Cuantificación de ácidos grasos trans por cromatografía de gases en pan blanco e integral de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano

Keila Miriam Díaz Rocha

Honduras
Diciembre, 2005

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Cuantificación de ácidos grasos trans por cromatografía de gases en pan blanco e integral de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Agroindustria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

Keila Miriam Díaz Rocha

Honduras
Diciembre, 2005

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

_____

Keila Miriam Díaz Rocha

Honduras
Diciembre, 2005

Cuantificación de ácidos grasos trans por cromatografía de gases en pan blanco e integral de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano

Presentado por:

Keila Miriam Díaz Rocha

Aprobado:

_____	_____
Francisco J. Bueso, Ph.D. Asesor Principal	Raúl Espinal, Ph.D. Director Carrera de Agroindustria
_____	_____
Edward Moncada, M.A.E. Asesor	George Pilz, Ph.D. Decano Académico
_____	_____
Dina G. Fernández, Ing. Asesor	Kenneth Hoadley, D.B.A. Rector

DEDICATORIA

A Dios.

A mi familia.

A mi novio.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todopoderoso por ser la luz que guía mi camino y por todo el amor que siempre me ha brindado.

A mis queridos padres Miriam Rocha y Francisco Díaz y mis hermanos Maynord Francisco, Gamaliel David y Mildred Deyanire Díaz Rocha por sus consejos, apoyo incondicional, paciencia y amor.

A mis asesores por su tiempo, paciencia, consejos y por la confianza depositada en mí persona.

A la Lic. Melinda Cuellar por su apoyo invaluable.

A mi novio Frank Díaz por su ayuda, apoyo y amor incondicional.

Al personal de laboratorio por su valiosa ayuda.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Al Fondo Dotal de Nicaragua “Arnoldo Alemán” por su apoyo financiero durante mis cuatro años de estudios.

Al Lic. Melinda Cuellar por su apoyo financiero durante el tercer y cuarto año de mis estudios.

RESUMEN

Díaz, K. 2005. Cuantificación de ácidos grasos trans por cromatografía de gases en pan blanco e integral de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano. Proyecto Especial de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria. Zamorano, Honduras. 61p.

Los ácidos grasos trans (AGT) incrementan los niveles de colesterol de baja densidad (LDL) en la sangre, causando enfermedades cardiovasculares. El objetivo de este estudio fue realizar un diagnóstico del contenido de AGT en el pan blanco e integral de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano. A partir de enero del 2006 en Estados Unidos de América será obligatorio declarar la cantidad de AGT en la etiqueta nutricional de los alimentos. Se excluyen los productos que contienen menos de 0.5 g por porción. Las muestras de pan se analizaron en el Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano. Se evaluaron 2 tratamientos: pan blanco e integral, con 3 repeticiones, durante 4 semanas. La extracción de lípidos se realizó por el método Soxhlet (AOAC, 920.39) y la identificación y cuantificación de AGT se realizó por Cromatografía de Gases (AOAC, 996.06). El análisis se realizó en dos etapas: a) Análisis cuantitativo de AGT y b) Comparativo del porcentaje de AGT en pan blanco con relación al integral. Se utilizó la prueba Tukey del Programa SAS® para el análisis estadístico de los datos. En el 100% de las muestras de Pan Blanco e Integral Zamorano se encontró el AGT *trans* 9, *cis* 12 linoleico, que resultó ser significativamente mayor en el pan blanco, 10.64%, ($P<0.05$), comparado con 10.20% en el pan integral. La concentración de AGT en el pan blanco e integral Zamorano fue 0.19 g y 0.22 g por porción de 28.5 g respectivamente, por lo que se pueden declarar en la etiqueta nutricional como libres de AGT. El perfil de ácidos grasos de ambos panes no cambió con la fecha de elaboración de los mismos. Las posibles fuentes de este AGT pueden ser: la margarina y la manteca hidrogenadas.

Palabras clave: Colesterol LDL, enfermedades cardiovasculares, hidrogenación, margarinas, mantecas.

_____

Francisco J. Bueso, Ph.D.

CONTENIDO

	Portadilla	i
	Autoría	ii
	Página de firmas	iii
	Dedicatoria	iv
	Agradecimientos	v
	Agradecimiento a patrocinadores	vi
	Resumen	vii
	Contenido	viii
	Índice de cuadros	x
	Índice de figuras	xi
	Índice de Anexos	xii
1	**INTRODUCCIÓN**	1
1.1	OBJETIVOS	2
1.1.1	General	2
1.1.2	Específicos	2
2	**REVISIÓN DE LITERATURA**	3
2.1	ÁCIDOS GRASOS TRANS	3
2.1.1	Absorción	3
2.1.2	Transporte	3
2.1.3	Metabolismo	4
2.1.4	Fuentes	4
2.1.5	Hidrogenación	4
2.1.6	Efectos en la salud y enfermedades cardiovasculares	5
2.1.7	Etiquetas nutricionales y políticas regulatorias	6
2.1.8	Soluciones para remover los ácidos grasos trans.	7
2.2	CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)	7
2.3	ANTECEDENTES	9
3	**MATERIALES Y MÉTODOS**	11
3.1	LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO	11
3.2	MATERIALES	11
3.3	EQUIPO	11
3.4	DISEÑO EXPERIMENTAL	12
3.5	MUESTREO	12

3.6	EXTRACCIÓN Y MÉTODO CROMATOGRÁFICO	12
3.6.1	Preparación de las muestras	13
3.6.2	Preparación de los estándares de AGT.	13
3.6.3	Preparación de ingredientes que aportan AG: aceite de palma, manteca y margarina.	14
3.6.4	Leche.	14
3.6.5	Margarina 0 trans.	15
3.7	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	15
4	**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**	17
4.1	ANÁLISIS CUANTITATIVO DE ÁCIDOS GRASOS TRANS	17
4.1.1	Identificación de AGT	17
4.1.2	Identificación de AG en las materias primas para la elaboración del pan blanco e integral Zamorano.	18
4.2	ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE TRATAMIENTOS	23
5	**CONCLUSIONES**	26
6	**RECOMENDACIONES**	27
7	**BIBLIOGRAFÍA**	28
8	**ANEXOS**	30

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		
1.	Formulación para la elaboración de 15 unidades de pan blanco e integral en la Planta de Procesamiento de Granos	9
2.	Perfil de ácidos grasos del aceite de palma.....	10
3.	Distribución de muestreos en el tiempo.....	12
4.	Porcentaje de grasa por muestras de pan blanco e integral.....	17
5.	Perfil de ácidos grasos de margarina 80% de grasa.....	18
6.	Perfil de ácidos grasos de manteca	19
7.	Perfil de ácidos grasos de leche semidescremada al 2% de grasa	20
8.	Perfil de ácidos grasos del pan blanco 6.41% de grasa.....	21
9.	Perfil de ácidos grasos del pan integral 7.69% de grasa.....	22
10.	Comparación del perfil de ácidos grasos del pan blanco e integral.....	24

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1. Configuraciones de los ácidos grasos 1

2. Cambio en la proteína de alta densidad (HDL): LDL, concentración de colesterol con el incremento del consumo de AG saturados y AGT 6

3. Preparación de muestras para el análisis de AGT en el pan. 16

4. Cromatograma del pan blanco 23

5. Cromatograma del pan integral..... 24

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		
1.	Ejemplo de una etiqueta nutricional que declara la cantidad de AGT que contiene	31
2.	Flujo de proceso para la elaboración de margarina a partir de aceite de palma	32
3.	Flujo de proceso para la elaboración de manteca a partir de aceite de palma	33
4.	Cromatograma del estándar de RM5	34
5.	Cromatograma del estándar de RM6	35
6.	Cromatograma del estándar de ácido trans 9 elaídico	36
7.	Cromatograma del estándar de ácido linoleico	37
8.	Cromatograma del estándar de ácido linolénico	38
9.	Perfil de AG de margarina elaborada a partir de aceite de palma	39
10.	Perfil de AG de manteca elaborada a partir de aceite de palma	40
11.	Perfil de AG de leche semidescremada al 2% de grasa	41
12.	Cromatograma del pan blanco	42
13.	Perfil de AG de pan blanco 5.7% de grasa	43
14.	Cromatograma del pan integral	44
15.	Perfil de AG de pan integral 5.9% de grasa	45
16.	Análisis de varianza en SAS® para pan blanco	46
17.	Análisis de varianza en SAS® para pan integral	47
18.	Perfil de ácidos grasos en las muestras analizadas	48

1. INTRODUCCIÓN

La Oficina para la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés, 2005), afirma que los ácidos grasos (AG) son los ácidos carboxílicos que contienen desde 4 átomos de carbono, con una sola función ácido. Los Ácidos Grasos Trans (AGT) son moléculas de AG insaturados que tienen por lo menos un doble enlace entre los átomos de carbono, con las moléculas de hidrógeno en diferentes lados de la cadena (Figura 1). Por su configuración son menos susceptibles a oxidación que los AG en forma *cis*. Los AGT se forman cuando los aceites vegetales son hidrogenados.

Figura 1. Configuraciones de los ácidos grasos. Fuente: Meza (2005)

En el Centro de Evaluación de Alimentos (CEA) no existe un método para la extracción y cuantificación de AGT en los alimentos. En la actualidad ningún laboratorio en Centroamérica ofrece este servicio. Meza (2005) asevera que a partir de enero del 2006 será obligatorio en los Estados Unidos de América (EUA) reportar en la etiqueta nutricional la cantidad de AGT que poseen los alimentos. Esto debido a que existe evidencia científica de que el consumo de grasas saturadas, AGT y el colesterol elevan los niveles de lipoproteína de baja densidad (LDL o colesterol malo), que aumentan el riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV), una de las principales causas de muerte en EUA.

La fuente más común de AGT son los aceites vegetales parcialmente hidrogenados, las margarinas y las mantecas. En forma natural se encuentran en la carne de res, cordero y leche (Meza, 2005).

Este estudio permitirá al CEA ser el primer laboratorio en Honduras en tener la capacidad de determinar la presencia de AGT en los alimentos, para que los fabricantes puedan declararlos en la etiqueta nutricional, cumpliendo así con las regulaciones de la FDA. Como resultado se generarán ganancias para el CEA. Este análisis tiene un precio por muestra de 160 dólares en EUA, que varía dependiendo de la matriz del alimento (Hogg, 2005). Los resultados del análisis proveerán información para que los consumidores cuiden su salud.

Las principales limitantes de este estudio fueron: la producción actual variable y en baja escala de la Planta de Procesamiento de Granos y el poco tiempo disponible para realizar el estudio.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. General

Extraer y cuantificar ácidos grasos trans en pan blanco e integral Zamorano utilizando cromatografía de gases (CG).

1.1.2. Específicos

Cuantificar grasa total en pan blanco e integral utilizando CG.

Cuantificar grasa insaturada en pan blanco e integral utilizando CG.

Comparar el porcentaje de AGT en el pan blanco con relación al integral.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ÁCIDOS GRASOS TRANS

La FDA (2005) define químicamente a los AGT como: todos los AG insaturados que contienen uno o más dobles enlaces en la configuración *trans* (significa a través en latín). Por su configuración son menos susceptibles a los radicales libres que los AG en forma *cis*, iniciadores de la auto oxidación. La configuración del doble enlace *trans* da lugar a un ángulo mayor en el enlace que la configuración *cis*. Esto da lugar a una cadena carbonada de AG más extendida similar a la de los AG saturados. La conformación del doble enlace impacta directamente en las propiedades físicas de los AGT, es capaz de empacar o encerrar a la cadena de carbonos acil, resultando en una disminución de la movilidad, por lo tanto la fluidez se reduce en comparación con el doble enlace *cis*.

Kulp & Loewe (1992) plantean que los AG en forma *cis* son más comunes en los alimentos. De acuerdo a Bunge (2005) los AGT proveen de 2 a 4% del total de calorías comparado con el 12% de las grasas saturadas y 34% del total de la grasa en la dieta Americana.

2.1.1. Absorción

Lupton y Brooks (2005) afirman que el coeficiente de absorción del ácido elaídico (trans 9 C18:1), es aproximadamente del 95%, similar a los otros AG. Estudios en humanos utilizando triacilglicéridos puros conteniendo isómeros desaturados *cis* y *trans* del ácido octadecanoico con diferentes puntos de derretimiento y doble posición, sugieren que la presencia del doble enlace *trans* en la cadena de los carbonos acil de la grasa no tiene ningún efecto medible en la eficiencia de la absorción.

