

Separata de LabCiencia

La primera sección reproduce el trabajo en su versión abreviada, tal como fue publicada en la edición impresa. La segunda sección, desde la página 109 hasta la 110, corresponde al trabajo íntegro.

Combatiendo lo rancio

Determinando marcadores para la descomposición de ácidos grasos

Evaluar la calidad de aceites comestibles, grasas y productos que contienen ácidos grasos puede ser caro, pero es necesario para poder garantizar la calidad del producto y la seguridad del consumidor. Los científicos de GERSTEL han desarrollado un método nuevo y más eficiente para monitorear marcadores de calidad en matrices oleaginosas: productos de la oxidación, tales como aldehídos y cetonas, pueden ser determinados utilizando un espacio de cabeza dinámico automatizado (DHS) acoplado a un GC/MS.

Salmón, anjova, trucha, nueces, aceite de colza, semillas de sésamo, pastas sobre la base de aceites vegetales... Esto no es una lista de compras, sino de productos sugeridos como parte de una dieta sana y nutritiva. La razón de la sugerencia es que estos alimentos contienen ácidos grasos poliinsaturados de cadenas largas (AGPICL ó LCP's por sus siglas en inglés), que pueden dividirse en

yen sus dobles enlaces y se forman productos degradados. Y esto no pasa desapercibido, pues se forman productos de aroma desagradable y con umbrales olfatorios muy bajos. Los productos de degradación formados, tales como aldehídos, cetonas y 4-heptenal, se hallan entre los formados por ácidos grasos. Una concentración de menos de 10 ng por gramo basta para que el aceite u otro alimento tenga el sabor o aroma típicamente rancio. Para la mayoría de los alimentos, el contacto con el oxígeno es inevitable; sólo puede ser reducido. Pero las reacciones de degradación pueden frenarse al almacenar los alimentos a temperaturas bajas. Al final, habrá que monitorear la pureza de los alimentos, los aceites y las grasas. ¿Cómo pueden monitorearse estas reacciones, si los umbrales son tan bajos? Se requieren técnicas instrumentales que pueden extraer y concentrar analitos sin acelerar el proceso observado, es decir, sin calentar la muestra más de lo necesario en el proceso analítico.

Tabla 1: Comparación de aceite de colza fresco y añejado, que ha sido almacenado por 6 meses bajo condiciones normales de un hogar.

Analito	RT [min]	m/z	Aceite de colza No. 1 - fresco [ng/g]	Aceite de colza No. 1 - añejo [ng/g]	Aceite de colza No. 2 - fresco [ng/g]
1-Penten-3-ona	7,530	55	1,1	5	17,5
2-(E)-Pentalenal	10,432	83	1,5	15,7	13,0
Hexanal	11,892	56	26,1	244,7	>500
2-(E)-Hexenal	14,532	83	0,4	19,9	17,9
4-(Z)-Heptenal	16,010	94	0,2	4,9	nd
2-Pentilfurano	18,858	81	0,5	0,3	35,6
1-Octen-3-ona	19,304	70	nd	2,3	16,8
2,4-(E,E)-Heptadienal	21,484	81	12	90	14,7
2,6-(E,Z)-Nonadienal	26,900	70	nd	nd	4,3
2,4-(E,E)-Nonadienal	29,364	81	0,9	6,9	663,7
2,4-(E,E)-Decadienal	32,964	81	5,9	52,6	9,2

nd = no detectado

dos categorías: los ácidos grasos n-6 (antes conocidos como ácidos grasos omega-6), entre ellos el ácido linoleico y sus derivados, y los ácidos grasos n-3 (antes denominados ácidos grasos omega-3), grupo al que pertenecen el ácido alfa-linoleico y sus derivados.

Se supone que los AGPICL, proveídos por la leche materna, tienen muchas propiedades ventajosas: durante la niñez, contribuyen esencialmente para el desarrollo del cerebro, del sistema nervioso y de la visión. En cuanto a los adultos, se sabe que los AGPICL ayudan al corazón y al sistema circulatorio y que previenen o reducen la arteriosclerosis y los padecimientos relacionados con ella. La carencia de ácidos grasos esenciales puede tener severas consecuencias negativas, como las disfunciones cutáneas (piel curtida), una mayor susceptibilidad a infecciones, el crecimiento reducido, la pérdida de cabello y el recuento en placa de sangre reducido.

