi encontrada no fato de que os cartões apresentam problemas quanto à transparência e dependendo da consistência da amostra torna-se muito difícil a obtenção de um filme transparente e homogêneo, o que dificulta a leitura, e podendo gerar dados pouco confiáveis levando à diminuição ou aumento não esperados nos resultados. Apesar da cela apontar seus problemas operacionais típicos, a confiabilidade e reprodutibilidade de seus resultados foi sem dúvida muito melhor.

Os cartões mostram-se de baixo valor para análises quantitativas, mas quando necessita-se de valores qualitativos ou uma noção dos teores de trans nas amostras, esses respondem aos objetivos. Industrialmente podem ser muito úteis pois muitas vezes o desejo é só monitoramento da formação de trans e pela rapidez e facilidade de análise, os cartões podem agilizar a liberação dos resultados.

A análise dos dados foi feita utilizando-se o Teste t, comparando os dados pareados. Para 27 graus de liberdade e análise de confiança de 95%, o valor de t tabelado é de 2,052 em comparação com o valor de t calculado 4,44. Como o valor t encontrado é maior que o tabelado há diferença significativa entre as metodologias AOCS com cela NaCl e cartões IR-Card, corroborando com a análise prévia visual dos dados (Cálculos estatísticos anexo II).

Na figura 18 demonstrou-se a distribuição de frequência entre as amostras de cela e cartão, em relação ao coeficiente de variação.

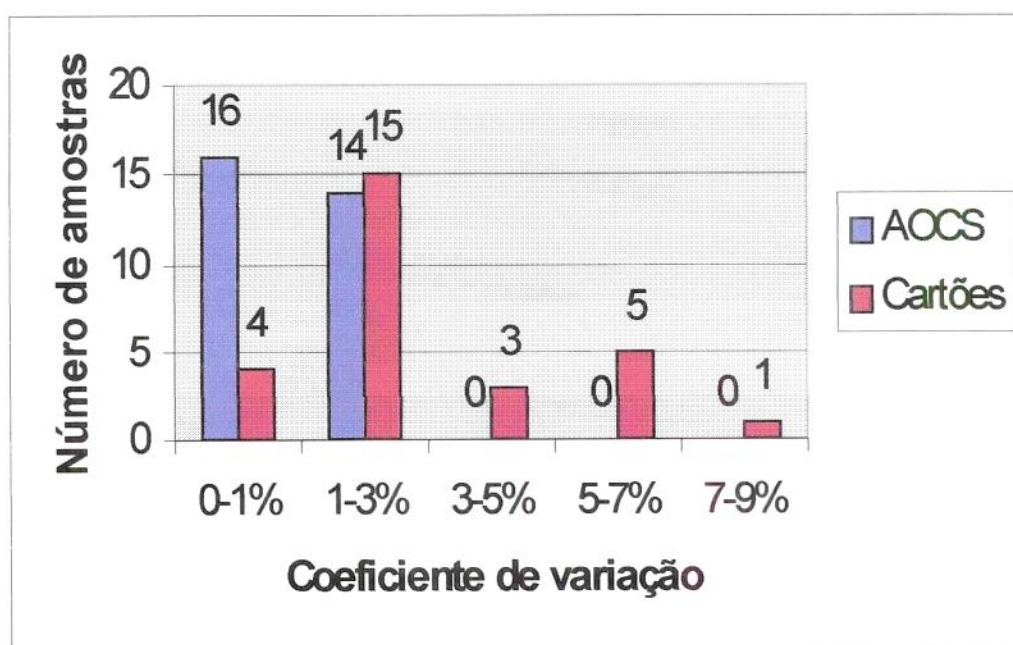


Figura 18: Distribuição de frequência entre as amostras de cela e cartão, em relação ao coeficiente de variação.

Na Figura 19 temos graficadas as amostras em relação aos seus coeficientes de variação em comparação com as duas metodologias de infravermelho (Tabela Anexo III).

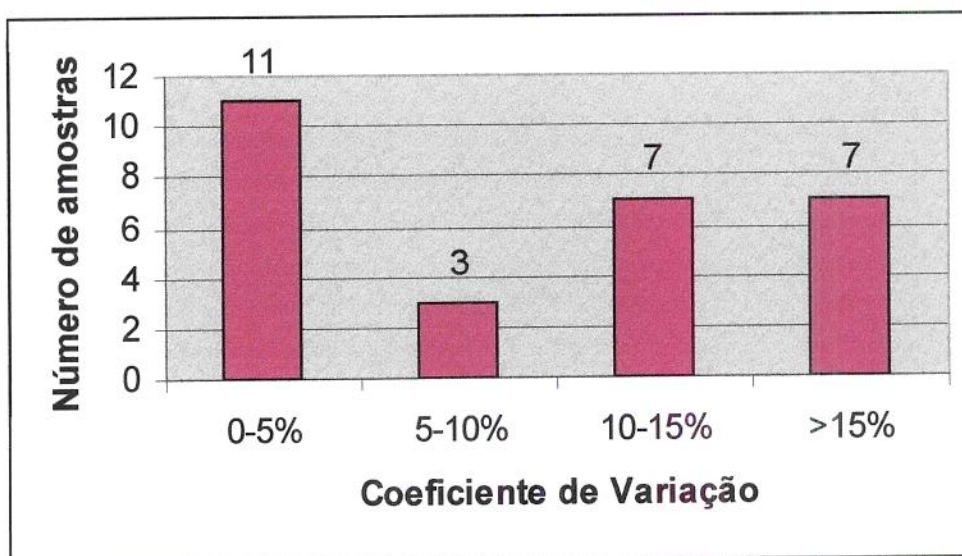


Figura 19: Distribuição das amostras pelo coeficiente de variação entre as duas metodologias de infravermelho.

Em tabela no Anexo III é possível observar os cálculos do coeficiente de variação entre as técnicas.

4.3.3 – Cromatografia Gasosa X Infravermelho

Para efeito de comparação serão considerados apenas as metodologias oficiais AOCS ou seja, separação de trans individuais por coluna capilar SP-2340 e trans totais por espectrofotometria infravermelho em cela de NaCl.

Os resultados para IR foram na maioria das amostras maiores do que os encontrados para CG e em alguns casos como as amostras M 1A, R 13 e a C 08 os valores mostraram-se muito superiores. O coeficiente de variação entre as técnicas ficou na faixa de 0,32 a 45,08% (tabela de cálculo anexo III).

FAVIER *et alii* (1996) compararam algumas técnicas de trans e chegaram a alguns valores bem distintos entre estas duas técnicas. Os autores relatam que no geral os dados obtidos entre diferentes métodos CG e IR são bons, mas alguns apresentam discrepâncias. A explicação é dada pelo fato da quantificação de TFA por CG apresenta resultados menores pois pode-se mascarar ou sobrepor os picos de trans com os de cis, consequentemente prejudicar a eficiência de separação. Por outro lado os métodos espectrofotométricos devido a presença de ácidos graxos polinsaturados na amostra dão a medida estimativa do número total das ligações trans da amostra (LANSER & EMKEN, 1988).

Os valores mais altos com o FTIR podem ser possivelmente explicados por uma contribuição de pequenos ácidos monoenólicos trans como por exemplo com 16 átomos de carbono (PRECHT & MOLKENTIN, 1995)

Essa variação dos resultados entre CG e IR é esperada e aparece incluída nos valores dos certificados emitidos pela AOCS das amostra padrões, onde observa-se um valor para CG e outro sempre maior para IR.

Como já era de se esperar estatisticamente as técnicas não são equivalentes, obtendo-se pelo teste t com 30 graus de liberdade e análise de confiança de 95%, o valor de t tabelado 2,042 em comparação com o valor de t calculado 4,65. Como o valor t encontrado é maior que o tabelado conclui-se que as técnicas não são equivalentes. Os cálculos estatísticos seguem em Anexo II.

Na Figura 20 pode-se verificar a distribuição das amostras pelo coeficiente de variação entre as duas técnicas (dados no Anexo III).