2.1.2. Transporte

Los AGT son transportados en forma similar que los otros AG de la dieta y son distribuidos dentro del éster colesteril, triacilglicerol y fracciones de fosfolípidos de las lipoproteínas. Las plaquetas también contienen AGT y su composición refleja el consumo de AGT, así como los otros tejidos, con excepción del cerebro (Lupton y Brooks (2005).

2.1.3. Metabolismo

De acuerdo a Lupton y Brooks (2005), los isómeros *trans* inhiben la desaturación de ácido linolénico y α linolénico a ácido araquidónico y ácido decahexaenoico (DHA, por sus siglas en inglés), respectivamente. Estudios en animales han sugerido que los efectos deteriorativos observados al consumir gran cantidad de AGT, no se presentan en los niveles normales de la dieta, que contienen suficiente cantidad de ácido linoleico. Recientemente la atención se ha centrado en validar el uso del contenido adiposo de AGT como medida de ingestión dietética a largo plazo. La correlación positiva entre AGT de las fuentes vegetales más que en las fuentes animales se debe a las diferentes tasas de metabolismo de los isómeros trans. Los AGT son complemente catabolizados a CO_2 y agua.

2.1.4. Fuentes

Según Meza (2005), de manera natural encontramos AGT en: carne de res, leche y en muy pequeñas cantidades, en algunas semillas y vegetales de hoja verde. La fuente más común de AGT son las margarinas y las mantecas y todos los productos que contienen aceites vegetales parcialmente hidrogenados por ejemplo: galletitas, tortas, alfajores, pasteles, alimentos fritos (buñuelos y papas fritas), etc. La grasa de res y la mantequilla contienen de 3 a 10% de AGT. La grasa de la leche es una mezcla compleja que contiene más de 500 isómeros de AG, incluso el 1 al 5 de la energía total está en forma de AGT.

Según el departamento de Agricultura y ganadería de los Estados Unidos (USDA, 2005), el contenido de AGT, por tamaño de porción, en mantequilla es 0.40 g, carnes 0.11 g, margarinas y mantecas vegetales, que han sido sometidas a hidrogenación, es 3.04 g y 2.54 g respectivamente.

Según Bunge (2005), las margarinas varían en su contenido de AGT, desde 0 hasta 18%, dependiendo de su nivel de hidrogenación. Las margarinas en barras poseen menos contenido de AGT que las margarinas untables o las mantecas (9%, 14% y 26% de AGT, respectivamente). Estudios recientes afirman que el consumo de AGT en EUA varía entre 2.6 a 12.8 g/día.

2.1.5. Hidrogenación

Según Lupton y Brooks (2005), la hidrogenación consiste en la adición de un hidrógeno a cada uno de los dos carbonos que se encuentran formando el doble enlace, produciendo un enlace simple. Los aceites vegetales son líquidos a temperatura ambiente y sus átomos de hidrógenos situados en los dobles enlaces se encuentran en el mismo lado de cadena carbonada (configuración *cis*), estos se hidrogenan para hacerlos más sólidos, porque se trabaja mejor con grasas sólidas. En la producción de pan, las grasas sólidas permiten que se forme una capa crujiente en la parte de arriba del pan, mientras que las grasas líquidas no forman la capa y el pan queda grasiento y desmenuzable.

Lupton y Brooks (2005), afirman que la hidrogenación parcial de los aceites poliinsaturados causa la isomerización de algunos dobles enlaces y la migración del resto, incrementando de esta manera el contenido de AGT y el endurecimiento de las grasas. La hidrogenación de aceites como el de maíz resulta en la formación de los enlaces *cis* y *trans* en cualquier posición entre el carbono 4 y el carbono 18. El ácido *trans* 9 elaídico (*trans* 9 C18:1), es uno de los principales isómeros *trans* producidos durante la hidrogenación industrial de aceites comestibles, pero pequeñas cantidades de otros AGT (*cis* 12, *trans* 9 C18:2; *cis* 9, *trans* 12 C18:2) son producidos. En adición a estos isómeros la grasa de la leche y la carne contienen *trans* 9 C16:1, *trans* 11 C18:1 y dienos conjugados (*cis* 9, t*rans* 11 C18:2), este último tiene un efecto benéfico en la salud: inhibe el cáncer de mama, reduce la grasa corporal, aumenta la masa muscular y mejora la respuesta inmune. Los aceites vegetales parcialmente hidrogenados, que poseen una monoinsaturación, tienden a tener un contenido más alto de AGT.

Las grasas vegetales se empezaron a hidrogenar para sustituir las grasas animales, que son saturadas y contienen colesterol. Las grasas hidrogenadas tienen las siguientes ventajas: aumentan la vida útil y la estabilidad del sabor de los alimentos y son más baratas que las grasas animales. Por esas razones los AGT generados durante la hidrogenación no eran importantes hasta que estudios recientes han demostrado que aumentan la concentración de la LDL, que se relaciona con las ECV. La hidrogenación industrial de los aceites vegetales resulta en la destrucción de los ácidos grasos esenciales: omega 6 y 3 (United Soy Bean Borrad, 2005).

2.1.6. Efectos en la salud y enfermedades cardiovasculares

Lupton y Brooks (2005), afirman que los estudios epidemiológicos realizados en la población de EUA indican que el consumo de AGT representa el mayor factor de riesgo de ECV. Un estudio prospectivo realizado con 82 mujeres, durante 14 años, indican que el riesgo relativo de desarrollar ECV, fue aproximadamente el doble por cada 2% de incremento en el consumo de energía proveniente de AGT (es decir, incrementar de 1 a 3% el consumo de energía total). Estos estudios son muy variables comparados con la población del resto del mundo, dado que el consumo de AGT en EUA es muy alto. Sin embargo cuando se compararon condiciones similares de consumo, se encontró que existe un mayor factor de riesgo de desarrollar ECV consumiendo AGT que con grasas saturadas. Por ejemplo por cada 5% de consumo de energía de grasas saturadas incrementa el riesgo en 17%, mientras que por cada 2% de incremento en energía de AGT incrementa el riesgo en 93%.

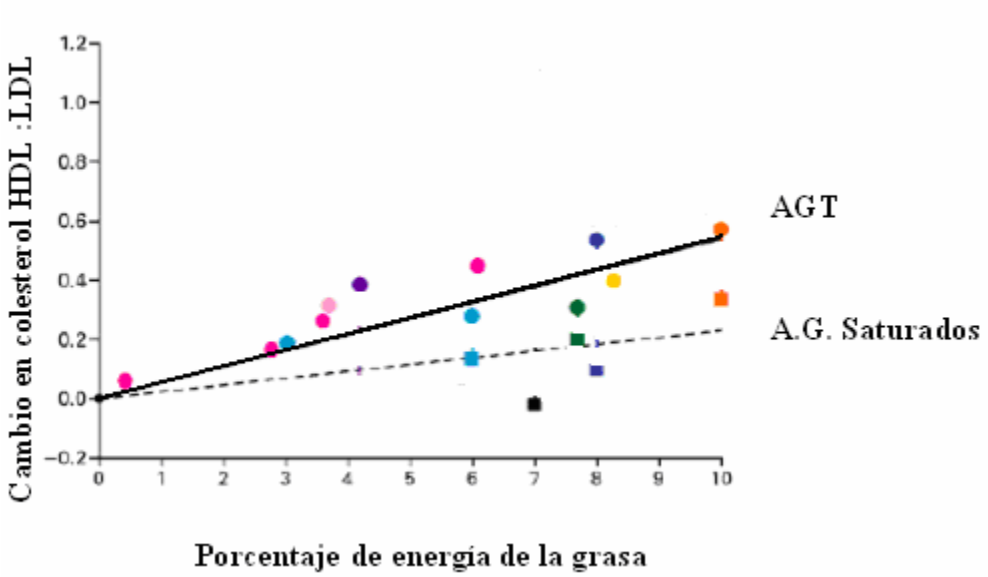


Figura 2: Cambio en la proteína de alta densidad (HDL): LDL, concentración de colesterol con el incremento del consumo de AG saturados y AGT. Fuente: Lupton y Brooks (2005).

Los AGT aceleran el cambio de HDL en LDL más que los AG saturados a medida aumenta el porcentaje de grasa de los alimentos (Figura 2). La línea perfectamente definida representa la mejor regresión para los AGT. La línea punteada representa la mejor regresión para los AG saturados.

De acuerdo con el USDA (2005), más de 12.5 millones de norteamericanos padecen ECV y más de 500,000 mueren anualmente. Esto hace de la ECV una de las causas principales de muerte en los EUA hoy en día.

2.1.7. Etiquetas nutricionales y políticas regulatorias

La FDA (2005) requiere que el colesterol dietético y las grasas saturadas sean declarados en la etiqueta nutricional de los alimentos desde 1993. Al agregar los AGT en la tabla de información nutricional de la etiqueta (Anexo 1), obligatorio a partir del 1 de enero de 2006, el consumidor podrá conocer la cantidad de grasas saturadas, AGT y colesterol que contienen los alimentos que han escogido. Esta información es necesaria para que el consumidor tome decisiones adecuadas de compra para la reducción del riesgo de ECV, a favor de su salud. En la actualidad no existe un requisito medio estimado, o un permiso dietético recomendado para los AGT. La regulación establecida es muy rigurosa en cuanto a la cantidad máxima que se debe establecer para ser considerado “Libre de AGT”, menos de 0.5 g por porción del alimento.

Los aceites parcialmente hidrogenados, las mantecas y margarinas vegetales son muy utilizados en comidas rápidas y procesadas. Imparten la solidez deseada y además no son

susceptibles a la oxidación, propiciando así una vida de anaquel más larga. Los productos ricos en AGT contienen en las etiquetas mensajes como: libres de colesterol, bajos en grasa, y libres de grasa animal, los cuales son atractivos para el consumidor (FDA, 2005).

2.1.8. Soluciones para remover los ácidos grasos trans

"United Soybean Borrad" (USB, por sus siglas en inglés, 2005) plantea las posibles alternativas a la hidrogenación para eliminar los AGT del aceite de soya. Dentro de las posibles soluciones están:

- Interestificación tradicional
- Interestificación enzimática
- Mezclas de aceites tradicionales con fracciones de aceites que contienen niveles bajos o nulos de AGT.
- Aceites tropicales como el de palma, que poseen porcentajes considerables de AG saturados y poliinsaturados. Estos son utilizados para la producción de margarinas y mantecas sin AGT (Anexo 2 y 3).

2.2. CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG)

De acuerdo con la Asociación Oficial para los Análisis Químicos (AOAC, por sus siglas en inglés, 1995), los métodos más adecuados y aceptados por la comunidad científica para la cuantificación de AGT en alimentos son: Cromatografía de Gases (CG) y Espectroscopia Infrarroja (IRS, por sus siglas en inglés).

De acuerdo a Nielsen (1994), el CG es muy utilizado debido a las características de resolución excepcionales del método y a la amplia variedad de detectores que pueden ser utilizados. Estos proveen sensibilidad o selección en el análisis. La preparación de la muestra generalmente incluye el aislamiento de los solutos de los alimentos por destilación, cromatografía preparativa (incluyendo la extracción de la fase sólida) o extracción líquido – líquido. Algunos solutos se pueden analizar directamente. El CG consiste de una fuente de gas y reguladores (control de flujo y presión), puerto de inyección, columna, horno, detectores y sistema de procesamiento y almacenamiento de datos. Es necesario optimizar el flujo del gas y el perfil de temperaturas durante la separación. El conocimiento de las características de los componentes del CG y el entendimiento de la teoría básica de cromatografía son esenciales para balancear las propiedades de resolución, capacidad, velocidad y sensibilidad.

Agilent (2005) afirma que las columnas de 30 m de longitud se utilizan en la mayoría de los análisis de alimentos, las columnas de 50, 60 y 105 m se emplean en el análisis de muestras complejas. Para el análisis de AG *cis* y *trans* se utilizan las columnas:

- DB-23 de 60 m, 0.25 mm, 0.25 µm La fase estacionaria está compuesta de 50% cianopropil, 50% metilpolisiloxano, posee alta polaridad y fue diseñada para la

separación de ésteres metílicos de AG. Genera una excelente separación de los isómeros *cis* y *trans* y provee una excelente separación de los AG omega 3.