Ventajas y desventajas

Los AGPICL nos fortalecen, siendo ellos mismos de constitución débil. No les sirve tomar más "aire fresco". Las moléculas de oxígeno atacan y destruyen

La teoría orienta, el experimento decide

Los científicos de GERSTEL enfocaron su interés principalmente en 11 compuestos, todos ellos conocidos productos de degradación de AGPICL:

1-penten-3-ona, 2-(E)-pentalenal, hexanal, 2-(E)-hexenal, 4-(Z)-heptenal, 2-pentilfurano, 1-octen-3-ona, 2,4-(E,E)-heptadienal, 2,6-(E,Z)-nonadienal, 2,4-(E,E)-nonadienal, y 2,4-(E,E)-decadienal.

Algunos detalles: se prepararon soluciones estándar conteniendo de 5 a 500 ng/μL de los compuestos buscados de una solución madre por dilución con hexano. Se agregó 1 μL de la solución estándar a cada uno de los viales conteniendo 1 g de aceite de la muestra. Los viales fueron introducidos en las bandejas del MPS y transferidos sucesivamente a la estación agitadora DHS, donde, para equilibrarlos, se los mantuvo durante cuatro minutos a una temperatura de 70 °C. La extracción DHS se realizó luego durante diez minutos con un flujo de nitrógeno de 50 mL/min para purgar y transferir los analitos a la trampa concentradora del tipo Tenax TA, que es reemplazable. El usuario puede especificar si se emplea

Automatización Inteligente para GC/MS y LC/MS

- ▶ SPE y DPX automatizada
- ▶ Headspace Dinámico (DHS)
- ▶ Derivatización y Adición de "Standard"
- ▶ Headspace, SPME y Líquido
- ▶ Twister y Desorción Térmica
- ▶ Liner Exchange Automático (ALEX)

Alta Productividad - con un clic

Pregúntenos cómo la tecnología GERSTEL puede darle beneficio



Agilent Technologies
Premier Solution Partner

GERSTEL

gerstel@gerstel.com

www.gerstel.com

una trampa nueva para cada muestra y, por supuesto, el tipo de adsorbente que usará. Los tubos están disponibles con cualquier adsorbente estándar. Tras la extracción por espacio de cabeza dinámico la y concentración del analito, el tubo adsorbente se transfiere a la unidad de desorción de GERSTEL (TDU). Los analitos se desorben en ella y son transferidos al sistema de inyección refrigerado (CIS), donde nuevamente se concentran los analitos; por último, son transferidos en una banda estrecha al sistema GC/MS para su identificación y cuantificación.

Resultados

Se analizaron muchas muestras mediante el DHS de GERSTEL para comprobar su utilidad a través de un amplio rango de concentración de productos en descomposición (generalmente de 1 a 100 ng/g), que representan productos frescos, añejos y levemente rancios. Como ejemplo, el Dr. Lerch menciona productos oleaginosos de la semilla de colza, analizados como se describió arriba y

categorizados. En su mayoría, los aceites frescos tenían una baja concentración de productos en descomposición. Cuando este tipo de aceite fue almacenado bajo condiciones normales en un hogar familiar durante unos seis meses, los niveles aumentaron significativamente (ver tabla 1). Aparte de las cuestiones referidas a la antigüedad, se constataron grandes diferencias en aceites recientemente comprados de productores diversos (ver tabla 1). Según el Dr. Lerch, “la estadística apoya nuestras observaciones de una forma muy elocuente y clara; la curva de calibración por adición del estándar abarcaba hasta 500 ng/g con una excelente linealidad y la mayoría de los coeficientes de correlación eran de 0,999.” La desviación estándar y la repetibilidad fueron examinadas con aceite fresco de semillas de colza, al cual se agregaron 5 ng/g de cada analito de interés. La RSD de cinco réplicas fue inferior al 6 % para la mayoría de los compuestos. Se comprobó que el método es sólido y que el error de arrastre es de menos del 0,01 % para casi todos los compuestos. Al utilizar

la técnica DHS-GC/MS, el analista puede obtener una imagen clara e y nada ambigua de la descomposición de los AGPICL, controlando así la calidad y la edad de aceites, grasas y alimentos que contienen grasa. Con el paso del tiempo, la concentración de aldehídos y cetonas, que son “compuestos marcadores” de la descomposición de la grasa, aumentará mientras que el producto se añeja, lo cual hace fácil determinar la frescura del producto. Los límites de determinación para los compuestos marcadores están en el rango de 0,05 a 5 ng/g. La excelente correlación también es importante, ya que, como dice el Dr. Lerch, “es una prueba de que el método es bien apto para el control de calidad de los alimentos”.