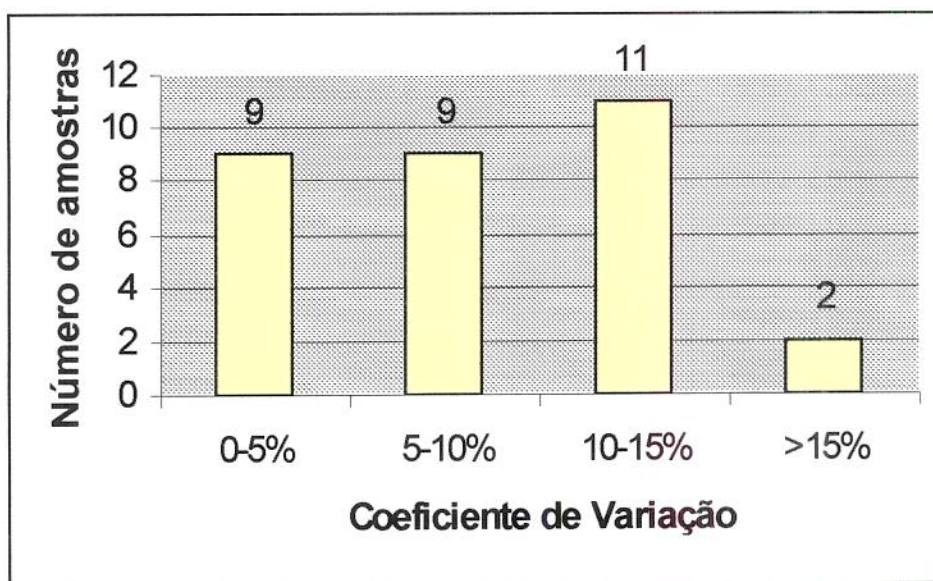


Figura 20: Distribuição das amostras pelo coeficiente de variação entre as duas técnicas: Cromatografia gasosa e infravermelho.

Um resumo de dados totais de isômeros trans obtidos para gorduras hidrogenadas através das diferentes técnicas segue em resumo IV.

4.3.4 – Espectrofotometria Fotopirelétrica

Os resultados obtidos na detecção fotopirelétrica não foram suficientes para a separação e identificação dos trans.

Antes de passar pelo sensor pirelétrico as amostras são submetidas a variação de comprimento de onda, nas diferentes faixas espectrais e o sensor registrará o comportamento da amostra frente a essas variações.

Para a realização dos trabalhos tinha-se disponíveis filtros na faixa de 10000 a 4000 cm^{-1} para a análise, faixa esta insuficiente para conseguir a separação e posterior quantificação dos isômeros dos isômeros trans.

FAVIER *et alii* (1996) conseguiram a separação e quantificação dos trans trabalhando com IR médio e o comprimento de onda utilizado pelos autores na quantificação foi de 966 cm^{-1} .

Essa técnica mostrou-se boa para cálculo de constantes físicas e além de rápida dispensa preparo da amostra ou seja, submete-se gorduras diretamente na cela de amostra e utilizou-se quantidades muito pequenas do produto. A explicação para o problema de quantificação foi a limitação do equipamento utilizado, mas vale a pena ressaltar que essa técnica pode ser de grande destaque no futuro pela alta sensibilidade do sensor pirlétrico e pela vantagem deste estar em contato direto com a amostra.

5 – CONCLUSÕES

1. Na etapa de esterificação utilizando BF_3 ou o método HARTMAN & LAGO, não produziram artefatos que afetassem a quantificação de isômeros trans por cromatografia gasosa.
2. Quantificação de isômeros trans individuais por cromatografia gasosa em colunas capilares apresentaram melhores resultados com a coluna CP-Sil 88, 60m, em condições isotérmicas de 180°C , com boa definição de separação de isômeros C18:3t, não detectados pela coluna SP-2340 do método oficial AOCS.
3. O método de infravermelho utilizando cela de NaCl ainda é a metodologia que apresenta a maior reprodutibilidade para determinação do teor de trans isômero total.
4. Os cartões IR-Card (3M) apresentaram pouca eficiência para resultados de avaliação quantitativa, mas são ferramentas muito boas em análises preditivas. Ideal para linhas de produção onde a determinação pode ser feita em 2 minutos no máximo.
5. Os resultados obtidos pela técnica oficial de infravermelho foram superiores numericamente comparados com a cromatografia gasosa.
6. Embora hoje exista uma preocupação industrial para a diminuição dos isômeros trans em gorduras hidrogenadas comerciais, os valores ainda são altos. Encontrando-se entre 9 e 55%, mostrando a necessidade de se ampliar o uso de processos alternativos.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALI, L.H.; ANGYAL, G.; WEAVER, C.M.; RADER, J.I.; MOSSOBA, M.M. Determination of total trans fatty acids in foods: Comparison of capillary-column gas chromatography and single-bounce horizontal attenuated total reflection infrared spectroscopy. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 73, n. 12, p. 1699 - 1705, Dec. 1996.
2. ALLEN, R.R. Hydrogenation. In: **Bailey's industrial oil and fat products**. Edited by Daniel Swern. Fourt Edition, v. 2, USA, 1982. 603p.
3. AOCS (AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY) **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society**. 3 ed., Washington, 1993. [Methods Cd 14d – 96/Cd 17 – 85].
4. ASCHERIO, A.; HENNEKENS, C.H.; BURING, J.E.; MASTER, C.; STAMPFER, M.J. WILLETT, W.C. Trans-fatty acids intake and risk of myocardial infaction. **Circulation**. Baltimore, v.89, n. 1, p. 94 – 101, Jan, 1994.
5. BARRERA – ARELLANO, D.; BLOCK, J. M. Ácidos grasos trans en aceites hidrogenados: implicaciones técnicas y nutricionales. **Grasas y Aceites**. v. 44, n. 4/5, p. 286 – 293. jul/oct, 1993.
6. BLOCK, J.M. **Formulação de gorduras hidrogenadas através de redes neurais**. Campinas, 1997. 146p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.
7. BRISSON, G.J. **Lipids in human nutrition**. MTP Press Limited, New Jersey, USA, 1981. 175p.

8. BUEHLER, G. Hydrogenation of fatty acids. In: **Fatty acids in Industry: processes, properties, derivatives, applications**. Edited by Robert W. Johnson. Marcel Dekker Inc., New York and Basel, 1988.
9. CHRISTIE, W.W. **Lipids Analysis**. Pergamon press, 2 ed. Great Britain, 1982. 207p.
10. CHROMPACK CHROMATOGRAPHY CATALOG. **Ordering and reference guide for CG/HPLC columns and supplies**. January, 1997.
11. DARDALAT, D. BICANIC, D.; VISSER, H.; MERCURI, F.; FRANDAS, A. Photopyroelectric methods for determination of thermophysical parameters and detection of phase transitions in fatty acids and triglycerides. Part I: Principles, theory, and instrumental concepts. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 72, n. 72, p. 273 – 279, 1995.
12. DEFFENSE, E. Fractionation of palm oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 62, n. 2, p. 376 - 385, Feb., 1985.
13. DEMAN, L.; DEMAN, J. M. Trans fatty acids in milkfat. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 60, n. 6, p. 1095 – 1098, June 1983.
14. DUCHATEAU, G. S. M. J. E.; OOSTEN, H. J.; VASCONCELLOS, M. A. Analysis of cis and trans fatty acid isomers in hydrogenated and refined vegetable oils by capillary gas – liquid chromatography. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 73, n. 3, Mar., p. 275 – 282, Mar., 1996.
15. DUGAN, L.J. Lipids. In: **Principles of food science**. Part I – Food Chemistry, Edited by: Owen R. Fennema, New York, 1976. 792p.

16. ECKEY, E.W. **Vegetable fats and oils**. American Chemical Society Monograph Series, Reinhold Publishing Corporation, New York, 1954. 836p.
17. EMKEN, E.A. Biochemistry of unsaturated fatty acid isomers. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 60, n. 5, p. 995 – 1004, May, 1983.
18. ENIG, M.G.; PALLANSCH, L.A.; SAMPUGNA, J.; KEENEY, M. Fatty acid composition of the fat selected food items with emphasis on trans components. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 60, n. 10, p. 1788 - 1795, Oct., 1983.
19. ERICKSON, M.D. Interesterification. In: **Practical handbook of soybean processing and utilization**. AOCS Press, Missouri, 1995. 584p.
20. FAVIER, J. P.; BICANIC, D.; BOVENKAMP, P.; CHIRTOC, M.; HELANDER, P. Detection of total trans fatty acids content in margarine: an intercomparison study of GLC, GLC + TLC, FTIR, and Optothermal window (open photoacoustic cell). **Analytical Chemistry**. Washington, v. 68, n. 5, May, p. 729 – 733, 1996.
21. GARY, J.N. **Health effects of dietary fatty acids**. American Oil Chemists' Society, Champaign, Illinois, 1991. 274p.
22. GIOIELLE, L.A. Margarinas e cremes vegetais: composição e tecnologia. **Óleos e grãos**. São Paulo, nov/dez, p.21-27, 1996.
23. GRUNDY, S.M. Lipids and cardiovascular disease. In: **Nutrition and disease update**. Heart disease. Champaign, Illinois, 1984. 274p.
24. GUSTONE, F.D.; HARWOOD, J.L.; PADLEY, F.B. **The Lipids Handbook**. Champman & Hall, 2 ed, London, 1994. 551p.