- HP 88 de 100 m x 0.25 mm ID x 0.2 µm. La fase estacionaria está compuesta por 50% cianopropil, 50% metilarilpolisiloxano, el aril soporta temperaturas más altas. Proporciona una mejor resolución en la separación de los isómeros *cis* y *trans* que la columna anterior.

Existen 7 tipos de detectores:

- Ionización de llama (FID, por sus siglas en inglés)
- Capturador de electrones (ECD, por sus siglas en inglés)
- Capturador de electrones de microcélulas (µECD, por sus siglas en inglés)
- Nitrógeno-fósforo (NPD, por sus siglas en inglés)
- Conductividad térmica (TC, por sus siglas en inglés)
- Llama fotométrica (FPD, por sus siglas en inglés)
- Fotoionización (PID, por sus siglas en inglés)

El FID es utilizado en el análisis de compuestos orgánicos. Los compuestos que eluyen de la columna son quemados bajo una llama de hidrógeno y se les aplica un potencial de 300 voltios. La corriente en la llama es proporcional a los iones orgánicos presentes en la combustión de los compuestos orgánicos. El flujo de la corriente es grabado y amplificado. El FID responde a los compuestos orgánicos sobre su base de peso (Agilent, 2005).

Nielsen (1994) afirma que el éxito del análisis en CG depende del método de extracción de los compuestos y de las condiciones de operación de equipo. Para el análisis de AGT la AOAC recomienda utilizar el método 996.06, para muestras complejas, pero existen alimentos en que la extracción es más fácil, por ejemplo las mantecas, solamente se necesita derretir la muestra y derivatizar (ligar un grupo metilo) los AG, esto con el propósito de hacerlos más volátiles y asegurar que todos se quemen. Para dicho propósito se utiliza metanol grado HPLC, hidróxido de sodio (KOH) y sulfato de sodio (Na_2SO_4).

2.3. ANTECEDENTES

En la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano se elabora pan molde blanco e integral (Cuadro 1). En la actualidad estos no poseen etiqueta nutricional, siendo esta una desventaja para el consumidor porque no conoce los nutrientes, ni la cantidad de estos que está ingiriendo.

Cuadro 1. Formulación para la elaboración de 15 unidades de pan blanco e integral en la Planta de Procesamiento de Granos.

Ingredientes	Integral (kg)	Blanco (kg)
Harina Integral	3.18	-
Harina fuerte	4.77	7.45
Levadura	0.09	0.08
Sal	0.64	0.17
Azúcar	0.16	0.64
Margarina	0.64	0.49
Manteca	0.23	0.23
Leche (Litros)	2.14	2.14
Propionato	0.02	0.01

Fuente: registros de la Planta de Procesamiento de Granos (2005).

El proveedor de la Planta de Procesamiento de Granos, utiliza aceite de palma para la elaboración de margarinas y mantecas. En el cuadro 2 se presenta el perfil de AG del aceite de palma. Posee 47.09% de AG saturados y 52.91% insaturados, de los cuales 42.5% pertenece a un monoinsaturado (ácido oleico) y 10.4% a un poliinsaturado (ácido linoleico). Los ingredientes que poseen AGT son margarina, leche y manteca. Se utilizan 0.23 kg de manteca vegetal en 30 unidades de pan para engrase de los moldes.

Cuadro 2. Perfil de ácidos grasos del aceite de palma.

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g/porción de 4.3 g
Saturados			
Mirístico	C14:0	1.06	0.05
Palmítico	C16:0	41.05	1.77
Esteárico	C18:0	4.98	0.21
Monoinsaturados			
Oleico	C18:1	42.53	1.83
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	10.38	0.45

CIRANDA, 2005

En la actualidad no se ha realizado ningún estudio para la cuantificación de AGT en ninguno de los productos fabricados en Zamorano. Dados los riesgos que presenta el consumo de AGT para la salud es necesario realizar el diagnóstico para tener informada a la población y evitar el riesgo de ECV. Zamorano como una institución educativa debe estar actualizado en las regulaciones dictadas por las instituciones relacionadas con los alimentos. En los productos que presenten AGT se debe buscar nuevas formulaciones.

Según la FDA (2005) el valor diario (VD) recomendado para el consumo total de grasa es menos de 65 g, que representan el 30% de una dieta basada en la ingesta de 2000 Cal diarias. De grasa saturada es 20 g que representa el 10%. Según CIRANDA (2005), una porción de aceite de palma de 4.3 g (Cuadro 2), aporta 4.3 g de grasa total que representan el 6.61% del VD. De grasa saturada aporta 2.02 g, es decir 10.1% del VD. No se presentaron AGT.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El muestreo se realizó en la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano y los análisis se realizaron en el Centro de Evaluación de Alimentos de Zamorano, ubicados en el valle del Yeguare, Departamento de Francisco Morazán, Honduras.

3.2. MATERIALES

- Cristalería de laboratorio
- Columna DB – 23 de 60 m, 0.25 mm, 0.25 µm, Agilent®
- Estándar de ésteres metílicos de ácidos grasos:
  - 46903 Trans-9- elaídico metil éster Supelco®
  - 47792 Ácido linolénico metil éster Supelco®
  - 47791 Ácido linoleico metil éster Supelco®
  - RM6 Supelco®
  - RM5 Supelco®
- Filtros whatman de 18.5 cm
- Jeringa 10 µl, graduación 0.1 µl
- Muestra: 40 g de pan blanco
- Muestra: 40 g de pan integral
- Nitrógeno conteniendo <10 mg O_2/kg
- Solventes: hidróxido de potasio, sulfato de potasio, metanol, hexano, éter de petróleo
- Tamiz US #20

3.3. EQUIPO

- Balanza Denver Instrument®
- Cromatógrafo de gases GC system Agilent® Serie 6890
- Centrífuga IEC Model K
- Detector de ionización de llama (FID) Agilent®
- Hornos NAPCO Modelo 630 y Fisher Scientific®
- Molino Thomas Wiley Laboratory Mill® Modelo 4
- Soxhlet LABCONCO®
- Tanque de nitrógeno
- Vortex Genic 2™

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se estableció un diseño de bloques completos al azar (BCA) donde los bloques fueron los días de muestreo. Se evaluaron 2 tipos de pan: blanco e integral, con 3 repeticiones, se realizaron 4 muestreos y en total se analizaron 24 unidades experimentales (Cuadro 3).

Cuadro 3. Distribución de muestreos en el tiempo.

Fechas	**Junio**						
	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
01/06/2005			X				
08/06/2005	X						
15/06/2005		X					
22/06/2005					X		

3.5. MUESTREO

Se realizó un muestreo por semana durante 4 semanas, en el mes de junio. La toma de muestras se realizó así:

- 1 barra (0.81 kg) de pan blanco.
- 1 barra (0.81 kg) de pan integral.

3.6. EXTRACCIÓN Y MÉTODO CROMATOGRÁFICO

Para la preparación de las muestras de pan, se extrajo la grasa por Método Soxhlet (AOAC, 920.39) y el método cromatográfico 996.06 de la AOAC. Luego se acondicionaron las muestras para su inyección en el CG.

Las condiciones del método fueron:

- Fase estacionaria: Columna DB – 23 de 60 m, 0.25 mm, 0.25 µm, Agilent®
- Fase móvil (gas de acarreo) N_2
- Split
- Flujo: 35 ml/min
- Horno: rampas de temperatura empezando en 40 ºC,1 min, 25 ºC/min hasta 150 ºC, 1.30 ºC/min hasta 200 ºC, 20 min
- Detector con llama de ionización a 210 ºC
- Inyector: 250 ºC
- Temperatura de la columna: 260 ºC +/- 10ºC

3.6.1. Preparación de las muestras

Pasos para la extracción de los AG de la muestra pan, y su acondicionamiento para su inyección en el CG (Figura 3).

1. La muestra de 100 g de pan se secó durante 8 hr, se molió y se hizo pasar por un tamiz US #20.
2. Se envolvió la muestra en un papel filtro de 18.5 cm de diámetro y se selló.
3. Se colocaron las muestras en el Soxhlet®, se agregó el éter de petróleo, el cual se vaporizó en un frasco de condensado, entró en contacto con la muestra y fluyó de nuevo en el frasco de ebullición. Se dejó circular hasta que el éter de petróleo presentó un color amarillento. Esto indicó que se habían extraido todos los AG de la muestra de pan.
4. Se tomaron 4 gotas de la muestra de AG extraídos del pan y se colocaron en un tubo de ensayo, se adicionaron 0.8 ml de hexano y 0.5 ml de KOH (solución en metanol 2 M, se disolvió 5.6 g de KOH en 50 ml de metanol grado HPLC). Se agitaron durante 8 min en el vortex y se dejó reposar por 10 min.
5. Se tomaron 0.3 ml de la fase con hexano y se diluyó con 4 ml de hexano, luego se agregó 1 g de sulfato de sodio. Se agitó y se dejó reposar nuevamente durante 10 min.
6. Se revisaron las condiciones de operación del CG.
7. Se inyectó 1 µl de la muestra y se realizó la corrida por 62.86 min.
8. Se calculó la concentración de AG en porcentaje, se eliminaron los picos de hexano y se sumaron solamente los picos que corresponden a AG.
9. Se identificaron los AG, presentes en el cromatograma, con base en los estándares.

3.6.2. Preparación de los estándares de AGT

1. Solución estándares:
    - Trans-9- elaídico metil éster 10 mg por ml de heptano
    - Ácido linolénico metil éster 10 mg por ml de cloruro de metileno
    - Ácido linoleico metil éster 10 mg por ml de cloruro de metileno
    - RM6 1 mg por ml de hexano
    - RM5 1 mg por ml de hexano
2. Se revisaron las condiciones de operación del GC.
3. Se inyectó 1 µl directamente del estándar y se realizó la corrida.
4. Se identificaron los picos de los AG y AGT, presentes en los cromatogramas estándares, con base en el orden y tiempo de elución en la hoja de referencia del fabricante.

3.6.3. Preparación de ingredientes que aportan AG: aceite de palma, manteca y margarina

1. Se colocó el aceite de palma, manteca y margarina, por separado, en el horno Fisher Scientific® a 105 °C por 5 min hasta que toda la muestra se tornó líquida.
2. Se tomaron 4 gotas de la muestra de aceite de palma, manteca y margarina, y se colocaron en diferentes tubos de ensayo, se adicionaron 0.8 ml de hexano y 0.5 ml de KOH (solución en metanol 2 M), a cada tubo. Se agitaron durante 8 min en el vortex y se dejó reposar por 10 min.
3. Se tomó 0.3 ml de la fase con hexano y se diluyó con 4 ml de hexano, luego se agregó 1 g de sulfato de sodio, a cada tubo de ensayo. Se agitaron y se dejaron reposar nuevamente durante 10 min. Y se colocaron en diferentes viales.
4. Se siguió el mismo procedimiento a partir del paso 6 del procedimiento de preparación de las muestras de pan.

3.6.4. Leche

1. Se colocó 1 l de leche en el Horno NAPCO Modelo 630 a 80°C durante 24 hr
2. Se centrifugó durante 40 min a 4000 rpm.
3. Se separó el sobrenadante.
4. Se adicionó el éter de petróleo y se mezcló, hasta que se observó que se tornó amarillo y se decantó.
5. Se colocó en el horno Fisher Scientific® a 105°C hasta que se evaporó el éter de petróleo.
6. Se tomaron 4 gotas de la muestra de AG extraídos de la leche al 2% de grasa y se colocaron en un tubo de ensayo, se adicionaron 0.8 ml de hexano y 0.5 ml de KOH (solución en metanol 2 M). Se agitaron durante 8 min en el vortex y se dejaron reposar por 10 min.
7. Se tomaron 0.3 ml de la fase con hexano y se diluyó con 4 ml de hexano, luego se agregó 1 g de sulfato de sodio. Se agitó y se dejó reposar nuevamente durante 10 min. Y se colocó en un vial.
8. Se siguió el mismo procedimiento a partir del paso 6 del procedimiento de preparación de las muestras de pan.

