

COMPARACION DE UN MÉTODO PARA CUANTIFICACIÓN RÁPIDA DEL ÁCIDO OLEICO EN CARNE DE CERDO RESPECTO A LA CROMATOGRAFÍA DE GASES

Tor, M.¹, Muñoz R.¹, Vilaró, F.², Eras, J.³ y Estany, J.¹

¹Departament de Producció Animal. ² Serveis Científico-tècnics. ³Departament de Química. Universitat de Lleida. Alcalde Rovira Roure, 191, 25198. Lleida.

mtor@prodan.udl.cat

INTRODUCCIÓN

El análisis de la composición de la grasa más frecuentemente utilizado, se basa en la identificación y cuantificación de los ácidos grasos (AG). Cuando lo que se persigue es el perfil de ácidos grasos de los lípidos totales, no es necesario el fraccionamiento de la grasa, previo a la transesterificación de los triglicéridos y existen numerosos métodos que proponen, en distintas matrices, realizar la transesterificación directa sobre el tejido (Rule, 1997, Eras et al. 2004). La metodología analítica que se suele utilizar para la posterior separación y cuantificación de los AG, es la cromatografía de gases en columna capilar con un detector de ionización de llama (CG/FID). El resultado de estos análisis es el perfil completo de ácidos grasos, bien sea de forma relativa, cuando se expresa la proporción de cada AG respecto al total de los mismos, bien sea de forma absoluta, cuando se expresa el contenido de cada AG por gramo de muestra. La principal ventaja de este procedimiento es que se obtiene información pormenorizada de todos los ácidos grasos presentes en la muestra. Los inconvenientes más notables son, la lentitud del proceso (especialmente la separación, puesto que las columnas capilares son largas y la cromatografía suele durar al menos 15 minutos por muestra) y el coste, debido precisamente al tiempo de uso del cromatógrafo y también al alto precio de los reactivos para la transesterificación y de los patrones.

En algunos entornos concretos, donde no es necesaria la información completa del perfil de ácidos grasos, sino que se está únicamente interesado, en alguno de ellos (Reixach et al. 2011), variando la metodología de análisis y focalizándola en el AG de interés, se puede reducir los costes de la determinación y sobre todo el tiempo de análisis. Esto permite incrementar la capacidad para trabajar con grandes volúmenes de muestras en cortos espacios de tiempo.

En este trabajo se describe la aplicación de un método de inyección de flujo basado en espectrometría de masas (FIA/MS) para la determinación cuantitativa del ácido oleico en carne de cerdo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar la comparación del método rápido FIA/MS respecto al método convencional GC/FID en cuanto a precisión, exactitud, costes y capacidad de trabajo, se han utilizado los datos del laboratorio Fisiogenética del Departamento de Producción Animal la Universitat de Lleida. Cabe señalar por tanto, que son datos de un único laboratorio y que no proceden de un laboratorio de rutina sino de uno dedicado a la enseñanza e investigación. Concretamente los protocolos utilizados para el análisis mediante GC-FID son los descritos por Bosch et al. (2009) y los utilizados mediante el análisis de FIA-MS son los descritos por Muñoz et al. (2011). Las muestras utilizadas son de *m. glutaemus medius* procedentes de una única población de la raza Duroc.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar cabe destacar que los resultados cuantitativos obtenidos de contenido de ácido oleico (mg de ácido oleico/g carne) mediante ambos métodos, presentan una correlación de 0,85. Observando la Figura 1 se puede llegar a la conclusión de que el método FIA-MS puede ser de gran utilidad cuando lo que se busca es ordenar las muestras por contenido en ácido oleico, sobre todo si se está especialmente interesado en los valores extremos. Este puede ser el caso de la clasificación de productos de calidad o de programas

de mejora genética. En cambio presentará mayores dificultades si lo que se pretende es reproducir con gran exactitud los valores obtenidos mediante GC-FID.

En cuanto al coste del análisis existen amplias diferencias. Únicamente se han analizado los costes variables y en el caso de la CG-FID, en nuestras condiciones han sido 2,4 veces más altos que en el caso de FIA/MS. Además la distribución relativa de los costes variables también varía tal y como se muestra en la Tabla 1. Mediante el método de FIA-MS, se consiguen bajar sensiblemente los costes de material instrumental a pesar de utilizar un equipo de mayor coste, puesto que el tiempo de análisis medio es solo de 2 minutos. En cuanto al coste de mano de obra (picado, homogeneización, pesado, esterificación e hidrólisis), a pesar de ser menor en valores absolutos en el método FIA/MS, en proporciones relativas supone el coste variable más elevado. En cuanto a reactivos, al sustituir la transesterificación por una hidrólisis, los costes también bajan, tanto en valor absoluto como relativo.