25. GUNSTONE, F.D.; NORRIS, F.A. **Lipids in foods**. Pergamon Press, Oxford, 1983. 170p.
26. GURR, M.I. **Role of fats in food and nutrition**. Elsevier Applied Sci. Publ. Ltd, 1ed, New York, 1992. 170p.
27. HARTMAN, L.; LAGO, R. C. Rapid determination of fatty acid methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**. London, v. 22, n. 7, p. 475 – 476, July, 1973.
28. HUSTEDT, H.H. Interesterification of edible oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 53, n. 6, p. 390 - 392, June., 1976.
29. IUPAC (INTERNATIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY). **Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives**. 7 ed., Oxford, 1989. [Methods 2207/2208].
30. KAWASHIMA, L.M. & SOARES, L.M.V. Gorduras em sorvetes nacionais: conteúdo, composição de ácidos graxos e teor de trans-isômeros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 13, n. 2, p. 194 – 202, jul/dez., 1993.
31. KOCHHAR, S. P.; MATSUI, T. Essential fatty acids and trans contents of some oils, margarine and other food fats. **Food Chemistry**. Oxford and New York, v. 13, p. 85 – 101, 1984.
32. LANSER, A.C.; EMKEN, E.A. Comparison of FTIR and capillary gas chromatographic methods for quantitation of trans unsaturation in fatty acid methyl esters. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign , v. 65, n. 9, p. 1487 - 1487, Sept., 1988.

33. LANZA E.; SLOVER, H.T. The use of SP 2340 glass capillary columns for the estimation of the trans fatty acid content of food. **Lipids**. Champaign, v. 16, n. 4, p. 260 – 267, Apr., 1981.

34. MAIA, E.L. **Otimização da metodologia para caracterização de constituintes lipídicos e determinação da composição em ácidos graxos e aminoácidos de peixe de água doce**. Campinas, 1992. 242p. Tese (Doutor em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

35. MANCINI, J.; CHEMIM, S. Implicações nutricionais dos ácidos graxos trans. . In: **Seminários “Gorduras Modificadas com Baixos Teores de Ácidos Graxos Trans: Aspectos Nutricionais e Tecnológicos”**. Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, São Paulo, 1996.

36. MC GILL IR GROUP. **Investigation of potential utility of 3M IR-Cards for the quantitative determination of trans content in margarines by FTIR Spectroscopy**. Departament of food science and agricultural chemistry. Macdonald Campus of Mc Gill University, Montreal, Québec, Canada, 1997.

37. MEAD, J.F.; ALFIN-SLATER, R.B.; HOWTON, D.R.; POPJÁK, G. **Lipids chemistry and nutrition**. New York, USA, 1986. 486p.

38. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. Portaria nº. 372 de 4 de setembro de 1997. **Legislação de Margarina**, São Paulo, 1997.

39. NICHOLS, B.W. **Processed oil and fat products**. Food Chemistry, New York, v. 1, n.1, p. 27 – 31, 1989.

40. OKONED, D. V.; BERBEN, P. H.; MARTELLI, G. Precious metal catalysis for fats and oils applications. In: **Seminários "Gorduras Modificadas com Baixos Teores de Ácidos Graxos Trans: Aspectos Nutricionais e Tecnológicos"**. Sociedade Brasileira de Óleos e Gorduras, São Paulo, 1996.

41. OVERSEN, L.; LETH, T.; HANSEN, K. Fatty acid composition of Danish margarines and shortenings, with special emphasis on trans fatty acids. **Lipids**. Champaign, v. 31, n. 9, p. 971 – 975, Sept, 1996.

42. PATTERSON, H.B.W. **Hydrogenation of fats and oils**. Applied Science Publishers Ltd., New York, USA, 1983. 310p.

43. PRECHT, D.; MÖLKENTIN, J. Trans fatty acids: Implications for health, analytical methods, incidence in edible fats and intake. **Die Nahrung**. Weinheim, v. 39, n. 516, p. 343 – 374, 1995.

44. QUADREX. **Informações do fabricante**. Disponível na Internet: www.quadrexcorp.com/. 2 Fev. 1999.

45. RATNAYAKE, W. M. N. Determination of trans unsaturation by Infrared Spectrophotometry and determination of fatty acid composition of partially hydrogenated vegetable oils and animal fats by Gas Chromatography-Infrared Spectrophotometry: Collaborative study. **Journal of A.O.A.C. International**. Gaithersburg, v. 78, n. 3, p. 783 – 802, Mar, 1995.

46. RATNAYAKE, W. M. N.; BEARE-ROGERS, J.L. Problems of analyzing C18 cis- and trans-fatty acids of margarine on the SP-2340 capillary column. **Journal of chromatographic science**, Niles, v.28, p. 633 – 639, Dec, 1990.

47. RATNAYAKE, W. M. N.; HOLLYWOOD, R.; O'GRADY, E.; BEARE-ROGERS, J.L. Determination of cis and trans-octadecenoic acids in margarines by gas liquid chromatography-infrared spectrophotometry. . **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 67, n. 11, p. 804 – 810, Nov. 1990.

48. SCHMUTZLER, L.O.F. **Curso de hidrogenação de óleos vegetais**. FEA – UNICAMP, 16-20/05/1994. Campinas, SP.

49. SILVERSTEIN, R.M.; BASSEL, G.C.; MORRILL, T.C. **Spectrometric identification of organic compounds**. Jonh Wiley & Sons, New York, 1981. 442p.

50. SOARES , L. M. V.; FRANCO, M. R. B. Níveis de ácidos graxos trans de margarinas nacionais e produtos hidrogenados semelhantes. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 31, n. 1, p. 57 – 71, 1990.

51. SOMMERFELD, M. Trans unsaturated fatty acids in natural products and processed foods. **Progress Lipid Research**. New york, v. 22, p. 221– 233, 1983.

52. SONNTAG, N.O.V. Structure and composition of fats and oils. In: **Bailey's industrial oil and fat products**. Edited by Daniel Swern. Fourt Edition, v. 1, USA, 1979. 841p.

53. SCREENIVASAN, B. Interesterification of fats. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 55, n. 11, p. 796 - 805, Nov., 1978.

54. THOMAS III, A.E. Shortening formulation and control. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 55, n. 11, p. 830 - 833, Nov., 1978.

55. TIMMS, R.E. Physical properties of oils and mixtures of oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 62, n. 2, p. 241 - 249, Feb., 1985.
56. 3M do Brasil. **Disponable IR Cards 3M :Manual do fabricante**. Type 62 – 100 – 12, São Paulo, 1997.
57. ULBERTH, F.; HAIDER, H. J. Determination of low level trans unsaturation in fats by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Journal of Food Science**. Chicago, v. 57, n. 6, June, p. 1444 – 1447, 1992.
58. VALENZUELA, A.; KING, J.; NIETO, S. Trans fatty acid isomers from hydrogenated fats: The controversy about health implications. **Grasas y Aceites**. Sevilla, v. 46, n. 6, oct., p. 369 – 375, 1995.
59. VOORT, F.R. VAN de; ISMAIL, A.A.; SEDMAN, J. A rapid, automated method for the determination of cis and trans content of fats and oils by Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 72, n. 8, Agt. p. 873 - 880, 1995.
60. WEISS, T. **Food oils and their uses**. Connecticut: The AVI Publishing Company INC, 2ed., 1983. 310p.
61. WILLET, W.C.; STAMPFER, M.J.; MANSON, J.E.; COLDITZ, G.A.; SPEIZER, F.E.; ROSNER, B.A.; SAMPSON, L.A.; HENNEKENS, C.H. Intake of trans fatty acids and risk of coronary heart disease among women. **The Lancet**. London, v. 341, p. 111-113, Mar., 1993.
62. WILLET, C.W.; ASCHERIO, A. Trans fatty acids: are the effects only marginal? **American Journal of Public Health**. New York, v. 84, n. 5, p. 722 - 724, May. 1994.

63. WOLFF, R.L.; BAYARD,C.C. Improvement in the resolution of individual trans-18:1 isomers by capillary gas chromatography: Use of a 100-m CP-Sil 88 column. . **Journal of American Oil Chemists' Society**. Champaign, v. 72, n. 10, p. 1197 - 1201, Oct, 1995.