3.6.5. Margarina 0 trans

1. Se colocó la margarina 0 trans en el Horno NAPCO Modelo 630 a 60°C durante 24 hr.
2. Se centrifugó durante 30 min a 4000 rpm. Se separó el sobrenadante.
3. Se adicionó el éter de petróleo y se mezcló, hasta que se observó que se tornó amarillo y se decantó.
4. Se colocó en el horno Fisher Scientific® a 105°C hasta que se evaporó el éter de petróleo.
5. Se tomaron 4 gotas de la muestra de AG extraídos de la leche al 2% de grasa y se colocaron en un tubo de ensayo, se adicionaron 0.8 ml de hexano y 0.5 ml de KOH (solución en metanol 2 M). Se agitaron durante 8 min en el vortex y se dejaron reposar por 10 min.
6. Se tomaron 0.3 ml de la fase con hexano y se diluyó con 4 ml de hexano, luego se agregó 1 g de sulfato de sodio, se agitó y se dejó reposar nuevamente durante 10 min. Y se colocó en un vial.
7. Se siguió el mismo procedimiento a partir del paso 6 del procedimiento de preparación de las muestras de pan.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio se realizó en 2 etapas:

a) Análisis cuantitativo de AGT.
b) Comparación del porcentaje de AGT del pan blanco con relación al pan integral.

Hipótesis nula: el porcentaje de AGT en el pan blanco es igual al pan integral.

Hipótesis alterna: el porcentaje de AGT en pan blanco es diferente al pan integral.

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA, por sus siglas en inglés), para evaluar si existían o no diferencias en el porcentaje de AGT. La separación de medias se realizó por la prueba Tukey, con 5% de significancia ($P<0.05$), para obtener una confiabilidad de los datos del 95%. El análisis estadístico se realizó por medio del programa estadístico "Statistical Analysis System" (SAS® v8.02, 2001).

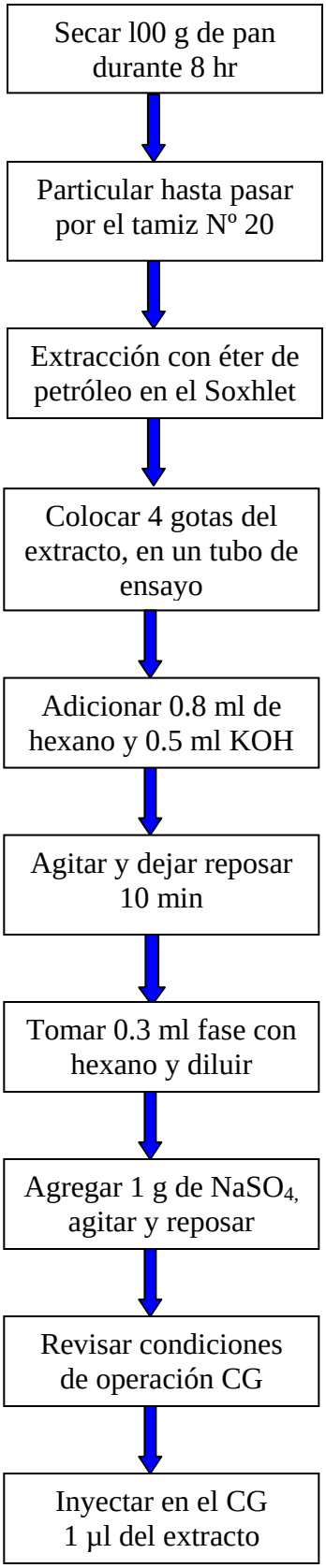


Figura 3. Preparación de muestras para el análisis de AGT en el pan.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS CUANTITATIVO DE ÁCIDOS GRASOS TRANS

En el cuadro 4 se puede observar los porcentajes de grasa por cada muestra de pan blanco e integral que se obtuvieron por el método Soxhlet (AOAC, 920.39).

Cuadro 4. Porcentaje de grasa por muestras de pan blanco e integral*

Día de Muestreo	% de Grasa**	
	Integral	Pan Blanco
04-jun-05	7.71[a]	6.50[b]
06-jun-05	7.69[a]	6.45[b]
13-jun-05	7.77[a]	6.51[b]
20-jun-05	7.61[a]	6.18[c]

*Promedios con distinta letra en cada columna son estadísticamente diferentes (P<0.05).
**Promedio de tres muestras.

El porcentaje de grasa del pan integral varió entre 7.71% y 7.61% (Cuadro 4). No existió diferencia estadística significativa en el porcentaje de grasa en las 4 semanas. El porcentaje de grasa del pan integral no cambió con la fecha de elaboración. Se obtuvo un promedio de 7.69% +/- 0.08. El método usado fue adecuado (%CV=1).

El porcentaje de grasa del pan blanco varió entre 6.18% y 6.5% (Cuadro 4). Existió diferencia significativa (P<0.05) entre las primeras tres semanas y la cuarta semana, siendo menor el porcentaje en la semana cuatro (6.18%). Se obtuvo un promedio de 6.41% +/- 0.14. El método usado fue adecuado (coeficiente de variación %CV=2).

En general el proceso es estable. Se mantiene el porcentaje de grasa en ambos panes.

4.1.1. Identificación de AGT

En los anexos 4, 5, 6, 7 y 8 se pueden observar los cromatogramas obtenidos de los estándares RM5, RM6 y los ésteres metílicos de AG *trans*-9- elaídico, linoleico y linolénico, respectivamente.

Los picos eluyeron de acuerdo al número de carbonos, primero los de cadena corta: el grado de instauración, primero los más saturados; y la configuración geométrica, primero los isómeros *trans* y luego los *cis*.

El AG más común presente en los alimentos, el *trans*-9- elaídico, eluyó a los 45.65 min. En el caso del estándar de ácido linoleico, eluyeron 4 picos, que corresponden a todas las combinaciones geométricas posibles. El primer AG en eluir fue el *trans* 9, *trans* 12 C18:2, a los 47.3 min y el último fue el *cis* 9, *cis* 12 C18:2, a los 48.8 min. En todos los cromatogramas se obtuvo una excelente separación. Para la mezcla del ácido linolénico, el primer AG en el eluir fue el *trans* 9, *trans* 12, *trans* 15 C18:3, a los 49.8 min y el último el *cis* 9, *cis* 12, *cis* 15 C18:3, a los 52.7 min.

4.1.2. Identificación de AG en las materias primas para la elaboración del pan blanco e integral Zamorano

Cuadro 5. Perfil de ácidos grasos de margarina 80% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g/porción de 4.3 g
Saturados			
Laúrico	C12:0	23.94	0.82
Mirístico	C14:0	0.96	0.03
Palmítico	C16:0	32.54	1.12
Esteárico	C18:0	7.98	0.27
Monoinsaturados			
Oleico	C18:1	29.69	1.02
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	4.90	29.68

Se identificaron y cuantificaron seis AG en las muestras de margarina, con base en los cromatogramas de los estándares. Cuatro fueron saturados, presentes en un 65.41%, un monoinsaturado (29.68%), el ácido oleico y un poliinsaturado, el ácido linoleico (4.89%) (Cuadro 5). Una porción de margarina de 4.3 g (80% de grasa), aportó 3.44 g de grasa total que representan el 5.3% del VD. De grasa saturada aporta 2.2 g, es decir 3.38% del VD. No se presentaron AGT.

El perfil de AG del aceite de palma analizado no varió con respecto al perfil propuesto por CIRANDA (Cuadro 2). Eluyó un AG más, el ácido láurico. Las concentraciones, en porcentajes, variaron, pero se mantuvieron los principales AG como: el ácido palmítico (C16:0), 32.53% y el ácido oleico (C18:1), 29.68%. Se comparó el perfil de AG de las margarinas con el propuesto por la USDA (Anexo 9), se encontraron diferencias entre

ambos perfiles. Las variaciones pueden ser causadas por: la variedad, tipo de suelo, época de cosecha, método de extracción y mezclas voluntarias o involuntarias con otros aceites.

Cuadro 6. Perfil de ácidos grasos de manteca

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g/porción de 13.6 g
Saturados			
Laúrico	C12:0	1.04	0.14
Mirístico	C14:0	1.35	0.18
Palmítico	C16:0	44.63	6.07
Esteárico	C18:0	5.79	0.79
Monoinsaturados			
Oleico	C18:1	37.45	5.09
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	9.73	1.32

Se identificaron y cuantificaron seis AG en las muestras de manteca (Cuadro 6). Cuatro fueron saturados, presentes en un 52.81%, un monoinsaturado, el ácido oleico 37.45% y un poliinsaturado, el ácido linoleico 9.73%. Una porción de manteca de 13.6 g aportó 13.6 g de grasa total que representan el 20.9% del VD. De grasa saturada aporta 7.1 g, es decir 10.92% del VD. No se encontraron AGT.

El perfil de AG de la manteca concuerda con la literatura ya que los porcentajes de AG varían muy poco. La forma de elución y los AG principales, los de mayor porcentaje: palmítico y oleico, se mantienen (Anexo 10).

Cuadro 7. Perfil de ácidos grasos de leche semidescremada al 2% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g/porción 1 oz fluida (30.5 g)
Saturados			
Butírico*	C4:0	0.60	0.004
Caproico*	C6:0	0.62	0.004
Caprílico	C8:0	0.47	0.003
Cáprico	C10:0	1.15	0.007
Laúrico	C12:0	2.28	0.014
Mirístico	C14:0	7.63	0.047
Palmítico	C16:0	34.34	0.210
Esteárico	C18:0	14.68	0.090
Trans			
Tr 11 Vacénico	tr 11 C18:1	2.11	0.013
Monoinsaturados			
Palmitoleico	C16:1	1.40	0.009
Oleico	C18:1	31.94	0.195
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	2.77	0.017

*Ácidos grasos de cadena corta

Se identificaron y cuantificaron doce AG en las muestras de leche, ocho fueron saturados presentes en un 61.78% y 4 insaturados, presentes en un 38.21%. Estos se distribuyen de la siguiente manera: dos monoinsaturados 33.34%, un poliinsaturado 2.77% y el ácido *trans* 11 vacénico (*trans* 11, C18:1) presente en un 2.11% (Cuadro 7). Para la identificación del ácido vacénico no se contaba con un estándar específico, pero se identificó con base en la literatura y los tiempos de elución de los demás estándares. Este AGT es el ácido vacénico. Según Lupton y Brooks (2005) en el cuerpo humano el ácido vacénico se convierte, por la acción de enzima 9 desaturasa, al ácido linoleico conjugado *cis* 9, *trans* 11 C18:2 (CLA, por sus siglas en inglés). Este AGT tiene un efecto benéfico en la salud: disminuye el colesterol LDL y aumenta el HDL, lo que resulta en una disminución de las ECV, inhibe el cáncer de mama, reduce la grasa corporal, aumenta la masa muscular y mejora la respuesta inmunológica.

Una porción de leche semidescremada de 30.5 g (1 oz fluida) (Cuadro 7), aportó 0.61 g de grasa total que representan el 0.93% del VD. De grasa saturada aporta 0.37 g, es decir 0.56% del VD. Se encontraron diferencias entre el perfil de la leche analizada y la literatura (Anexo 11).

Cuadro 8. Perfil de ácidos grasos del pan blanco 6.41% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	% *	Semanas				g/porción (28.5 g)
			1	2	3	4	
Saturados							
Láurico	C12:0	0.90	0.89	0.93	0.93	0.83	0.02
Mirístico	C14:0	2.74	2.83	2.65	2.63	2.86	0.05
Palmítico	C16:0	39.57	39.48	39.73	39.87	39.21	0.72
Esteárico	C18:0	11.07	11.41	10.76	11.01	11.08	0.20
Trans							
Tr 9, cis 12 Linoleico	tr 9, cis 12 C18:2	10.65	10.65	10.94	9.96	11.05	0.19
Monoinsaturados							
Oleico	C18:1	35.08	34.75	34.99	35.61	34.97	0.64

*Promedio de 12 muestras

Se identificaron y cuantificaron seis AG en las muestras de grasa extraida del pan blanco, cuatro de los cuales fueron saturados, presentes en un 54.27%. Los AG Insaturados (45.73%), estos se distribuyeron en un monoinsaturado 35.04% y un AGT el *trans* 9, *cis* 12 linoleico (10.65%) (Cuadro 8).

El perfil de AG mostró que el AG más abundante en el pan blanco es el ácido palmítico (C16:0), con una concentración de 39.57%, debido a que se utiliza aceite de palma para la elaboración de las materias primas.

