

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS DE INTERES FUNCIONAL EN MUESTRAS DE AJO SOMETIDAS A DIFERENTES TRATAMIENTOS DE COCCIÓN. DESARROLLO DE UN MÉTODO ANALÍTICO SCREENING BASADO EN HPLC-UV

Daniela Locatelli^{1,3}, Analía Lucero³, Paula Bertón, Roxana González³, Jorgelina Altamirano, Alejandra Camargo³.

¹Laboratorio de Cromatografía para Agroalimentos, IBAM-CCT- CONICET, Mendoza. Dirección: Alte. Brown 500, Ch. de Coria, Luján de Cuyo, Mendoza (5505) ²IANIGLA-CCT- CONICET, Mendoza. ³Facultad de Cs. Agrarias, UNCuyo. ⁴ICB UNCuyo. E-mail: acamargo@fca.uncu.edu.ar

Introducción

El ajo es considerado desde tiempos ancestrales un importante alimento con propiedades biológicas las cuales han determinado que en las últimas décadas sea considerado un alimento funcional. Tal denominación está avalada por numerosas investigaciones científicas que dan cuenta de sus efectos benéficos para la salud asociados al estudio de los componentes químicos responsables de las mismas. Los principales compuestos responsables de tales propiedades son los organoazufrados. Las características físico-químicas de las especies de este grupo reviste un gran desafío puesto que son compuestos inestables y reactivos que sufren modificaciones durante todas las etapas de procesado hasta su consumo. Estos aspectos se suman al ya conocido desafío técnico de realizar determinaciones analíticas en muestras biológicas. También se suma a dicha complejidad el hecho de que no se dispone comercialmente de estándares analíticos para todas las especies organoazufradas de interés para estos estudios, por lo que es necesario realizar la síntesis, caracterización y cuantificación de algunos de ellos (Ej.: vinilditiinas y ajoenos). Nuestro grupo ha desarrollado técnicas analíticas para la determinación de distintos organoazufrados: Alicina (González y col., 2007) Alquenil cisteínsulfóxidos (González y col., 2007), E-Z ajoeno (Soto y col., 2007) y sulfuros volátiles (Locatelli y col., 2011) *El nuevo objetivo que nos planteamos para el presente estudio fue lograr el desarrollo de un método analítico que nos permitiera determinar varios analitos presentes en muestras de ajo tanto crudo como cocido.* Para lo cual se realizaron dos diseños experimentales factoriales multivariados con el objeto de: 1- determinar cuales son los factores y sus interacciones que condicionan la estabilidad química de los compuestos objeto de estudio (alicina, ajoeno, vinilditiinas, dialildisulfuro, dialilsulfuro y dialitrisulfuro) en soluciones individuales y mezclas de ellos en soluciones patrones expuestas a distintas condiciones de trabajo (temperaturas, tiempo y solventes). 2- caracterizar y optimizar el proceso de extracción S-L de las muestras previo análisis de HPLC-UV. Las variables consideradas fueron: solvente de extracción (tipo y volumen), y tiempos de ultrasonido y vortex. Además se logró la síntesis de las vinilditiinas para poder ser incorporadas en este estudio. Lugo se realizó los ensayos tendientes a la validación del método analítico desarrollado. Resultados

Estabilidad de compuestos organoazufrados: En el caso de la alicina, la variable que más influyó en su concentración fue la temperatura. Con respecto a otros factores como tiempo o solventes no se observaron cambios significativos en sus respuestas.

Para los otros compuestos analizados, Dialil sulfuro, Dialil disulfuro y Dialil trisulfuro el solvente fue influyente en su conservación, poniéndose en evidencia mejores respuestas al detector empleando acetonitrilo y metanol.

Caracterización y optimización de la Extracción sólido-líquido: El análisis estadístico de los resultados obtenidos evidenció que la variable que más influyó en la concentración de Alicina, Dialil disulfuro y Dialil trisulfuro, fue el volumen de acetonitrilo. Para el caso de Dialil sulfuro pudo notarse que ninguno de los factores evaluados, incluyendo tiempo de ultrasonido, pausa o continuo, vórtex y volumen de acetonitrilo, durante el sonicado impactó significativamente en su respuesta analítica.

Para la optimización y de manera de lograr una rápida extracción, se seleccionó el menor tiempo de ultrasonido ya que no tiene efectos significativos, en el rango utilizado, para ninguna de las respuestas analíticas optimizadas. El volumen de acetonitrilo óptimo fue de 1,10 ml. Volúmenes mayores no mostraron mejoras significativas en las respuestas analíticas.

En cuanto a la validación de la técnica de extracción S-L, los datos obtenidos permitieron concluir que el método analítico es selectivo, ya que los picos cromatográficos se resolvieron satisfactoriamente, y mediante el análisis por espectrofotometría UV pudo comprobarse que los espectros obtenidos corresponden a las estructuras químicas de los estándares bajo estudio.

Se obtuvieron curvas de calibración de cada estándar en las cuales se pudo observar una correlación lineal entre las variables área y concentración lo cual hace posible cuantificar e interpolar al trabajar con concentraciones dentro del rango medido para cada estándar.

Con respecto a la precisión del sistema, para un límite de aceptación de 90-110% y de acuerdo a los valores de variación porcentual obtenidos, podría decirse que el sistema es preciso excepto para 2-vinil-4H-1,3 ditiina para la cual el valor resultante fue mayor al tabulado para dicho límite.

El porcentaje de recuperación resultante para cada estándar fue aproximadamente del 100%. En consideración a la sensibilidad del método, los límites de detección y de cuantificación obtenidos oscilaron entre 0,35 -7,4 ppm y 1-20,2 ppm respectivamente. Resultando adecuados para la determinación de los analitos de interés en las muestras problema.