ANEXO I

(Estudo Interlaboratorial AOCS)

Data Entry Report

7TRANG Sample Number 01
Constituents 1 - 4

ANALYST	C18:1	C18:2	C18:3	TOTAL
002056	23.900000	6.800000	0.300000	31.000000
002077	12.100000 *	5.200000	0.200000	17.500000 *
002120	25.200000	6.400000	0.000000	31.600000
002123	19.100000	7.400000	0.400000	26.900000
002144	19.500000	6.500000	0.400000	26.400000
002146	24.700000	6.700000	0.000000	31.400000
002152	21.300000	6.600000	0.100000	28.600000
002153	18.800000	6.700000	0.000000	25.500000
002163	19.200000	7.900000	0.000000	27.100000
002169	19.500000	7.800000	0.300000	27.600000
002176	23.900000	7.300000	0.200000	31.400000
002197	25.600000	6.700000	0.000000	32.300000
002204	18.600000	7.100000	0.200000	25.900000
002207	24.200000	7.000000	0.200000	31.400000
002214	23.800000	7.200000	0.200000	31.200000
002242	23.900000	7.300000	0.000000	31.200000
002303	24.100000	7.300000	0.000000	31.400000
002311	23.600000	7.100000	0.200000	30.900000
002312	23.900000	7.300000	0.400000	31.600000
002338	19.100000	6.600000	0.100000	25.800000
002437	24.700000	6.500000	0.000000	31.200000
002446	24.600000	6.800000	0.000000	31.400000
002458	23.800000	7.300000	0.200000	31.400000
002465	21.900000	7.000000	0.100000	29.000000
002498	24.100000	7.000000	0.100000	31.200000
002501	63.700000 *	15.300000 *	0.400000	31.900000
002507	23.900000	7.300000	0.300000	31.500000
002667	18.700000	6.500000	0.100000	25.300000
002672	15.900000	33.000000 *	0.000000	48.900000 *
002701	19.600000	7.500000	0.200000	27.300000
002706	21.300000	4.000000	1.100000 *	26.400000
002761	19.700000	6.900000	0.400000	27.000000
002807	22.500000	6.500000	0.000000	29.000000
002823	23.800000	6.400000	0.400000	30.600000
002856	17.200000	6.700000	0.100000	24.000000
002901	18.200000	6.300000	0.200000	24.700000
002929	23.600000	7.500000	0.400000	32.000000
002956	23.300000	7.200000	0.100000	30.500000
002977	24.200000	5.800000	0.200000	30.200000
002991	23.400000	6.600000	0.200000	30.200000
002993	23.800000	7.400000	0.200000	31.400000
002998	19.200000	6.800000	0.400000	26.400000
003006	18.900000	6.800000	0.000000	25.700000
003067	18.300000	7.400000	*****	25.700000
X (Avg)	21.835714	6.835714	0.171429	29.123810
SR (SDev)	2.655764	0.677809	0.145310	2.569883

SMALLER SERIES REPORT

Series Id - 7TRANI Series Name - Trans FATTY ACIDS IR
Sample Number 01

Data Entry Report

Analysts Deviations Report

7TRANI Sample Number 01
Constituents 1 - 1

7TRANI Sample Number 01
Constituents 1 - 1

ANALYST	TOTAL
002152	33.200000
002153	31.800000
002344	9.700000 *
002389	32.000000
002447	31.800000
002670	29.600000
002672	29.400000
002823	33.500000
002929	31.200000
003006	29.900000

X (Avg) 31.377778
SR (SDev) 1.493969

ANALYST	TOTAL
002152	1.219719
002153	0.282618
002344	-14.510189 *
002389	0.416489
002447	0.282618
002670	-1.189969
002672	-1.323841
002823	1.420526
002929	-0.118997
003006	-0.989162

Series Id - 7TRANG Series Name - Trans FATTY ACIDS GC
Sample Number 03

Data Entry Report

7TRANG Sample Number 03
Constituents 1 - 4

ANALYST	C18:1	C18:2	C18:3	TOTAL
002056	6.800000	2.900000	0.400000	10.100000
002064	6.000000	2.500000	0.200000	8.700000
002120	7.100000	2.800000	0.100000	10.000000
002123	5.600000	3.000000	0.400000	9.000000
002144	5.700000	2.800000	1.200000 *	9.700000
002146	7.500000	2.500000	0.000000	10.000000
002152	6.100000	2.800000	0.300000	9.200000
002153	5.600000	2.900000	0.300000	8.800000
002163	5.500000	3.500000	1.100000	10.100000
002169	5.600000	2.800000	0.400000	8.800000
002176	6.800000	3.000000	0.600000	10.400000
002184	5.900000	2.500000	0.200000	8.600000
002197	32.100000 *	2.100000	0.100000	34.300000 *
002207	6.800000	3.100000	0.500000	10.400000
002214	6.800000	2.900000	0.400000	10.100000
002303	7.000000	3.200000	0.000000	10.200000
002311	6.700000	2.700000	0.300000	9.700000
002312	6.800000	3.000000	0.600000	10.400000
002338	5.600000	3.000000	0.200000	8.800000
002422	4.600000	0.800000 *	0.300000	5.700000
002437	5.800000	2.800000	0.400000	9.000000
002446	6.800000	3.000000	0.300000	10.100000
002452	5.300000	*****	*****	5.300000 *
002458	6.900000	2.700000	0.300000	9.900000
002465	6.000000	2.500000	0.200000	8.700000
002498	5.400000	2.400000	0.200000	8.000000
002501	37.600000 *	41.100000 *	4.200000 *	11.100000
002507	6.900000	3.100000	0.500000	10.500000
002667	5.200000	1.200000	0.100000	6.600000
002701	5.600000	3.000000	0.400000	9.000000
002706	6.000000	1.800000	1.200000 *	9.000000
002761	5.600000	2.800000	0.500000	8.900000
002807	6.200000	2.700000	0.200000	9.100000
002823	6.200000	2.900000	0.600000	9.700000
002856	5.000000	2.000000	0.300000	7.300000
002901	4.900000	1.800000	0.300000	7.100000
002929	6.700000	3.200000	0.400000	10.800000
002956	6.500000	3.200000	0.200000	9.900000
002977	6.980000	2.890000	0.230000	10.100000
002991	6.500000	3.000000	0.400000	9.900000
002993	6.600000	3.000000	0.400000	10.000000
002996	6.260000	2.870000	0.000000	9.100000
002998	5.700000	3.000000	0.100000	8.800000
003006	5.400000	2.800000	0.000000	8.200000
003067	5.300000	3.000000	0.300000	8.600000
X (Avg)	6.098605	2.753810	0.310488	9.258140
SR (SDev)	0.697101	0.434864	0.206784	1.121486

Series Id - 7TRANI Series Name - Trans FATTY ACIDS IR
Sample Number 03

Data Entry Report

Analysts Deviations Report

7TRANI Sample Number 03
Constituents 1 - 1

7TRANI Sample Number 03
Constituents 1 - 1

ANALYST	TOTAL
002120	10.500000
002152	11.100000
002153	11.900000
002344	12.800000
002389	18.800000 *
002447	12.500000
002670	10.500000
002672	9.300000
002823	11.100000
002929	10.200000
003006	9.100000
X (Avg)	10.900000
SR (SDev)	1.240967

ANALYST	TOTAL
002120	-0.322329
002152	0.161165
002153	0.805823
002344	1.531064
002389	6.366001 *
002447	1.289317
002670	-0.322329
002672	-1.289317
002823	0.161165
002929	-0.564076
003006	-1.450481