Los AG no cambiaron a través del tiempo ($P>0.05$). Durante las 4 semanas presentó el mismo perfil de AG con concentraciones parecidas (Anexo 12).

Se calculó la cantidad en g y el porcentaje que aporta del VD, con base en una dieta de 2000 Cal, que aporta una porción de pan blanco. Una porción de pan blanco de 28.5 g, aportó 1.82 g de grasa total que representan el 2.8% del VD. De grasa saturada aportó 0.83 g, es decir 4.15% del VD y aportó 0.19 g de AGT, por lo que en la etiqueta nutricional se puede declarar como libre de AGT, de acuerdo con la FDA. Se tienen que consumir 36 porciones de pan blanco, en un día, para cumplir con el valor diario correspondiente a grasa total. El perfil de AG del pan blanco varió en relación con el perfil propuesto por la USDA (Anexo 13), se supone que dicha variación se debió a las diferencias en materias primas que se utilizaron para la elaboración.

Cuadro 9. Perfil de ácidos grasos del pan integral 7.69% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	% *	Semanas 1	2	3	4	g/porción (28.5 g)
Saturados							
Láurico	C12:0	0.91	0.84	0.94	0.99	0.86	0.02
Mirístico	C14:0	2.62	2.53	2.68	2.66	2.60	0.06
Palmítico	C16:0	39.81	40.22	39.35	40.22	39.43	0.87
Esteárico	C18:0	11.23	12.12	11.01	10.62	11.16	0.25
Trans							
Tr 9, cis 12 Linoleico	Tr 9, cis 12 C18:2	10.21	10.36	10.33	10.06	10.07	0.22
Monoinsaturados							
Oleico	C18:1	35.24	33.92	35.70	35.45	35.88	0.77

*Promedio de 12 muestras

Se identificaron y cuantificaron seis AG en las muestras de grasa extraida del pan integral, cuatro de los cuales fueron saturados presentes en un 54.56% y dos insaturados (45.44%). Estos se dividen así: un monoinsaturado (oleico, 35.24%) y un AGT (el *trans* 9, *cis* 12 linoleico, 10.21%) (Cuadro 9).

El perfil de AG mostró que el AG más abundante en el pan integral fue el ácido palmítico (C16:0), con una concentración de 39.81%. El perfil de AG no cambió con la fecha de elaboración del pan ($P>0.05$), fue el mismo (Anexo 14).

Una porción de pan integral de 28.5 g, aportó 2.19 g de grasa total que representan el 3.37% del VD con base en una dieta de 2000 Cal. De grasa saturada aportó 1.20 g, es decir 6% del VD. De AGT aportó 0.22 g, por lo que en la etiqueta nutricional se puede declarar como libre de AGT. De acuerdo con la FDA, se tienen que consumir 30 porciones de pan integral Zamorano en un día para cumplir con el VD correspondiente a grasa total. El perfil de AG del pan integral varió en relación con el perfil propuesto por la USDA (Anexo 15), se supone que dicha variación se debió a las diferencias en materias primas que se utilizaron para la elaboración.

4.2. ANÁLISIS COMPARATIVO ENTRE TRATAMIENTOS

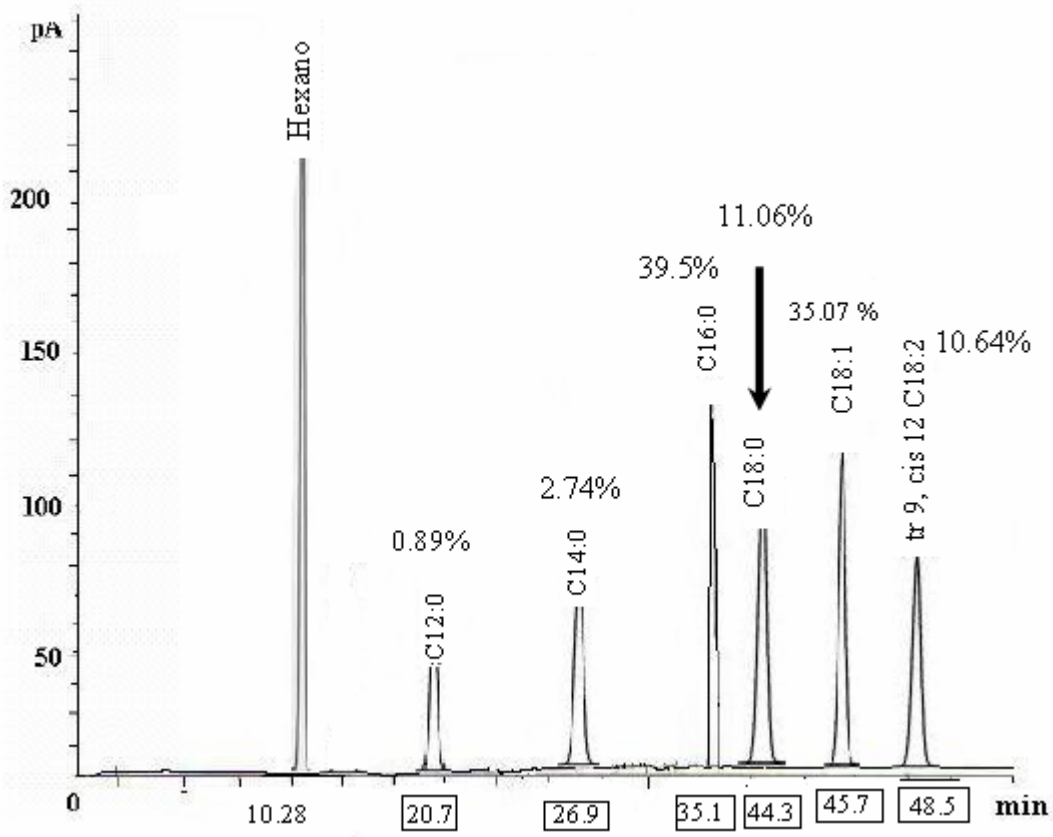


Figura 4.Cromatograma del pan blanco.

En la figura 4 se pueden observar los tiempos y el orden de elución de cada uno de los AG que se encuentran en el pan blanco. El orden de elución depende del número de carbonos y el grado de instauración, primero eluyó el solvente hexano de cadena corta y saturado, luego el ácido láurico (C12:0), que eluyó a los 20.7 min y por último el ácido *trans* 9, *cis* 12 linoleico (10.64%), eluyó a los 48.5 min.

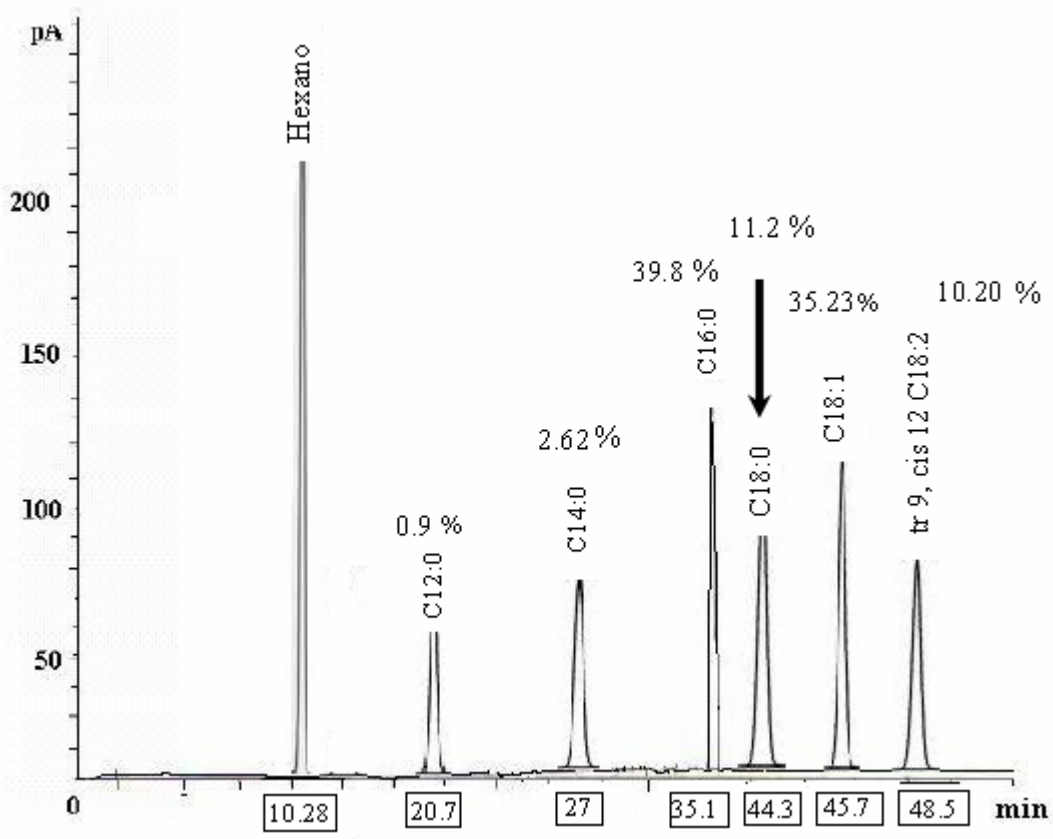


Figura 5.Cromatograma del pan integral

En la figura 5 se pueden observar los tiempos y el orden de elución de cada uno de los AG que se encuentran en el pan integral. Primero eluyó el hexano, luego el ácido láurico (C12:0) que eluyó a los 20.7 min y por último el ácido *trans* 9, *cis* 12 linoleico (10.64%), eluyó a los 48.5 min.

Cuadro 10. Comparación del perfil de ácidos grasos del pan blanco e integral*

Ácidos Grasos	**Pan**	
	Blanco	**Integral**
C12:0	0.90[a]	0.91[a]
C14:0	2.74[a]	2.62[a]
C16:0	39.57[a]	39.81[a]
C18:0	11.07[a]	11.23[a]
C18:1	35.08[a]	35.24[a]
t9,c12 C18:2	10.65[a]	10.20[b]

*Promedios con distinta letra en cada fila son estadísticamente diferentes (P<0.05).

Los tiempos de elución no cambiaron con relación al pan blanco (P>0.05), los mismos seis AG se presentaron en ambos panes. El pan blanco resultó tener un porcentaje significativamente mayor del ácido *trans* 9, *cis* 12 linoleico (10.64%) que el pan integral, resultó tener un mayor porcentaje en el pan blanco (Cuadro 10). El método usado fue el adecuado dado que los coeficientes de variación fueron relativamente bajos, adecuados para las condiciones de laboratorio (Anexo 16 y 17).

Tanto el pan blanco como el integral difieren de las materias primas utilizadas para su elaboración. En ambos panes eluyó el *trans* 9, *cis* 12 linoleico a los 48.58 min y en el estándar de ácido linoleico a los 48.66 min. No se puede explicar con certeza por qué no eluyó este AGT en las materias primas, pero se descarta:

- Error experimental, porque la variabilidad en el perfil de AG entre las muestras de pan blanco e integral es muy baja (CV=0.49%). En el anexo 18 se pueden observar los perfiles de AG obtenidos para cada una de las unidades experimentales analizadas. En las margarinas y mantecas se extrajo el 100% de la grasa porque solamente se derritieron las muestras y se realizó el proceso de derivatización.

- Se descarta error del cromatógrafo porque no hay variabilidad en las muestras, el AGT *trans* 9, *cis* 12 linoleico eluye al mismo minuto en todas y cada una de las muestras, el minuto 48.58.

- No puede ser un cambio en los AGT por acción de las temperaturas de horneado porque según Nutriinfo (2005), el calentamiento del aceite de palma durante 2 horas a 240ºC produce 0.3% de AGT y en las muestras de ambos panes se presenta en 10.42%.

- Se supone que hubo variabilidad en las materias primas del proveedor, pudieron haber usado mezclas de aceite de palma con otro aceite hidrogenado. No se tiene la certeza del perfil original de las materias primas porque no se realizaron muestreos de la misma materia prima utilizada para la elaboración de ambos panes de cada día. El análisis de las materias primas se realizó como un estudio adicional para determinar cuales AG, presentes en la materia prima, son comunes con el producto terminado.

5. CONCLUSIONES

- El perfil de ácidos grasos del pan blanco e integral fue el mismo en las 4 semanas de evaluación.

