

(S8-P9)

## **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DEL AROMA EN TOMATE POR CROMATOGRFÍA GASEOSA ACOPLADA A PURGA Y TRAMPA.**

**YOLANDA CORTÉS<sup>(1)</sup>, MILAGROS MEZCUA<sup>(2)</sup>, AMADEO R. FERNÁNDEZ-ALBA<sup>(2)</sup>, DOLORES FERNÁNDEZ<sup>(3)</sup> y MARIANO CONTRERAS<sup>(3)</sup>**

<sup>(1)</sup>Área de Tecnología Postcosecha agroalimentaria del IFAPA, CIFA La Mojonera, Almería

<sup>(2)</sup>Grupo de investigación de Residuos de Pesticidas, Universidad de Almería, 04120 Almería

<sup>(3)</sup>Coexphal, C/ Esteban Murillo 4, El Viso, La Mojonera, 04756, Almería  
[cgy237@ual.es](mailto:cgy237@ual.es)

**Palabras clave:** volátiles – índices - vida útil

### **RESUMEN**

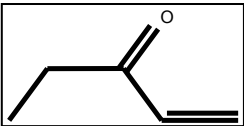
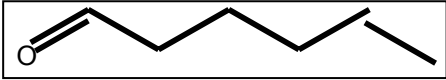
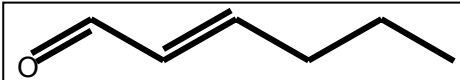
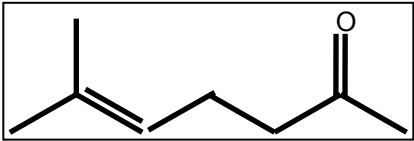
Para llevar a cabo una evaluación de la calidad en volátiles de tomate se ha desarrollado una metodología rápida y sencilla con el fin de identificar y cuantificar: hexanal, 2-trans-hexenal, 1-penten-3-ona, 6-methyl-5-hepten-2-ona. El método implica una extracción basada en ultrasonidos, seguido de un enriquecimiento por purga y trampa, y de una determinación analítica realizada por GC-MS en ionización de impacto electrónico y modo SIM. Se optimizaron el proceso de extracción y el proceso de enriquecimiento: solvente de extracción, tiempo de ultrasonidos, tiempo de purga y tiempo de desorción. El desarrollo del método se validó: recuperaciones, sensibilidad, linealidad (en términos de límites de detección y cuantificación) y precisión (en términos de repetibilidad y reproducibilidad). Esta metodología se aplicará en la evaluación de la vida útil en tomate Raf.

### **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años, los consumidores han demandando alta calidad en la comercialización de tomates y sus productos derivados (Cebolla, 2006) La pérdida de calidad se debe al deterioro que sufre el tomate durante su vida útil (Alonso, 2003). El aroma del tomate presenta una influencia muy importante en la aceptación por el consumidor. Los volátiles responsables del aroma están presentes a lo largo de la vida post-cosecha del tomate (K.S. 2000). Algunos se comportan como índices de calidad positivos y otros como índices de calidad negativos (AngeliKa, 2003). Purga y Trampa (Mezcua, 2003) es una técnica de concentración de volátiles, proporcionando un extracto limpio ya que solo se volatilizan los analitos y no la matriz. En esta técnica de espacio cabeza dinámica, la fase gaseosa que hay por encima de la muestra es purgada de forma constante con gas portador, y conduce los analitos al medio donde van a ser atrapados. Con esta técnica es posible alcanzar límites de detección mas bajos, como consecuencia de que se produce una concentración, y permite la determinación de analitos con una baja presión de vapor (Beltran, 2006). El gas de purga pasa a través de la muestra. La trampa, (desorción), está caliente y el gas extractante conduce los analitos hacia el cromatógrafo de gases, donde tiene lugar la separación de estos. La cromatografía de gases/masas es una técnica de separación, identificación y confirmación de analitos. En ella la mezcla que contiene los analitos es arrastrada por un gas inerte a través de una columna y separados en función de su polaridad. La separación de compuestos depende de varios factores como: Naturaleza y flujo del gas portador, polaridad y longitud de la columna, temperatura del inyector y rampa de temperatura del horno cromatográfico. Una vez

separados los analitos, se identifican y confirman en el espectrómetro de masas. Mediante energía eléctrica se rompen los analitos en iones con su masa característica. A cada analito le corresponde un patrón de iones determinado, de modo que su coincidencia confirma la presencia del analito. La identificación y confirmación de analitos en el espectrómetro de masas depende de varios factores: naturaleza de la fuente que irradia la energía eléctrica y del modo de operación. El objetivo de este trabajo es desarrollar un método analítico capaz de identificar y cuantificar: hexanal, 2-trans-hexenal, 1-penten-3-ona y 6-methyl-5-hepten-2-ona (Tabla 1) para poder realizar una evaluación de la calidad de la vida útil del tomate Raf. Para ello se realizará un ensayo preliminar de envases en atmósferas modificadas.