Data Entry Report

7TRANG Sample Number 07
Constituents 1 - 4

ANALYST	C18:1	C18:2	C18:3	TOTAL
002056	17.100000	5.000000	0.200000	22.300000
002064	14.500000	4.300000	0.200000	19.000000
002120	17.600000	4.500000	0.100000	22.200000
002123	13.500000	5.000000	0.200000	18.700000
002144	13.400000	0.300000 *	0.000000	13.700000
002146	17.700000	3.900000	0.300000	21.900000
002152	15.100000	4.900000	0.000000	20.000000
002153	13.000000	4.600000	0.000000	17.600000
002163	13.300000	4.700000	0.000000	17.900000
002169	14.100000	5.500000	0.200000	19.800000
002176	16.800000	4.500000	0.200000	21.500000
002184	14.700000	4.500000	0.200000	19.400000
002197	12.500000	1.700000 *	0.000000	14.200000
002207	16.800000	4.500000	0.100000	21.400000
002214	16.900000	4.500000	0.000000	21.400000
002242	17.100000	5.100000	0.000000	22.200000
002303	17.000000	4.800000	0.000000	21.800000
002312	16.600000	4.700000	0.200000	21.500000
002338	13.800000	4.800000	0.100000	18.700000
002458	17.100000	3.300000	0.000000	20.400000
002465	15.800000	4.700000	0.100000	20.600000
002498	15.700000	5.100000	0.100000	20.900000
002501	17.100000	5.100000	0.200000	22.400000
002667	13.100000	4.200000	0.400000	17.700000
002672	12.800000	11.000000 *	0.700000 *	24.500000
002701	20.000000	7.100000 *	0.200000	27.300000
002706	15.300000	4.500000	0.200000	20.000000
002761	14.200000	4.600000	0.300000	19.100000
002807	15.800000	3.600000	0.010000	19.400000
002823	17.300000	4.800000	0.300000	22.400000
002856	21.600000	4.700000	0.500000	26.800000
002901	15.100000	4.900000	0.200000	20.200000
002929	16.800000	5.100000	0.200000	22.600000
002956	17.000000	4.600000	0.100000	21.700000
002977	15.500000	4.600000	0.200000	20.300000
002991	16.500000	4.400000	0.100000	21.000000
002993	16.900000	4.900000	0.000000	21.900000
002996	13.500000	4.740000	0.000000	18.240000
002998	13.300000	4.800000	0.200000	18.300000
003006	12.900000	4.700000	0.000000	17.600000
003067	15.500000	4.700000	0.000000	20.200000
X (Avg)	15.617073	4.644324	0.132750	20.457073
SR (SDev)	2.007723	0.411532	0.124571	2.623080

Data Entry Report

Analysts Deviations Report

7TRANI Sample Number 07
Constituents 1 - 1

7TRANI Sample Number 07
Constituents 1 - 1

ANALYST	TOTAL
002120	20.600000
002152	22.700000
002153	20.400000
002344	23.700000
002389	22.100000
002447	23.200000
002672	22.400000
002823	23.400000
002929	21.800000
003006	20.600000
X (Avg)	22.090000
SR (SDev)	1.219699

ANALYST	TOTAL
002120	-1.221612
002152	0.500123
002153	-1.385587
002344	1.319997
002389	0.008199
002447	0.910060
002672	0.254161
002823	1.074035
002929	-0.237763
003006	-1.221612

ANEXO II

(Tabelas de cálculos estatísticos)

Amostras Cromatografia Gasosa - Teste t.

Amostras	SP 2340 (A)	CP-Sil 88 (B)	di	(di - D) ²
M 1A	44,13	39,67	4.46	9.7344
M 2B	33,85	31,61	2.24	0.81
M 3C	33,38	34,80	-1.42	7.6176
M 5E	38,61	38,06	0.55	0.6241
R 01	24,92	22,76	2.16	0.6724
R 02	24,59	21,89	2.70	1.8496
R 03	17,98	15,68	2.30	0.9216
R 04	25,05	22,44	2.61	1.6129
R 05	21,03	18,22	2.81	2.1609
R 06	36,27	33,03	3.24	3.61
R 07	41,24	39,91	1.33	0.0001
R 09	22,92	20,49	2.43	1.1881
R 10	11,49	9,58	1.91	0.3249
R 11	38,26	37,85	0.41	0.8649
R 12	37,28	36,21	1.07	0.0729
R 13	27,41	35,47	-8.06	88.36
C 01	38,33	36,69	1.64	0.09
C 02	17,81	21,62	-3.81	26.5225
C 05	30,85	28,43	2.42	1.1664
C 06	38,19	35,81	2.38	1.0816
C 07	27,23	25,55	1.68	0.1156
C 08	39,98	37,48	2.50	1.3456
C 09	34,77	31,41	3.36	4.0804
C 10	19,66	16,86	2.80	2.1316
C 11	33,70	31,63	2.07	0.5329
C 13	15,25	15,36	-0.11	2.1025
C 14	37,54	36,34	1.20	0.019 6
C 15	36,30	35,04	1.26	0.0064
AOCS 1	30,68	28,24	2.44	1.21
AOCS 3	9,03	8,86	0.17	1.3689
AOCS 7	20,39	19,68	0.71	0.3969

$$d_i = A - B$$

$$D = (\sum d_i / 28)$$

$$S_d = [(d_i - D)^2] / g.l.$$

$$t \text{ calculado} = D / (S_d / (n)^{1/2})$$

Para g.l.= 30, Confiança = 95%

t tabelado = 2,042.

t calculado = 3.19.

- Amostras Infravermelho - Teste t.

Amostras	IR-Cela (A)	IR-Cartões (B)	di	$(d_i - D)^2$
M 1A	54,55	51,4	3.15	0.0256
M 2B	32,95	32,4	0.55	7.6176
M 3C	35,20	42,1	-6.90	104.2441
M 5E	40,50	39,8	0.70	6.8121
R 01	26,03	20,6	5.43	4.4944
R 02	24,70	19,1	5.60	5.2441
R 03	20,74	17,8	2.94	0.1369
R 04	29,65	21,9	7.75	19.7136
R 05	22,89	21,5	1.40	3.6519
R 06	40,53	30,4	10.13	46.5124
R 07	48,55	47,0	1.55	3.0976
R 09	21,47	25,0	3.53	0.0484
R 10	9,47	7,5	1.97	1.7956
R 11	44,52	36,4	8.12	23.1321
R 12	43,60	40,0	3.60	0.0841
R 13	53,06	51,5	1.56	3.0625
C 01	43,50	40,4	3.10	0.0441
C 02	25,59	25,1	0.49	7.9524
C 05	34,10	26,4	7.70	19.2721
C 06	42,88	37,2	5.68	5.6169
C 07	27,67	28,6	-0.93	17.9776
C 08	47,27	49,0	-1.73	25.4016
C 09	37,02	24,1	12.92	92.3521
C 10	21,83	22,3	-0.47	14.2884
C 11	38,11	35,8	2.31	1
C 13	18,21	14,9	3.31	0
C 14	42,19	38,9	3.29	0.0004
C 15	42,11	36,3	5.81	6.25
AOCS 1	32,60	-	-	-
AOCS 3	10,82	-	-	-
AOCS 7	22,64	-	-	-

Para g.l. = 27, Confiança = 95%
t tabelado = 2,052,
t calculado = 4.44.

- CG (AOCS) x IR (AOCS) - Teste t.

Amostras	IR-Cela (A)	SP 2340 (B)	di	(di - D) ²
M 1A	54,55	44,13	10,42	40,0689
M 2B	32,95	33,85	-0,9	24,9001
M 3C	35,20	33,38	1,82	5,1529
M 5E	40,50	38,61	1,89	4,84
R 01	26,03	24,92	1,11	8,8804
R 02	24,70	24,59	0,11	15,8404
R 03	20,74	17,98	2,76	1,7689
R 04	29,65	25,05	4,60	0,2601
R 05	22,89	21,03	1,86	4,9729
R 06	40,53	36,27	4,26	0,0289
R 07	48,55	41,24	7,31	10,3684
R 09	21,47	22,92	-1,45	30,6916
R 10	9,47	11,49	-2,02	37,3321
R 11	44,52	38,26	6,26	4,7089
R 12	43,60	37,28	6,32	4,9729
R 13	53,06	27,41	25,65	464,8336
C 01	43,50	38,33	5,17	1,1664
C 02	25,59	17,81	7,78	13,6161
C 05	34,10	30,85	3,25	0,7056
C 06	42,88	38,19	4,69	0,36
C 07	27,67	27,23	0,44	13,3225
C 08	47,27	39,98	7,29	10,24
C 09	37,02	34,77	2,25	3,3856
C 10	21,83	19,66	2,17	3,6864
C 11	38,11	33,70	4,41	0,1024
C 13	18,21	15,25	2,96	1,2769
C 14	42,19	37,54	4,65	0,3136
C 15	42,11	36,30	5,81	2,9584
AOCS 1	32,60	30,68	1,92	4,7089
AOCS 3	10,82	9,03	1,79	5,29
AOCS 7	22,64	20,39	2,25	3,3856

Para g.l. = 30, Confiança = 95%

t tabelado = 2,042.

t calculado = 4,65.

ANEXO III

(Tabelas comparativas dos dados)

- Tabela comparativa entre as duas colunas cromatográficas.