Gerstel, Alemania

Anote el 209-306

Nota del editor: Esta es una versión abreviada. Consulte la versión completa en www.labciencia.com.

Combatiendo lo rancio: Determinando marcadores para la descomposición de ácidos grasos

Resumen

Evaluar la calidad de aceites comestibles, grasas y productos que contienen ácidos grasos puede ser caro, pero es necesario para poder garantizar la calidad del producto y la seguridad del consumidor. Los científicos de GERSTEL han desarrollado un método nuevo y más eficiente para monitorear marcadores de calidad en matrices oleaginosas: productos de la oxidación, tales como aldehídos y cetonas, pueden ser determinados utilizando un espacio de cabeza dinámico automatizado (DHS) acoplado a un GC/MS.

Introducción

Salmón, anchoa, trucha, nueces, aceite de colza, semillas de sésamo, pastas sobre la base de aceites vegetales... Esto no es una lista de compras, sino de productos sugeridos como parte de una dieta sana y nutritiva. La razón de la sugerencia es que estos alimentos contienen ácidos grasos poliinsaturados de cadenas largas (AGPICL ó LCP's por sus siglas en inglés), que pueden dividirse en dos categorías: los ácidos grasos n-6 (antes conocidos como ácidos grasos omega-6), entre ellos el ácido linoleico y sus derivados, y los ácidos grasos n-3 (antes denominados ácidos grasos omega-3), grupo al que pertenecen el ácido alfa-linoleico y sus derivados.

Se supone que los AGPICL, proveídos por la leche materna, tienen muchas propiedades ventajosas: durante la niñez, contribuyen esencialmente para el desarrollo del cerebro, del sistema nervioso y de la visión. En cuanto a los adultos, se sabe que los AGPICL ayudan al corazón y al sistema circulatorio y que previenen o reducen la arteriosclerosis y los padecimientos relacionados con ella. La carencia de ácidos grasos esenciales puede tener severas consecuencias negativas, como las disfunciones cutáneas (piel curtida), una mayor susceptibilidad a infecciones, el crecimiento reducido, la pérdida de cabello y el recuento en placa de sangre reducido.

Ya no sorprende que los AGPICL sean extraídos de productos naturales y añadidos a alimentos para aumentar los beneficios a la salud en la nutrición infantil pre- y postnatal. Estos extractos también se utilizan para enriquecer alimentos con bajos contenidos de AGPICL, fortaleciéndolos, como los productos panificados normales, desarrollando así los llamados alimentos funcionales, que brindan mayores beneficios a la salud.

Ventajas y desventajas

Los AGPICL nos fortalecen, siendo ellos mismos de constitución débil. No les sirve tomar más "aire fresco". Las moléculas de oxígeno atacan y destruyen sus dobles enlaces y se forman productos degradados. Y esto no pasa desapercibido, pues se forman productos de aroma desagradable y con