- No se detectaron AGT en las muestras de manteca y margarina usadas para elaborar pan Zamorano.

- Se detectó el ácido t*rans* 11 vacénico (C18:1) en la leche descremada al 2% de grasa, con una concentración de 2.14%.

- La concentración de AGT (*trans* 9, *cis* 12 C18:2) en el pan blanco e integral Zamorano fue 0.19 g y 0.22 g por porción de 28.5 g respectivamente, por lo que se pueden declarar en la etiqueta nutricional como libres de AGT.

- Una porción de pan blanco (28.5 g) aportó 1.82 g de grasa total (2.8% VD). De grasa saturada aportó 0.83 g (4.15% VD).

- Una porción de pan integral aportó 2.19 g de grasa total (3.37% VD). De grasa saturada aportó 1.20 g (6% VD).

6. RECOMENDACIONES

- Desarrollar los métodos para extraer y cuantificar ácidos grasos trans para todos los productos fabricados en Zamorano.

- Realizar análisis de las materias primas de origen de cada uno de los productos fabricados en Zamorano con el mismo número de repeticiones que el producto y del mismo lote utilizado en la fabricación del producto.

- Realizar una comparación de este estudio con la producción normal de la Planta de Procesamiento de Granos de Zamorano para determinar si existe variabilidad significativa en el perfil de ácidos grasos de ambos panes.

- Utilizar hidrógeno como gas de arrastre para disminuir el tiempo de corrida de los análisis e incrementar la resolución de separación de los AGT.

7. BIBLIOGRAFÍA

Agilent. 2005. Chromatography (en línea). Consultado el 10 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.chem.agilent.com/Scripts/PDS.asp?lPage=14671

AOAC. 1995. Methods of determination of Total Trans Fatty Acid Isomers in Margarines. Official Methods of Analytical Chemists. 15 ed. V. USA.

Bunge. 2005. Ácidos grasos trans (en línea). Consultado el 19 de mayo de 2005. Disponible en: www.bunge.com/industry-information/trans-fatty-acids.html

CIRANDA. 2005. Trans Fat Free Oil Product (en línea). Consultado el 10 de septiembre de 2005. Disponible en: http://www.ciranda.com/organicpalmfruitoils.htm

FDA. 2005. Trans Fat Proponed Rule (en línea). Consultado el 20 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.cfsan.fda.gov/~dms/qatrans.html

Hogg. 2005. New FDA Trans Fat Regulation (en línea). Consultado el 19 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.southerntesting.com/TransFat.html.

IMACE. 2005. Margarine Process (en línea). Consultado el 15 de septiembre de 2005. Disponible en: http://www.imace.org/margarine/history.htm

Kulp. & Loewe. 1992. Manufacturing of Shortenings. Batter and Breadings in food processing. Minnesota, USA. Edit. American Association of Cereal Chemist. 275 p.

Lupton y Brooks. 2005. Dietary Reference Intakes for Trans Fatty Acids (en línea). Consultado el 16 de Julio de 2005. Disponible en: http://www.iom.edu

Meza. 2005. Nuevas Regulaciones en el Etiquetado de Alimentos (en línea). Consultado el 17 de mayo de 2005. Disponible en: http://infoagro.net/comercio/ etiquetas.pdf.

Nielsen. 1994. Gas Chromatography. Introduction of Chemical Analysis of Foods. Edit. Chapman & Hall. 530 p.

Nutriinfo. 2005. Cambio en Porcentaje de Ácidos Grasos Trans por Acción del Calor (en línea). Consultado el 20 de mayo de 2005. Disponible en: www.nutrinfo.com.ar

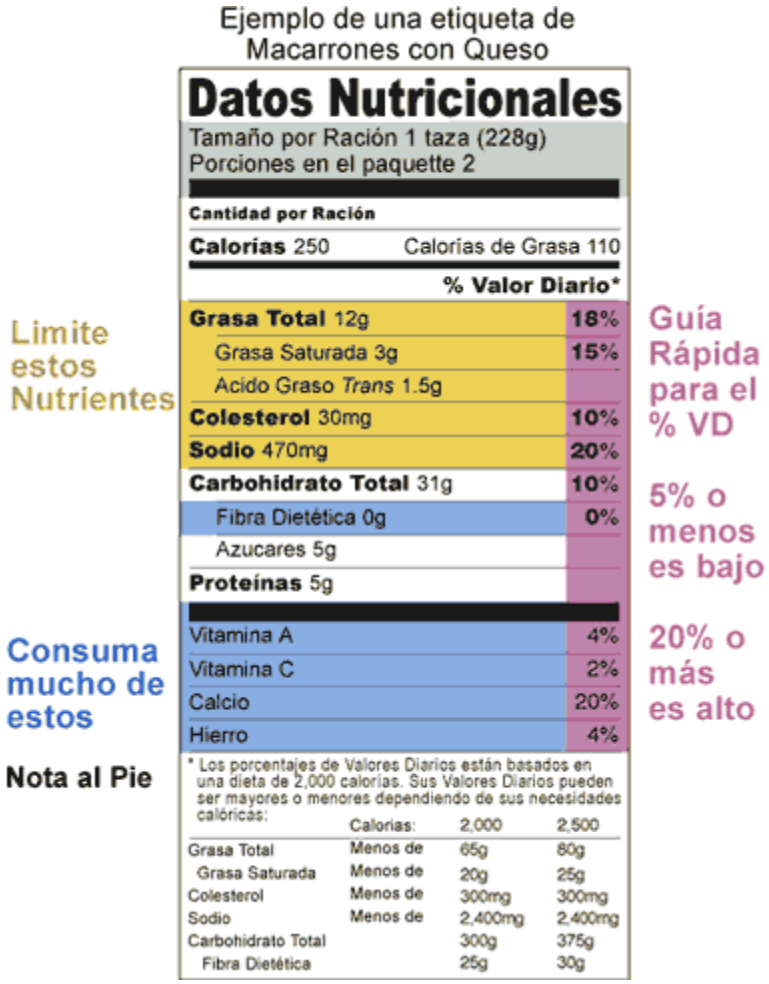
SAS®. 2001. User's guide Statistical Analysis Institute Inc. Carey. N.C.

United Soy Bean Borrad. 2005. Trans Fat Solutions (en línea). Consultado el 5 de septiembre de 2005. Disponible en: http://www.foodprocessing.com

USDA. 2005. Trans Fat Nutrition Labeling (en línea). Consultado el 15 de septiembre de 2005. Disponible en: http://www.cfsan.fda.gov/~dms/qatrans2.html

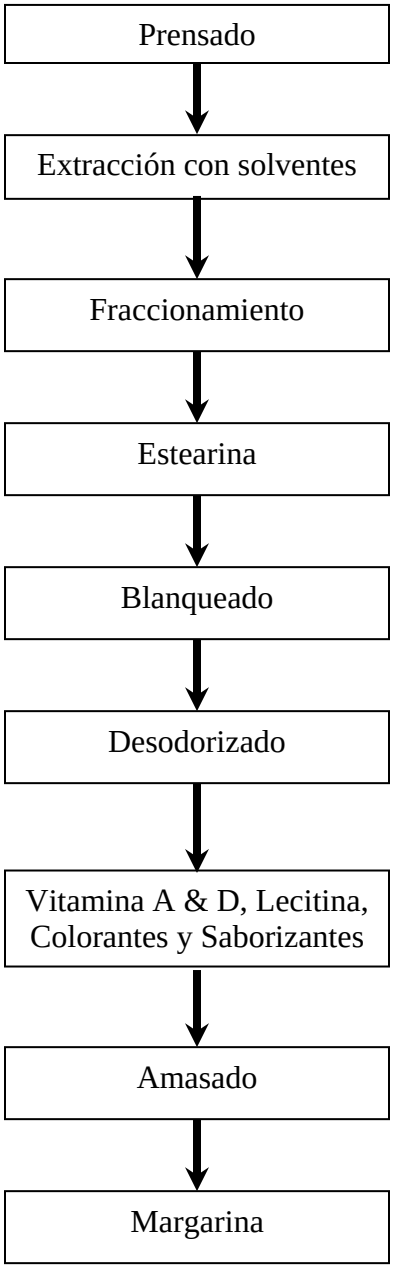
8. ANEXOS

Anexo 1. Ejemplo de una etiqueta nutricional que declara la cantidad de AGT que contiene



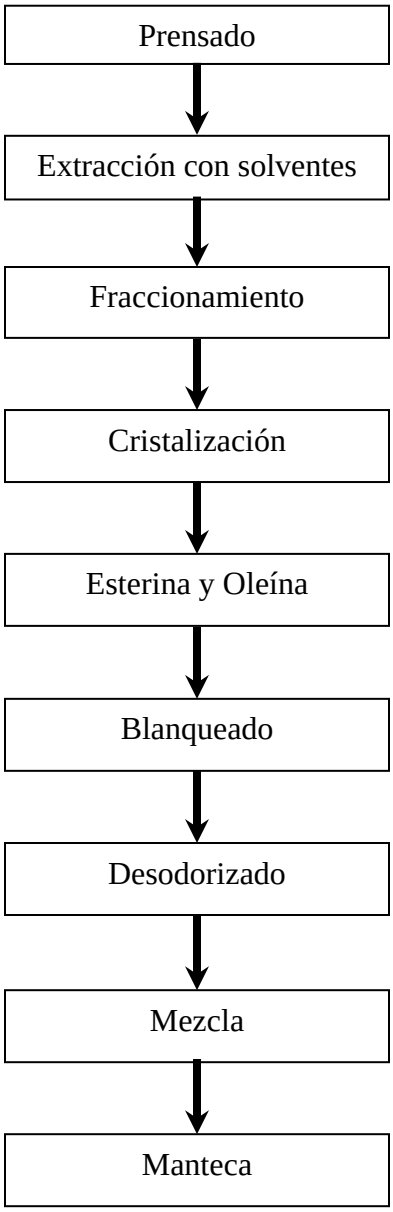
Fuente: FDA (2005).

Anexo 2. Flujo de proceso para la elaboración de margarina a partir de aceite de palma



Fuente: IMACE (2005).

Anexo 3. Flujo de proceso para la elaboración de manteca a partir de aceite de palma



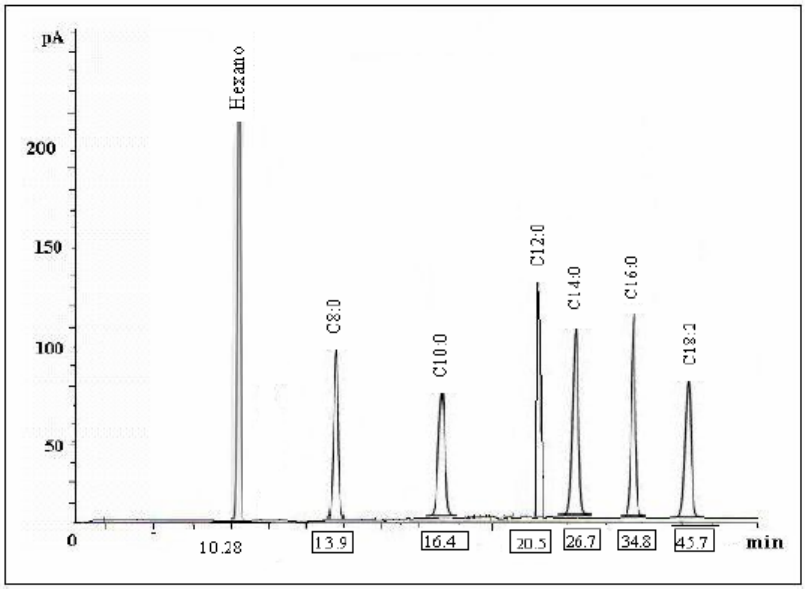
CIRANDA (2005).