Amostras	SP 2340	CP-Sil 88	Média	Des. Pad.	C. V. (%)
M 1A	44,13	39,67	41,90	3,15	7,52
M 2B	33,85	31,61	32,73	1,58	4,83
M 3C	33,38	34,80	34,09	1,00	2,93
M 5E	38,61	38,06	38,34	0,39	1,02
R 01	24,92	22,76	23,84	1,53	6,42
R 02	24,59	21,89	23,24	1,92	8,26
R 03	17,98	15,68	16,83	1,63	9,69
R 04	25,05	22,44	23,75	1,85	7,79
R 05	21,03	18,22	19,63	1,99	10,14
R 06	36,27	33,03	34,65	2,29	6,61
R 07	41,24	39,91	40,58	0,94	2,32
R 09	22,92	20,49	21,71	1,72	7,92
R 10	11,49	9,58	10,54	1,35	12,81
R 11	38,26	37,85	38,06	0,29	0,76
R 12	37,28	36,21	36,75	0,76	2,07
R 13	27,41	35,47	31,44	5,70	18,13
C 01	38,33	36,69	37,51	1,16	3,09
C 02	17,81	21,62	19,72	2,69	13,64
C 05	30,85	28,43	29,64	1,71	5,77
C 06	38,19	35,81	37,00	1,68	4,54
C 07	27,23	25,55	26,39	1,19	4,51
C 08	39,98	37,48	38,73	1,77	4,57
C 09	34,77	31,41	33,09	2,38	7,19
C 10	19,66	16,86	18,26	1,98	10,84
C 11	33,70	31,63	32,67	1,46	4,47
C 13	15,25	15,36	15,31	0,08	0,52
C 14	37,54	36,34	36,94	0,85	2,30
C 15	36,30	35,04	35,67	0,89	2,50
AOCS 1	30,68	28,24	29,46	1,73	5,87
AOCS 3	9,03	8,86	8,95	0,12	1,34
AOCS 7	20,39	19,68	20,04	0,50	2,50

C.V. – Coeficiente de variação (quociente entre o desvio padrão e a média)

- Tabela comparativa entre as técnicas de espectrofotometria infravermelho.

Amostras	IR-Cela	IR-Cartões	Média	Des. Pad.	C. V. (%)
M 1A	54,55	51,4	52,98	2,23	4,21
M 2B	32,95	32,4	32,68	0,39	1,19
M 3C	35,20	42,1	38,65	4,88	12,63
M 5E	40,50	39,8	40,15	0,49	1,22
R 01	26,03	20,6	23,32	3,84	16,47
R 02	24,70	19,1	21,90	3,96	18,08
R 03	20,74	17,8	19,27	2,08	10,79
R 04	29,65	21,9	25,78	5,48	21,26
R 05	22,89	21,5	22,20	0,98	4,41
R 06	40,53	30,4	35,47	7,16	20,19
R 07	48,55	47,0	47,78	1,10	2,30
R 09	21,47	25,0	23,24	2,50	10,76
R 10	9,47	7,5	8,49	1,39	16,37
R 11	44,52	36,4	40,46	5,74	14,19
R 12	43,60	40,0	41,80	2,55	6,10
R 13	53,06	51,5	52,28	1,10	2,10
C 01	43,50	40,4	41,95	2,19	5,22
C 02	25,59	25,1	25,35	0,35	1,38
C 05	34,10	26,4	30,25	5,44	17,98
C 06	42,88	37,2	40,04	4,02	10,04
C 07	27,67	28,6	28,14	0,66	2,35
C 08	47,27	49,0	48,14	1,22	2,53
C 09	37,02	24,1	30,56	9,14	29,91
C 10	21,83	22,3	22,07	0,33	1,50
C 11	38,11	35,8	36,96	1,63	4,41
C 13	18,21	14,9	16,56	2,34	14,13
C 14	42,19	38,9	40,55	2,33	5,75
C 15	42,11	36,3	39,21	4,11	10,48
AOCS 1	32,60	-	-	-	-
AOCS 3	10,82	-	-	-	-
AOCS 7	22,64	-	-	-	-

C.V. – Coeficiente de variação (quociente entre o desvio padrão e a média)

- Tabela comparativa entre as técnicas: Cromatografia e Espectrofotometria.

Amostras	IR-Cela	SP 2340	Média	Des. Pad.	C. V. (%)
M 1A	54,55	44,13	49,34	7,37	14,93
M 2B	32,95	33,85	33,40	0,64	1,92
M 3C	35,20	33,38	34,29	1,29	3,76
M 5E	40,50	38,61	39,56	1,34	3,39
R 01	26,03	24,92	25,48	0,78	3,06
R 02	24,70	24,59	24,65	0,08	0,32
R 03	20,74	17,98	19,36	1,95	10,07
R 04	29,65	25,05	27,35	3,25	11,88
R 05	22,89	21,03	21,96	1,32	6,01
R 06	40,53	36,27	38,40	3,01	7,84
R 07	48,55	41,24	44,90	5,17	11,51
R 09	21,47	22,92	22,20	1,03	4,64
R 10	9,47	11,49	10,48	1,43	13,65
R 11	44,52	38,26	41,39	4,43	10,70
R 12	43,60	37,28	40,44	4,47	11,05
R 13	53,06	27,41	40,24	18,14	45,08
C 01	43,50	38,33	40,92	3,66	8,94
C 02	25,59	17,81	21,70	5,50	25,35
C 05	34,10	30,85	32,48	2,30	7,08
C 06	42,88	38,19	40,54	3,32	8,19
C 07	27,67	27,23	27,45	0,31	1,13
C 08	47,27	39,98	43,63	5,15	11,80
C 09	37,02	34,77	35,90	1,59	4,43
C 10	21,83	19,66	20,75	1,53	7,37
C 11	38,11	33,70	35,91	3,12	8,69
C 13	18,21	15,25	16,73	2,09	12,49
C 14	42,19	37,54	39,87	3,29	8,25
C 15	42,11	36,30	39,21	4,11	10,48
AOCS 1	32,60	30,68	31,64	1,36	4,30
AOCS 3	10,82	9,03	9,93	1,27	12,79
AOCS 7	22,64	20,39	21,52	1,59	7,39

C.V. – Coeficiente de variação (quociente entre o desvio padrão e a média)

ANEXO IV

(Tabela de resumo dos dados obtidos)

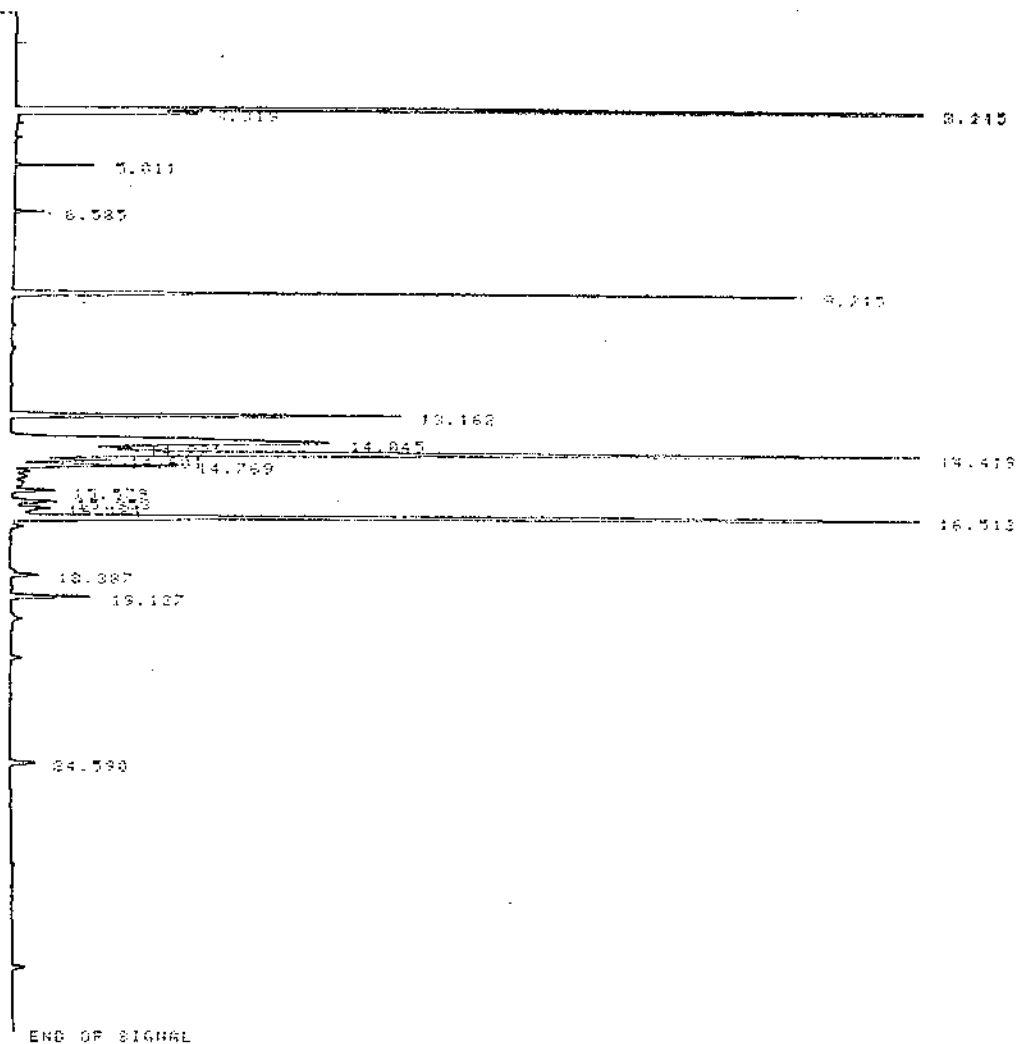
Resumo dos valores de trans totais obtidos nas diferentes técnicas