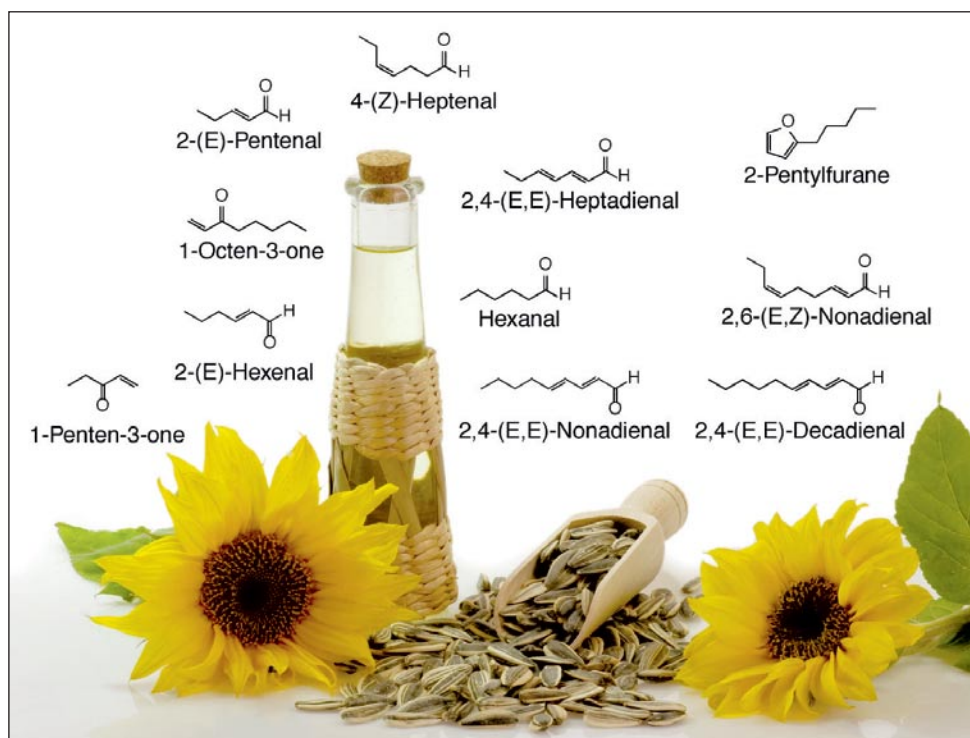


Figura 1: Estructuras de los compuestos de degradación ácidos grasos determinados en este estudio.

Tabla 1: Comparación de dos aceites de colza frescos y uno añejado, que ha sido almacenado por 6 meses bajo condiciones normales de un hogar.

Analito	RT [min]	m/z	Aceite de colza No. 1 - fresco [ng/g]	Aceite de colza No. 1 - añejo [ng/g]	Aceite de colza No. 2 - fresco [ng/g]
1-Penten-3-ona	7,530	55	1,1	5	17,5
2-(E)-Pental	10,432	83	1,5	15,7	13,0
Hexanal	11,892	56	26,1	244,7	>500
2-(E)-Hexenal	14,532	83	0,4	19,9	17,9
4-(Z)-Heptenal	16,010	94	0,2	4,9	nd
2-Pentilfuran	18,858	81	0,5	0,3	35,6
1-Octen-3-ona	19,304	70	nd	2,3	16,8
2,4-(E,E)-Heptadienal	21,484	81	12	90	14,7
2,6-(E,Z)-Nonadienal	26,900	70	nd	nd	4,3
2,4-(E,E)-Nonadienal	29,364	81	0,9	6,9	663,7
2,4-(E,E)-Decadienal	32,964	81	5,9	52,6	9,2

nd = no detectado

umbrales olfatorios muy bajos. Los productos de degradación formados, tales como aldehídos, cetonas y 4-heptenal, se hallan entre los formados por ácidos grasos. Una concentración de menos de 10 ng por gramo basta para que el aceite u otro alimento tenga el sabor o aroma típicamente rancio.

Para la mayoría de los alimentos, el contacto con el oxígeno es inevitable; sólo puede ser reducido. Pero las reacciones de degradación pueden frenarse al almacenar los alimentos a temperaturas bajas. Al final, habrá que monitorear la pureza de los alimentos, los aceites y las grasas. ¿Cómo pueden monitorearse estas reacciones, si los umbrales son

tan bajos? Se requieren técnicas instrumentales que pueden extraer y concentrar analitos sin acelerar el proceso observado, es decir, sin calentar la muestra más de lo necesario en el proceso analítico. Según el Dr. Oliver Lerch, científico de aplicación de GERSTEL, el espacio de cabeza estático (HS) acoplado a un GC/MS es una técnica muy útil para determinar compuestos volátiles. Pero los límites de detección de la técnica espacio de cabeza con GC/MS para los productos oxidados de ácidos grasos no son lo bastante bajos. Simplemente, no es posible monitorear estos compuestos en las concentraciones necesarias con la técnica espacio de cabeza estático. Se necesitan técnicas más sensitivas, como el espacio de cabeza con microex-

tracción en fase sólida (HS-SPME), que se basa en una fibra recubierta con un absorbente para concentrar el analito de la muestra en el espacio de cabeza o la técnica de espacio de cabeza dinámico (DHS), que purga y concentra analitos en una trampa absorbente. “Con estas técnicas más sensibles hemos obtenido los mejores resultados” afirma el Dr. Lerch, “al emplear el espacio de cabeza dinámico (DHS) para determinar marcadores oxidados, como aldehídos y cetonas.”