Anexo 4. Cromatograma del estándar de RM5

Data File C:/HPCHEM1/DATA/ESTERES/289B0123.D Sample Name: Est. RM5
Estándar RM5

Injection Date: 11/07/2005 2:45:13 PM
Sample Name: Est. RM5 Location: Vial E.RM5
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 01/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	9.927	BV S	0.7070	5.809E+04	1.337E+04	31.89091
2	10.039	VB S	0.0494	1.22E+05	4.12E+04	67.02339
3	10.161	BV T	0.0404	1457.23926	578.17114	0.80003
4	10.251	VB T	0.0338	1.26E+01	6.22E+00	0.00692
5	13.838	BB	0.0433	11.65046	4.2117	0.00640
6	16.432	BP	0.0491	21.50918	6.95379	0.01181
7	20.597	BB	0.0590	262.54144	69.69147	0.14414
8	26.782	BB	0.0698	90.01884	19.87588	0.04942
9	34.825	BP	0.0830	46.32132	8.86228	0.02543
10	45.601	BP	0.0952	75.68512	12.06103	0.04155

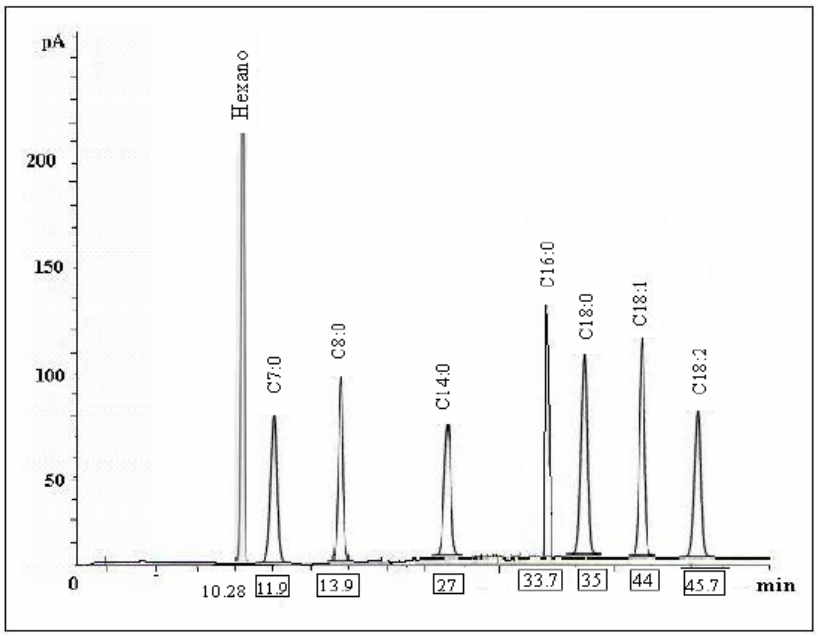
Instrument 1 11/07/2005 3:47:13 AM Kdiaz

Anexo 5. Cromatograma del estándar de RM6

Data File C:/HPCHEM1/DATA/TESISK/RM6.D Sample Name: Est. RM6
Estándar RM6

Injection Date: 11/07/2005 3:49:13 AM
Sample Name: Est. RM6 Location: Vial E.RM6 1%
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 01/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.167	BB S	0.0586	1.687E+05	4.409E+04	99.01395
2	10.293	BV T	0.0361	307.93451	137.55336	0.18075
3	10.382	VB T	0.0345	13.50468	6.51463	0.00793
4	11.976	BB	0.0476	1.39E+01	4.55E+00	0.00815
5	13.991	BB	0.0448	4.78941	1.70259	0.00281
6	27.008	BP	0.0704	33.15369	7.38641	0.01946
7	33.757	BP	0.0871	30.48187	5.46442	0.01789
8	35.165	BB	0.0874	488.02698	79.77768	0.28645
9	36.608	BB	0.0812	38.72822	7.14625	0.02273
10	44.325	BB	0.0904	222.88785	34.0323	0.13083
11	45.788	BP	0.1021	526.52966	70.54838	0.30905

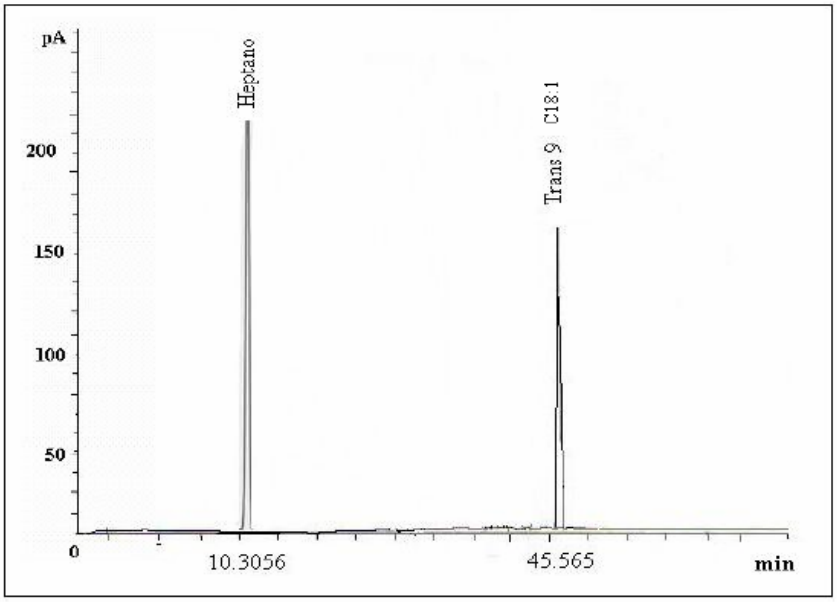
Instrument 1 11/07/2005 4:51:13 AM Kdiaz

Anexo 6. Cromatograma del estándar de ácido trans 9 elaídico

Data File C:/HPCHEM1/DATA/KDIAZ/SIG10109.D Sample Name: Est. Linolenic R2
Estándar Trans 9 Elaídico R2

Injection Date: 30/08/2005 2:46:34 AM
Sample Name: Est. Trans 9 Elaídico R2 Location: Vial E.Trans 9 Elaídico
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 29/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.161	BV S	0.0498	7.171E+05	2.28E+04	36.74769
2	10.282	VB S	0.0714	1.21E+05	2.83E+04	62.23486
3	10.474	BB T	0.0526	575.10339	165.33624	0.29470
4	45.565	BP	0.1272	1.41E+03	140.39203	0.72275

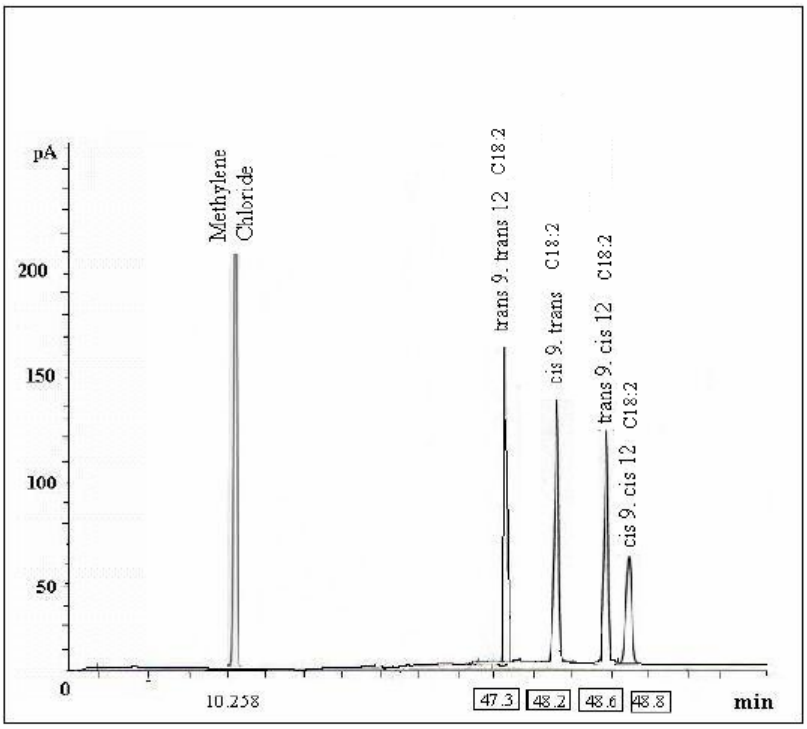
Instrument 1 30/08/2005 3:48:34 AM Kdiaz

Anexo 7. Cromatograma del estándar de ácido linoleico

Data File C:/HPCHEM1/DATA/KDIAZ/SIG10111.D Sample Name: Est. Linoleic R2
Estándar Linoleic R2

Injection Date: 30/08/2005 1:26:34 AM
Sample Name: Est. Linoleic R2 Location: Vial E.Linoleic
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 29/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.151	BV S	0.0441	5.073E+04	1.78E+04	56.58458
2	10.267	BV T	0.0398	629.68109	255.31458	0.70229
3	10.358	VV T	0.0428	11.47481	4.46981	0.01280
4	10.505	VB S	0.0814	3.67E+04	6860.85205	40.90746
5	47.390	BB	0.1198	776.38074	88.08182	0.86590
6	48.228	BP	0.1079	341.45181	44.25565	0.38082
7	48.666	BV	0.1087	346.79791	42.25565	0.38679
8	48.861	VB	0.0921	142.88148	21.89806	0.15936

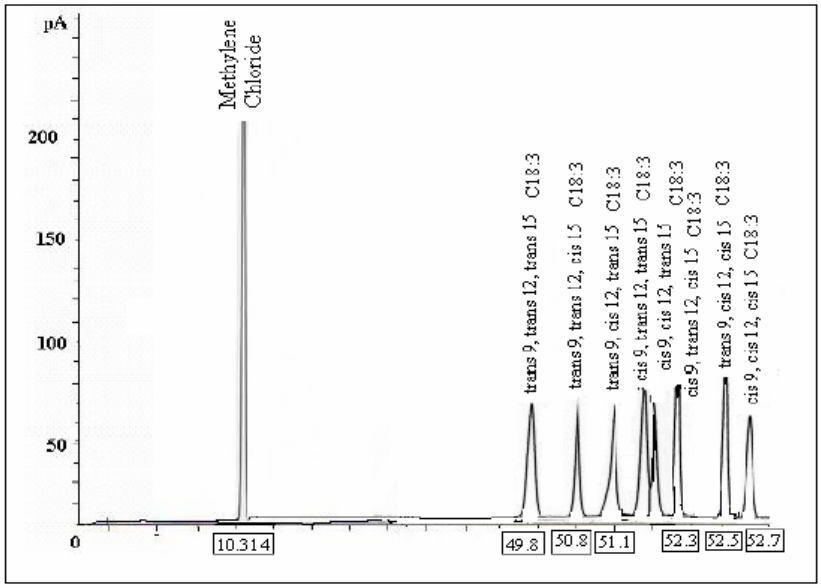
Instrument 1 30/08/2005 2:36:34 AM Kdiaz

Anexo 8. Cromatograma del estándar de ácido linolénico

Data File C:/HPCHEM1/DATA/KDIAZ/SIG10113.D Sample Name: Est. Linolenic R2
Estándar Linolenic R2

Injection Date: 30/08/2005 12:13:37 PM
Sample Name: Est. Linolenic R2 Location: Vial E.Linolenic
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 29/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.146	BV S	0.0458	4.996E+04	1.72E+04	56.23234
2	10.261	BV T	0.0401	618.61029	247.81541	0.69669
3	10.353	VV T	0.0428	11.35791	4.42001	0.01279
4	10.499	VB S	0.0718	3.66E+04	7382.47803	41.19503
5	49.816	BP	0.1162	546.24011	63.62304	0.61519
6	50.818	BV	0.119	246.73497	29.36134	0.27788
7	51.177	VV	0.1093	267.13736	31.37412	0.30086
8	51.508	VP	0.1524	327.30389	29.520498	0.36862
9	52.362	BV	0.1147	97.65282	11.77621	0.10998
10	52.561	VV	0.1133	99.6282	12.63097	0.11255
11	52.770	VB	0.1117	42.6775	5.68034	0.04806

Instrument 1 30/08/2005 1:16:34 AM Kdiaz

Anexo 9. Perfil de AG de margarina elaborada a partir de aceite de palma

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g por porción de 4.3 g
Saturados			
Mirístico	C14:0	0.29	0.01
Palmítico	C16:0	13.30	0.48
Esteárico	C18:0	6.00	0.22
Monoinsaturados			
Palmitoleico	C16:1	0.01	0.01
Oleico	C18:1	41.50	1.50
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	35.00	1.26
Linolénico	C18:3	3.90	0.14

Fuente USDA, 2005

Anexo 10. Perfil de AG de manteca elaborada a partir de aceite de palma

Ácidos Grasos	**No. Carbono**	**%**
Saturados		
Laúrico	C12:0	**trazas**
Mirístico	C14:0	1.5
Palmítico	C16:0	42.5
Esteárico	C18:0	5
Monoinsaturados		
Oleico	C18:1	40.50
Polinsaturados		
Linoleico	C18:2	10.5

Fuente USDA, 2005.