Amostras	IR-Cela	IR-Cartões	SP 2340	CP-SII 88
M 1A	54,55	51,4	44,13	39,67
M 2B	32,95	32,4	33,85	31,61
M 3C	35,20	42,1	33,38	34,80
M 5E	40,50	39,8	38,61	38,06
R 01	26,03	20,6	24,92	22,76
R 02	24,70	19,1	24,59	21,89
R 03	20,74	17,8	17,98	15,68
R 04	29,65	21,9	25,05	22,44
R 05	22,89	21,5	21,03	18,22
R 06	40,53	30,4	36,27	33,03
R 07	48,55	47,0	41,24	39,91
R 09	21,47	25,0	22,92	20,49
R 10	9,47	7,5	11,49	9,58
R 11	44,52	36,4	38,26	37,85
R 12	43,60	40,0	37,28	36,21
R 13	53,06	51,5	27,41	35,47
C 01	43,50	40,4	38,33	36,69
C 02	25,59	25,1	17,81	21,62
C 05	34,10	26,4	30,85	28,43
C 06	42,88	37,2	38,19	35,81
C 07	27,67	28,6	27,23	25,55
C 08	47,27	49,0	39,98	37,48
C 09	37,02	24,1	34,77	31,41
C 10	21,83	22,3	19,66	16,86
C 11	38,11	35,8	33,70	31,63
C 13	18,21	14,9	15,25	15,36
C 14	42,19	38,9	37,54	36,34
C 15	42,11	36,3	36,30	35,04
AOCS 1	32,60	-	30,68	28,24
AOCS 3	10,82	-	9,03	8,86
AOCS 7	22,64	-	20,39	19,68

ANEXO V

(Cromatogramas)

*AN
 RUN # 9 JAN 11. 1999 14:47:08 R05 - SP2340
 START



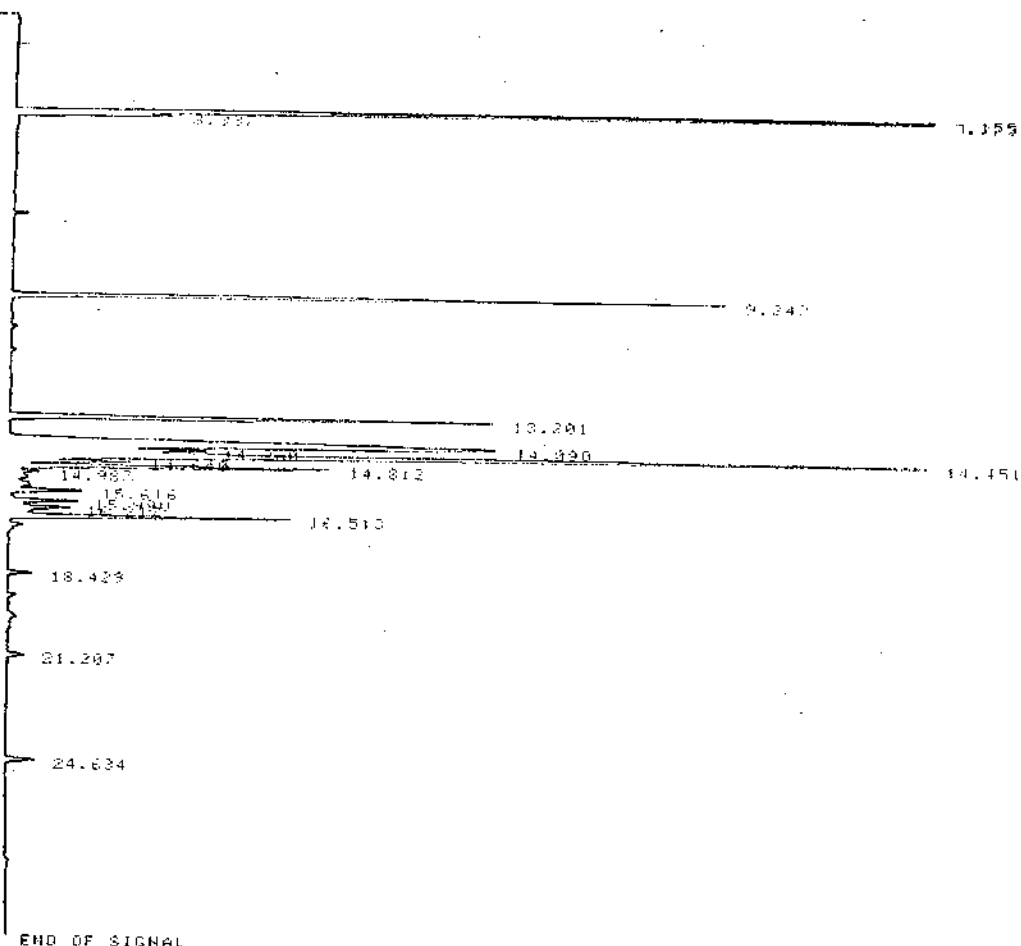
ERROR STOPPING SIGNAL TO M-SIGNAL .BNA
 ATTEMPTED WRITE PAST END OF FILE

RUN# 9 JAN 11. 1999 14:47:08

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA	Solv.
3.145	75858	BV	.021	3.33765	Solv.
3.215	2834894	VV	.024	89.47427	Solv.
5.319	9143	VP	.035	.38857	C 12:0
5.811	1499	PV	.035	.84731	C 14:0
6.585	752	BP	.045	.02373	C 16:0
9.215	28235	FB	.067	.83113	C 18:0
13.162	19079	FB	.092	.60317	C 18:1t
14.045	38287	PV	.026	1.28341	C 18:1t
14.221	5627	VV	.067	.17791	C 18:1c
14.419	67616	VV	.105	2.13488	C 18:1c
14.601	4482	VV	.084	.14146	C 18:1c
14.769	8860	VV	.089	.25489	C 18:1c
15.579	2453	VP	.103	.67743	C 18:2tt
15.953	2759	PV	.111	.68768	C 18:2c,t
16.181	3164	VV	.131	.89486	C 18:2t,c
16.512	59365	VV	.096	1.82366	C 18:2c,c
18.387	1575	VP	.103	.84971	C 20:0
19.137	4334	PV	.180	.13679	C 18:3c,c,c
24.599	1486	BP	.102	.34438	C 22:0