La teoría orienta, el experimento decide

Atendiendo los deseos de los clientes, el Dr. Lerch y sus colegas del departamento de Servicios Analíticos de GERSTEL investigaron diez muestras diferentes de aceites con la técnica DHS automatizada y acoplada al GC/MS. La mayoría de las muestras eran aceites vegetales, entre ellos el aceite de oliva y el aceite de semilla de colza de diversos productores. Dos de las muestras eran aceites de pescado.

Algunos detalles: se prepararon soluciones estándar conteniendo de 5 a 500 ng/μL de los compuestos buscados de una solución madre por dilución con hexano. Se agregó 1 μL de la solución estándar a cada uno de los viales conteniendo 1 g de aceite de la muestra. Los viales fueron introducidos en las bandejas del MPS y transferidos sucesivamente a la estación agitadora DHS, donde, para equilibrarlos, se los mantuvo durante cuatro minutos a una temperatura de 70 °C por cuatro minutos. La extracción DHS se realizó luego durante diez minutos con un flujo de nitrógeno de 50 mL/min para purgar y transferir los analitos a la trampa concentradora del tipo Tenax TA, que es reemplazable.

El usuario puede especificar si se emplea una trampa nueva para cada muestra y, por supuesto, el tipo de absorbente que usará. Los tubos están disponibles con cualquier adsorbente estándar. Tras la extracción por espacio de cabeza dinámico y la concentración del analito, el tubo adsorbente se transfiere a la unidad de desorción de GERSTEL (TDU). Los analitos se desorben en ella y son

poría, los aceites frescos tenían una baja concentración de productos en descomposición. Cuando este tipo de aceite fue almacenado bajo condiciones normales en un hogar familiar durante unos seis meses, los niveles aumentaron significativamente (ver tabla 1). Aparte de las cuestiones referidas a la antigüedad, se constataron grandes diferencias en aceites recientemente comprados de productores diversos, ver la última columna de la tabla 1. Según el Dr. Lerch, “la estadística apoya nuestras observaciones de una forma muy viva y clara; la curva de calibración por adición del estándar abarcaba hasta 500 ng/g con una excelente linealidad y la mayoría de los coeficientes de correlación eran de 0,999.” Estos valores se pueden apreciar en la figura 2.

La desviación estándar y la repetibilidad fueron examinadas con aceite fresco de semillas de colza, al cual se agregaron 5 ng/g de cada analito de interés. La RSD de cinco réplicas fue inferior al 6 % para la mayoría de los compuestos, como se ve en la figura 3. Se comprobó que el método es sólido y que