Por último cabe mencionar una de las mayores ventajas del método FIA/MS, que es su rapidez. Si bien en la preparación de la muestra no se obtienen grandes ventajas en cuanto al ahorro de tiempo (únicamente se ahorra la liofilización), en el apartado de análisis instrumental el ahorro de tiempo si es muy grande. En el caso del método FIA-MS una ventana de registro de 60 segundos es suficiente. Además al no haber columna y ser un régimen isocrático, los tiempos de reequilibrado son nulos y entre muestra y muestra únicamente es necesaria la limpieza del inyector. Por todo ello, se pueden conseguir fácilmente tiempos de análisis instrumental por réplica de menos de dos minutos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bosch, L, Tor, M, Reixach, J & Estany J. 2009. Meat Sci. 82:432
- Eras J, Ferran J, Perpiña B, Canela R. 2004 J. Chromatogr. A 1047, 157-161.
- Reixach, J., Ros, R., Tor, M., & Estany, J. 2011. XIV Jornadas sobre Producción Animal.
- Muñoz,R, Vilaró,P, Eras,J, Estany,J & Tor,M. 2011. Rapid Commun. Mass. Spectrom. (aceptado 28/01/2011)
- Rule, D. C. 1997. Meat Sci., 46, 23-32.

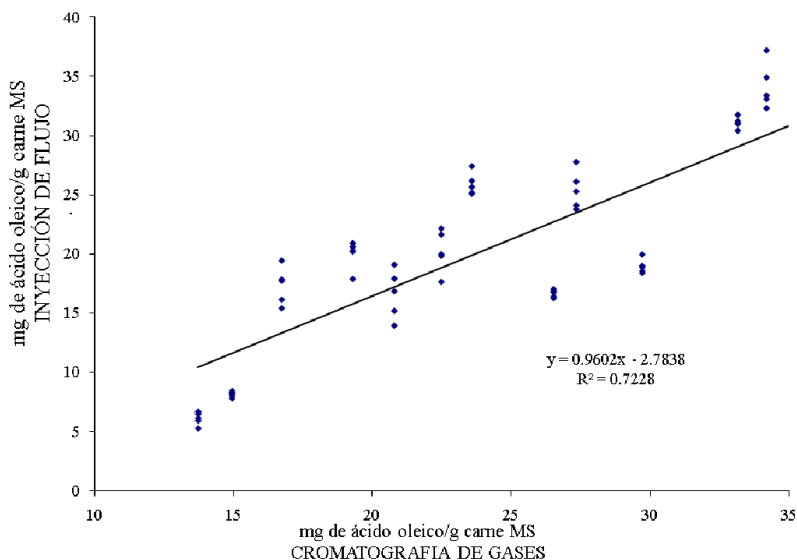


Figura 1. Comparación del análisis del ácido oleico en carne de cerdo mediante cromatografía de gases e inyección de flujo.

Tabla 1. Distribución de los costes variables del análisis del ácido oleico por FIA-MS y el perfil completo de ácidos grasos por GC-FID.

	CG/FID	FIA/MS
	%	%
Liofilitzación	1,7448	--
Picado de la muestra	9,8529	23,8806
Arena de mar	0,0257	--
Homogeneización	6,1581	--
Pesar muestra	6,1581	14,9254
BHT	0,0002	--
Tritridecanoína	--	0,0829
Tripentadecanoína	0,6158	--
Patrón externo	0,0547	--
Ácido oleico	--	0,0007
Ácido tridecanoico	--	0,0001
Ácido pentadecanoico	--	0,0001
KOH en metanol (5M)	--	0,0995
Trifluoruro de boro	1,779	--
Acético glacial	--	0,398
Acetonitrilo	--	0,2902
Metanol	0,0547	--
Etanol	--	0,0054
Eter de petróleo	--	0,4975
Hexano	0,3147	--
Dimetoxipropano	0,0205	0,0514
Esterificación	12,3161	v
Hidrolisis	--	29,8507
GC/FID	54,7383	--
FIA/HPLC	--	26,9486
Elaboración resultados	6,1581	2,9851
TOTAL	100	100

Agradecimientos: Trabajo financiado por la CICYT (refs. proyectos: AGL2003-05361; AGL2009-09779). Los autores de la comunicación agradecen a Teresa Giró y Anna Naco su especial colaboración en las tareas de laboratorio.

COMPARISON OF A RAPID METHOD FOR QUANTIFICATION OF OLEIC ACID IN PORK WITH RESPECT TO GAS CHROMATOGRAPHY SYSTEMS

ABSTRACT. This paper describes the application of a flow injection method based on mass spectrometry for quantitative determination of oleic acid in pork. The purpose of the method is to avoid lipid chromatography processes using a flow injection system based on electrospray ionization mass spectrometry. The oleic FIA analysis could be used as a suitable method for discriminating carcass samples for selection and labeling by oleic acid content when large numbers of pork samples must be processed in a short period of time

Keywords: oleic acid determination, FIA/MS method, intramuscular fat