TOTAL AREA=3168399
 MUL FACTOR=1.0000E+00

*AN
 RUN # 5 JAN 11, 1999 11:40:40 C09 - SP 2340
 START



Error storing signal to M:SIGNAL ,BNA
 ATTEMPTED WRITE PAST END OF FILE

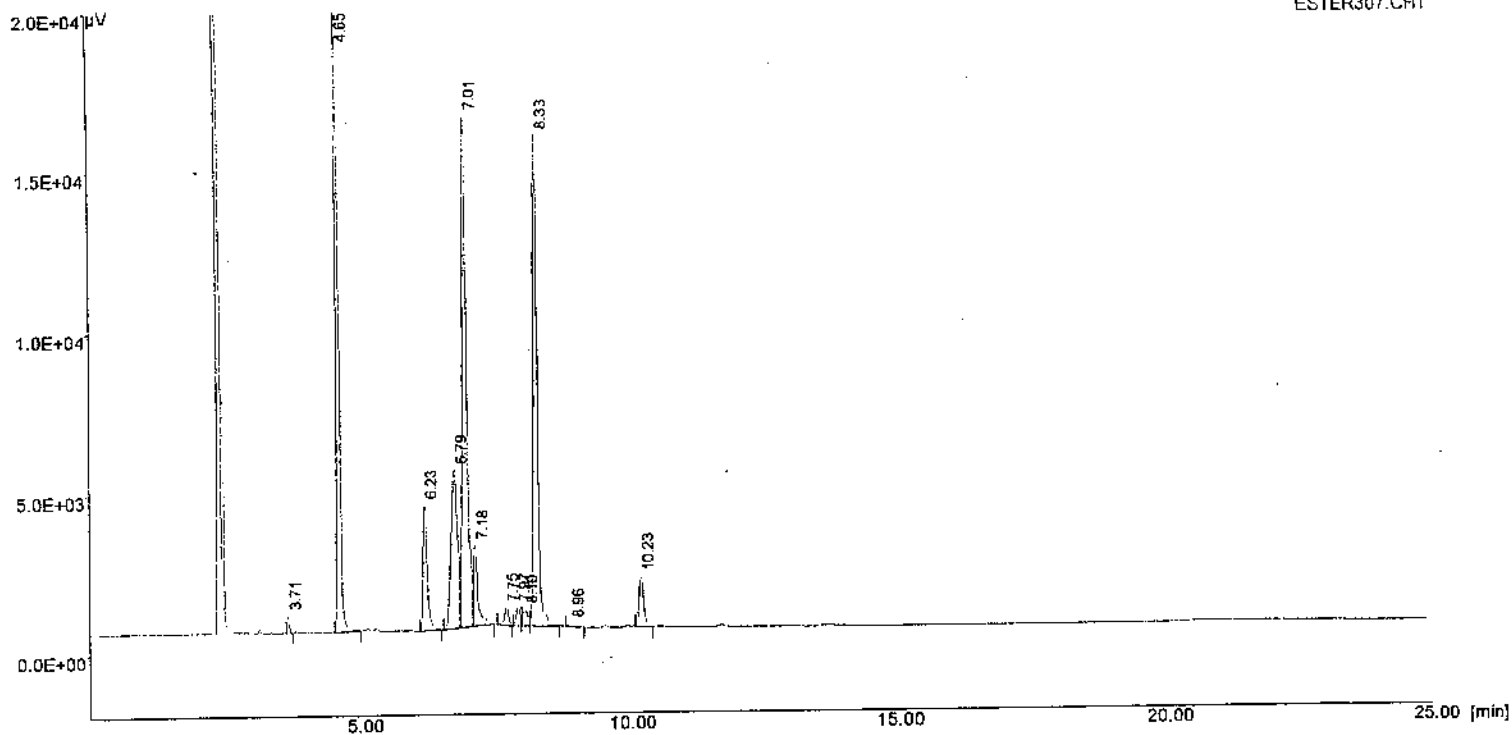
RUN# 5 JAN 11, 1999 11:40:40

WREAS

RT	AREA	TYPE	WIDTH	AREA%	
3.155	290858	PV	.021	8.46684	Solv.
3.225	2909949	VV	.025	84.70819	Solv.
3.237	7963	VV	.007	.23177	Solv.
9.242	25022	PB	.067	.72839	C 16:0
13.201	22630	BP	.090	.65876	C 18:0
14.030	56509	BV	.321	1.64497	C 18:1t
14.260	9454	VV	.003	.27520	C 18:1t
14.451	59923	VV	.110	1.74610	C 18:1c
14.640	5478	VV	.004	.15946	C 18:1c
14.812	14731	VV	.008	.42882	C 18:1c
14.967	1533	VV	.101	.04634	C 18:1c
15.616	4069	VV	.104	.11845	C 18:2t,t
15.990	3911	VV	.106	.11385	C 18:2c,t
16.217	4793	VV	.148	.13949	C 18:2t,c
16.513	14405	VV	.098	.41933	C 18:2c,c
18.429	1268	VP	.101	.03691	C 20:0
21.207	1001	PP	.109	.02914	N.I.
24.634	1648	PP	.107	.04797	C 22:0

TOTAL AREA=3435261

MUL FACTOR=1.0000E+00



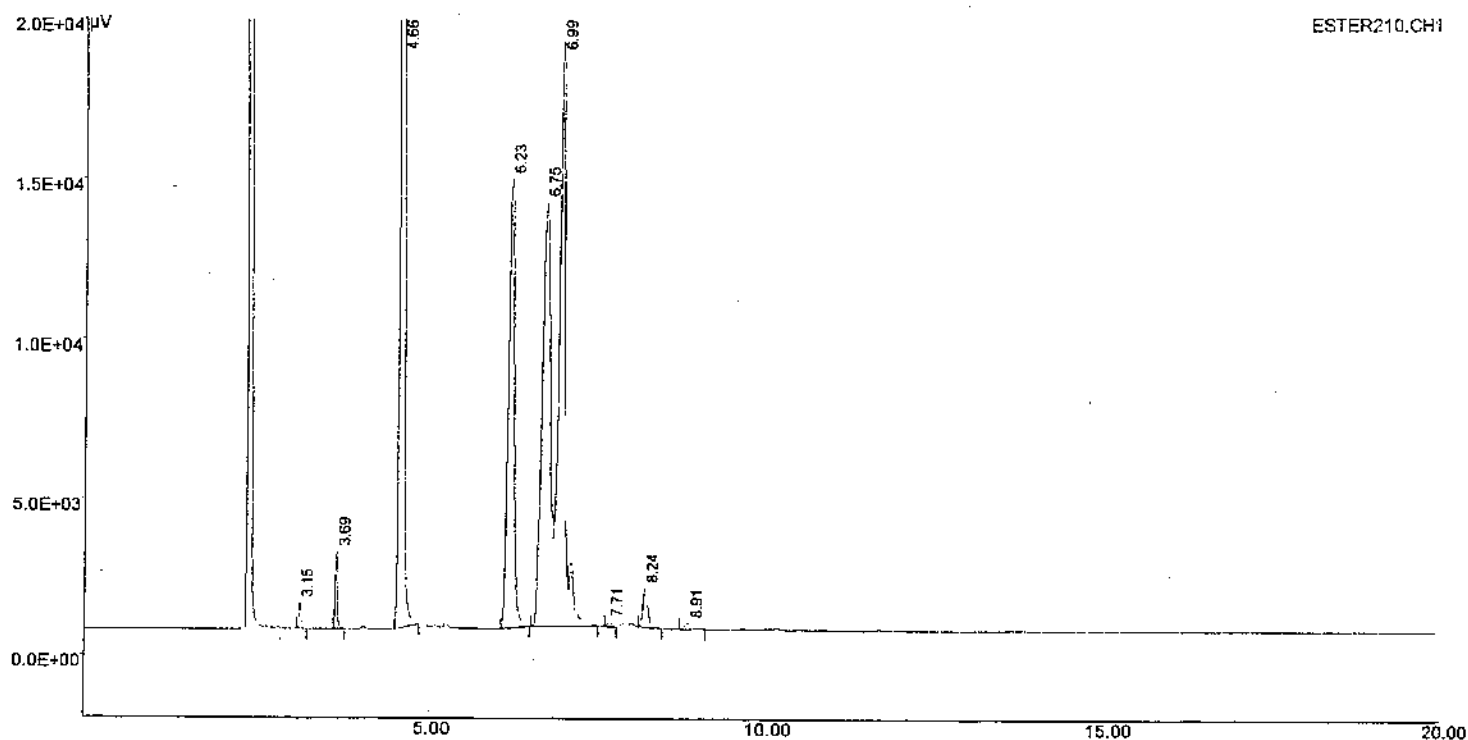
File name : ESTER307.CH1 User : ESTERES Curr. Date : 24-Sep-98 17:17:02

Info :
amostra R 03 VOLUME 0,3ul
split 100ml range 10

Vial # = 1 Rack # = 1

#	Name	Rt	Area	%Area
1	Unknown	3.71	1036.500	0.33
2	Unknown	4.65	64615.000	20.83
3	Unknown	6.23	18854.000	6.08
4	Unknown	6.79	40203.124	12.96
5	Unknown	7.01	81559.465	26.30
6	Unknown	7.18	11311.394	3.65
7	Unknown	7.75	2831.500	0.91
8	Unknown	7.97	2717.553	0.88
9	Unknown	8.10	2888.476	0.93
10	Unknown	8.33	75061.602	24.20
11	Unknown	8.96	747.000	0.24
12	Unknown	10.23	8340.000	2.69

Total Area of Peak = 310165.61



File name : ESTER210.CH1 User : ESTERES Curr. Date : 14-Aug-98 14:30:16

Info :
amostra R 09 vol. 0,50ul
split 100ml range 10

Vial # = 1 Rack # = 1

#	Name	Rt	Area	%Area
1	Unknown	3.15	1243.000	0.23
2	Unknown	3.69	4718.000	0.88
3	Unknown	4.66	220745.500	41.38
4	Unknown	6.23	80273.500	15.05
5	Unknown	6.75	108589.664	20.36
6	Unknown	6.99	108925.634	20.42
7	Unknown	7.71	697.500	0.13
8	Unknown	8.24	6347.500	1.19
9	Unknown	8.91	1923.000	0.36

C 20:0

Total Area of Peak = 533463.30