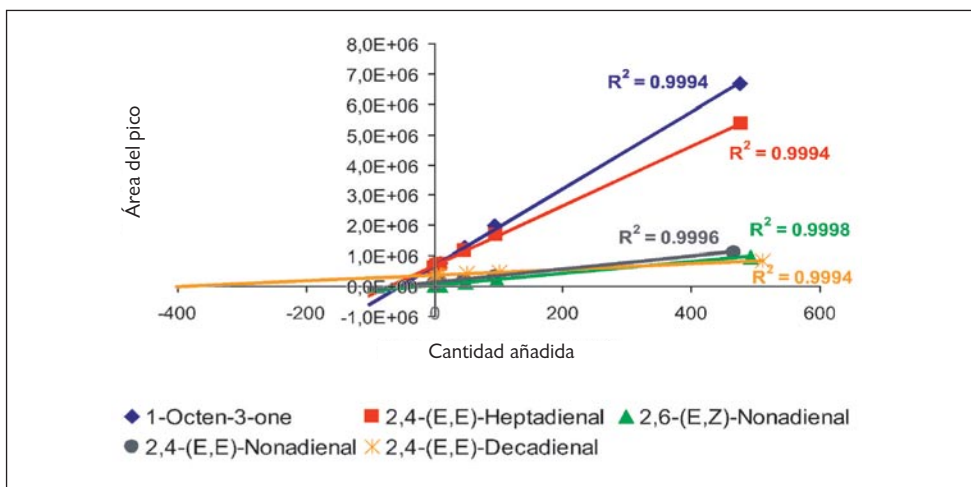


Figura 2: Las curvas de calibración para varios compuestos en muestras de aceite, empleando la adición estándar, son lineales hasta 500 ng/g. Los coeficientes de correlación eran cerca de 0,999 para casi todos los compuestos.

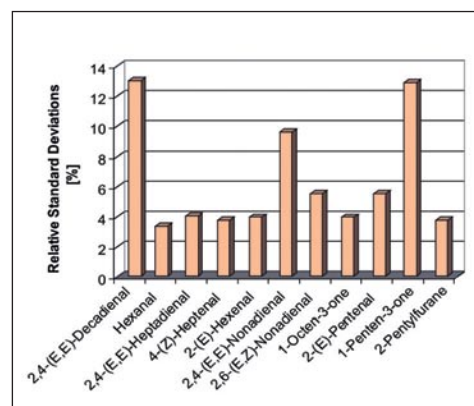


Figura 3: Se ha determinado la repetibilidad con aceite fresco de colza que ha sido fortificado con 5 ng/g de cada analito. La RSD para cinco análisis ha sido menor que 6 % en la mayoría de los casos. Estos resultados han sido tan buenos o mejores como aquellos obtenidos por HS-SPME.

Los científicos de GERSTEL enfocaron su interés principalmente en 11 compuestos, cuyas estructuras se enseñan en la figura 1, y todos ellos son conocidos productos de degradación de AGPICL:

1-pentén-3-ona, 2-(E)-pentenal, hexanal, 2-(E)-hexenal, 4-(Z)-heptenal, 2-pentilfurano, 1-octen-3-ona, 2,4-(E,E)-heptadienal, 2,6-(E,Z)-nonadienal, 2,4-(E,E)-nonadienal, y 2,4-(E,E)-decadienal.

Se introdujo un gramo de cada muestra de aceite en un vial de 20 mL para espacio de cabeza, cerrado con una tapa roscada. “Pesar las muestras ha sido el único paso manual necesario” señala Oliver Lerch, “y, si hubiéramos optado por el pesaje automatizado con el MPS, también este paso se habría podido automatizar. Todos los pasos posteriores fueron hechos automáticamente, incluso añadir un patrón interno, realizar la extracción por espacio de cabeza dinámico e introducir los analitos concentrados al GC/MS.”

transferidos al sistema de inyección refrigerado (CIS), donde nuevamente se concentran los analitos; por último, son transferidos en una banda estrecha al sistema GC/MS para su identificación y cuantificación.

La descomposición de los ácidos grasos brinda una imagen clara de la calidad del producto

Se analizaron muchas muestras mediante el DHS de GERSTEL para comprobar su utilidad a través de un amplio rango de concentración de productos en descomposición (generalmente de 1 a 100 ng/g), que representan productos frescos, añejos y levemente rancios.

Como ejemplo, el Dr. Lerch menciona productos oleaginosos de la semilla de colza, analizados como se describió arriba y categorizados. En su ma-

el error de arrastre es de menos del 0,01 % para casi todos los compuestos.

Al utilizar la técnica DHS-GC/MS, el analista puede obtener una imagen clara y nada ambigua de la descomposición de los AGPICL, controlando así la calidad y la edad de aceites, grasas y alimentos que contienen grasa. Con el paso del tiempo, la concentración de aldehídos y cetonas, que son “compuestos marcadores” de la descomposición de la grasa, aumentarán mientras que el producto se añeja, lo cual hace fácil determinar la frescura del producto. Los límites de determinación para los compuestos marcadores están en el rango de 0,05 a 5 ng/g. La excelente correlación también es importante, ya que, como dice el Dr. Lerch, “es una prueba de que el método es bien apto para el control de calidad de los alimentos”.

Gerstel, Alemania
Anote el 209-306