Anexo 11. Perfil de AG de leche semidescremada al 2% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g/porción de 1 oz fluida (30.5 g)
Saturados			
Butírico	C4:0	4.31	0.03
Caproico	C6:0	3.50	0.02
Caprílico	C8:0	1.50	0.01
Cáprico	C10	3.10	0.02
Laúrico	C12	3.20	0.02
Mirístico	C14:0	9.31	0.06
Palmítico	C16:0	29.61	0.18
Esteárico	C18:0	13.10	0.08
Eicosanoico	C20:0	0.21	0.00
Docosanoico	C22:0	0.11	0.00
Trans			
Cis 9, Tr 11 Linoléico	cis 9, tr 11 C18:2	4.13	0.03
Monoinsaturados			
Palmitoleico	C16:1	1.43	0.01
Oleico	C18:1	22.80	0.14
Poliinsaturados			
Linoleico	C18:2	3.28	0.02
Linolénico	C18:3	0.42	0.00

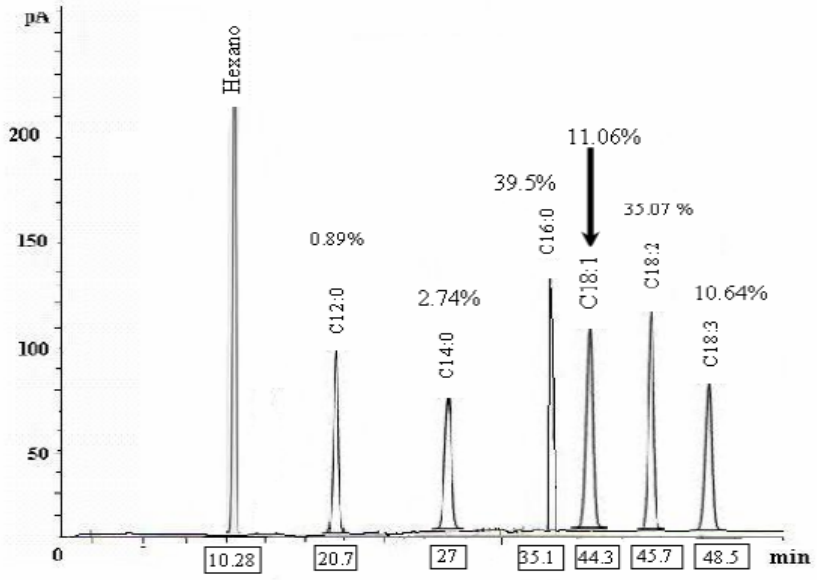
Fuente: USDA (2005)

Anexo 12.Cromatograma del pan blanco

Data File C:/HPCHEM1/DATA/TESISK/RM6.D Sample Name: Pan Blanco
Pan Blanco

Injection Date: 12/07/2005 2:45:13 AM
Sample Name: Pan Blanco Location: Vial Pan Blanco
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 01/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.156	BB S	0.0602	1.797E+05	4.47E+04	99.18576
2	10.284	BV T	0.0381	351.80222	151.52275	0.19768
3	10.375	VB T	0.0412	31.95442	11.56498	0.01791
4	10.458	BB	0.0580	5.96E+01	16.581131	0.03342
5	20.770	BB	0.0578	8.08963	2.20306	0.00453
6	27.000	BB	0.0702	28.15881	6.17471	0.01578
7	35.151	BP	0.0846	403.58456	68.55875	0.22621
8	44.296	BB	0.0970	113.74367	18.17681	0.06375
9	45.762	BB	0.0952	349.23553	49.56042	0.19575
10	48.548	BB	0.0961	106.50757	15.51434	0.0597

Instrument 1 12/07/2005 4:48:16 AM Kdiaz

Anexo 13. Perfil de AG de pan blanco 5.7% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g por porción de 28.35 g
Saturados			
Butírico	C4:0	0.48	0.007
Caproico	C6:0	0.29	0.004
Caprílico	C8:0	0.15	0.002
Cáprico	C10	0.36	0.005
Laúrico	C12	0.42	0.006
Mirístico	C14:0	1.56	0.023
Palmítico	C16:0	14.12	0.210
Esteárico	C18:0	5.03	0.075
Trans			
Cis 9, Tr 11 Linoléico	tr9, c12 C18:2	-	-
Monoinsaturados			
Palmitoleico	C16:1	0.78	0.012
Oleico	C18:1	23.73	0.354
Eicosenoico	C20:1	0.17	0.003
Poliinsaturados			
Linoleico	C18:2	46.84	0.698
Linolénico	C18:3	6.07	0.090

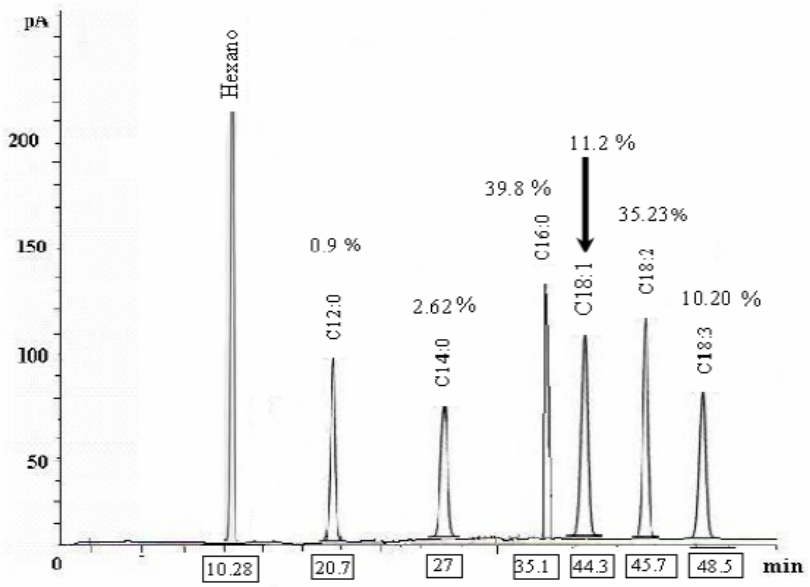
Fuente USDA, 2005

Anexo 14. Cromatograma del pan integral

Data File C:/HPCHEM1/DATA/TESISK/RM6.D Sample Name: Pan Integral
Pan Integral

Injection Date: 13/07/2005 5:48:16 AM
Sample Name: Pan Integral Location: Vial Pan Integral
Acp Operator: Kdiaz Inj: 1
Inj Volume: Manually

Method: C:/HPCHEM1/METHODS/CISTRANS.M
Last changed: 01/08/05 12:18:55 PM by Kdiaz
(modified after loading)
Método de Cuantificación de isómeros cis/trans de Ácidos Grasos



Area Percent Report
Sorted by: Signal
Multiplier: 1.0000
Dilution 1.0000

Signal 1: F1D1 A,

Peak N°	Ret Time (min)	Type	Widht	Area (pA*s)	Height (pA)	Area (%)
1	10.026	BB S	0.0504	5.371E+04	1.67E+04	32.03520
2	10.095	BV T	0.5210	1.12E+05	3.59E+04	66.86619
3	10.222	VB T	0.0405	461.00031	182.51541	0.27494
4	10.316	BB	0.0490	5.08E+01	15.62193	0.03033
5	20.780	BB	0.0572	10.9917	2.97180	0.00656
6	27.009	BB	0.0710	33.79721	7.43354	0.02016
7	35.174	BP	0.0867	530.42383	86.29045	0.31634
8	44.313	BB	0.0879	143.13782	22.6083	0.08537
9	45.793	BB	0.1005	476.41089	64.98643	0.28413
10	48.567	BB	0.1005	135.47487	18.93044	0.0808

Instrument 1 13/07/2005 6:50:16 AM Kdiaz

Anexo 15. Perfil de AG de pan integral 5.9% de grasa

Ácidos Grasos	No. Carbono	%	g por porción de 28.35 g
Saturados			
Caprílico	C8:0	0.17	0.003
Laúrico	C12	0.02	0.148
Mirístico	C14:0	0.11	0.002
Palmítico	C16:0	12.29	0.187
Esteárico	C18:0	3.58	0.054
Trans			
Cis 9, Tr 11 Linoléico	tr9, c12 C18:2	-	-
Monoinsaturados			
Palmitoleico	C16:1	0.60	0.009
Oleico	C18:1	22.87	0.349
Eicosenoico	C20:1	0.19	0.003
Polinsaturados			
Linoleico	C18:2	53.57	0.816
Linolénico	C18:3	6.49	0.099

Fuente: USDA, 2005

Anexo 16. Análisis de varianza en SAS® para pan blanco

Ácidos Grasos	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	% C V	Ajuste del Modelo	P > F	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio
C12:0	0.116	0.663	1.128	12.893	0.229	0.687	0.064	0.009
C14:0	0.153	2.434	3.048	5.726	0.404	0.220	0.256	0.037
C16:0	1.106	37.359	41.783	2.787	0.140	0.906	3.185	0.455
C18:0	0.312	10.441	11.690	2.802	0.741	0.001	4.470	0.639
C18:1	0.904	33.271	36.886	2.571	0.395	0.239	8.534	1.219
t9,c12 C18:2	0.360	9.929	11.369	3.453	0.634	0.011	3.588	0.513

Anexo 17. Análisis de varianza en SAS® para pan integral

Acidos Grasos	Desviación estándar	Mínimo	Máximo	% C V	Ajuste del Modelo	P > F	Suma de cuadrados	Cuadrado Medio
C12:0	0.116	0.675	1.139	12.893	0.229	0.687	0.064	0.009
C14:0	0.153	2.311	2.924	5.726	0.404	0.220	0.256	0.037
C16:0	1.106	37.593	42.017	2.787	0.140	0.906	3.185	0.455
C18:0	0.312	10.603	11.852	2.802	0.741	0.001	4.470	0.639
C18:1	0.360	9.486	10.926	3.453	0.634	0.239	3.588	0.513
t9,c12 C18:2	0.904	33.429	37.044	2.571	0.395	0.011	8.534	1.219

Anexo 18. Perfil de ácidos grasos en las muestras analizadas

Trt	Semana*	Ácidos grasos					
		C12:0	C14:0	C16:0	C18:0	C18:1	trans 9, cis 12
Blanco		0.8007	2.7894	39.9862	11.2688	34.6019	10.5529
	1	0.8265	2.6559	38.3918	11.7541	35.4793	10.8925
		1.0287	3.0429	40.0507	11.2046	34.1832	10.4899
		0.8759	2.5773	39.6669	10.7999	35.0945	10.9856
	2	0.9284	2.6667	39.6035	10.8022	35.0231	10.9761
		0.9987	2.7151	39.9160	10.6748	34.8400	10.8554
		0.9862	2.5844	39.2662	11.2039	35.7367	10.2227
	3	0.8363	2.4970	39.3384	10.8850	36.2024	10.2409
		0.9676	2.7952	41.0085	10.9414	34.8789	9.4085
		0.8396	2.9137	39.7205	10.9322	34.6119	10.9820
	4	0.8026	2.7468	38.5093	11.2766	35.3966	11.2680
		0.8541	2.9114	39.3922	11.0384	34.8903	10.9136
		1.0255	2.5883	38.2431	11.7562	35.5333	10.8536
Integral	1	0.8027	2.6814	39.1473	11.6067	34.9287	10.8332
		0.6971	2.3317	43.2666	12.9991	31.3080	9.3975
		0.9320	2.5914	39.5053	10.9420	35.6803	10.3491
	2	0.8051	2.4687	39.4099	10.9965	35.8975	10.4223
		1.0771	2.9686	39.1250	11.1008	35.5160	10.2125
		1.1874	2.6987	40.2724	10.5871	35.2902	9.9643
	3	0.8269	2.5411	39.8734	10.7606	35.8135	10.1845
		0.9537	2.7303	40.5239	10.5013	35.2448	10.0460
		0.8453	2.6308	39.5897	11.1779	35.7334	10.0228
	4	0.8335	2.5645	38.9333	11.2776	36.2595	10.1316
		0.8969	2.6146	39.7722	11.0248	35.6325	10.0589

*Promedio de 3 muestras por semana