**Tabla 1.** Compuestos estudiados con sus estructuras químicas.

| Compuesto               | Estructura química   |
|-------------------------|--|
| Etil Vynil Ketona       |    |
| Hexanal                 |    |
| Trans-2-hexenal         |   |
| 6-methyl-5-hepten-2-ona |  |

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos y productos químicos

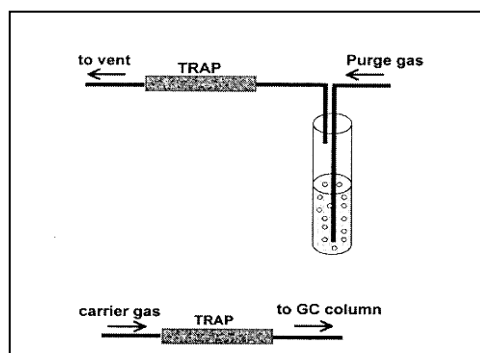
Los patrones de referencia utilizados fueron: Ethyl Vynil Ketona (Sigma Aldrich, 97% de pureza).Hexanal (Sigma Aldrich, 97% de pureza)Trans-2-hexenal (Sigma Aldrich, 95% de pureza).6-methyl-5-hepten-2-ona (Sigma Aldrich, 98% de pureza).El estándar interno utilizado fue MTBE. Grado HPLC, 98.9% de pureza. Como extractante, se utilizó ClCa2 al 99.5% de Panreac. Los solventes orgánicos (metanol y agua mili Q) presentaron calidad analítica de Panreac.

### Muestras

Las muestras, *Lycopersicum esculentum* (variedad RAF), utilizadas en el ensayo son proporcionadas por el laboratorio de COEXPHAL, unión de cooperativas hortícolas almerienses.

### Materiales

Sistema purga y Trampa. (Fig 1). Para el enriquecimiento de las muestras se utilizó un concentrador Tekmar 3100 P&T (Cincinnati, OH, USA). El sistema estaba equipado con un vaso contenedor de muestras de 5-ml y 30cm×0.312 cm I.D. trampa absorbente empacada con Gel Tenax/Silica.



**Fig 1.** Proceso Purga y Trampa .El gas de purga pasa a través de la muestra. La trampa, (desorción), está caliente y el gas portador conduce los analitos hacia el cromatógrafo de gases, donde tiene lugar la separación de estos.

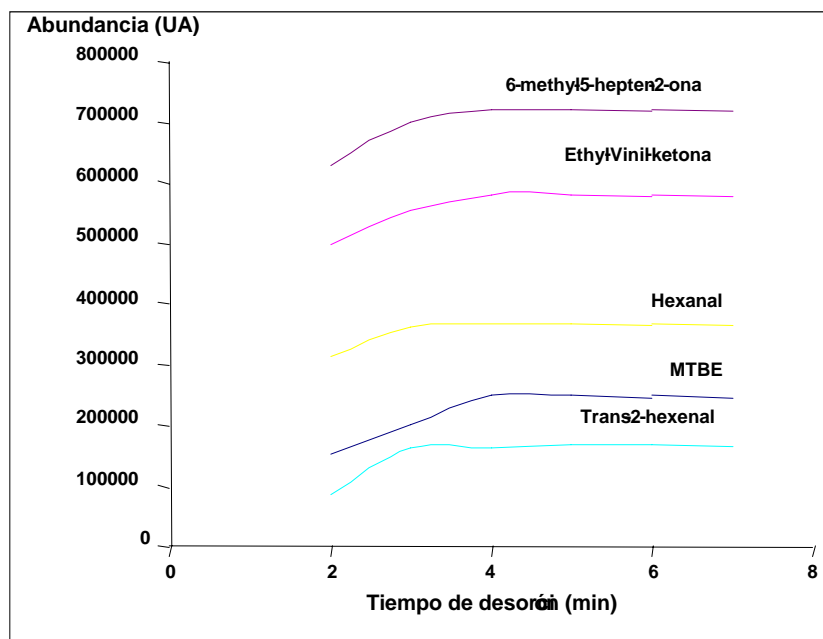
Sistema analizador GC-MS. Cromatógrafo de gases HP 6890 (Hewlett-Packard, Palo Alto, CA,USA) interconectado a un detector selectivo de masas HP 5973 .La adquisición de datos, procesamiento y control instrumental fueron desarrollados mediante el software Chem-Station HP mass-selective detector.

### Procedimiento de extracción

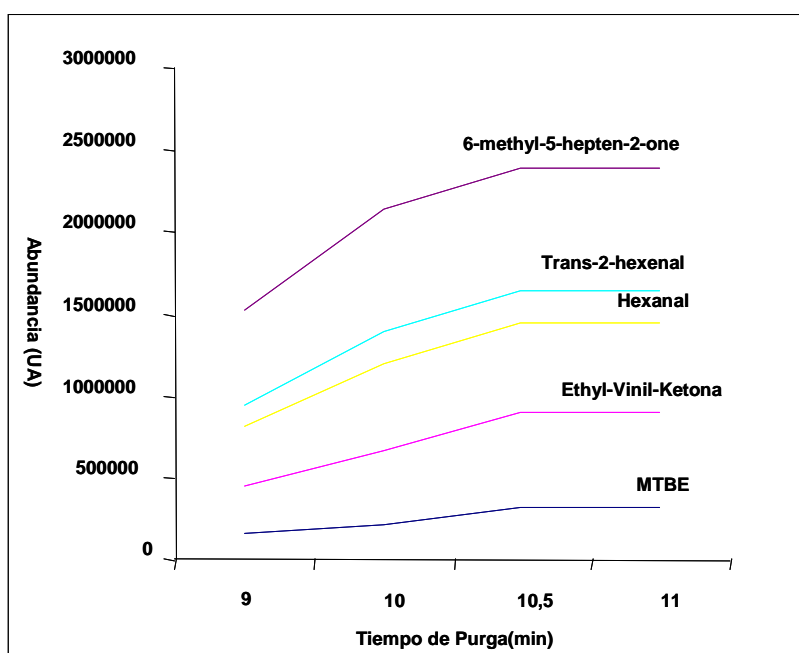
Se procedió a triturar tomate (sin lavar) hasta el grado de puré.:Se pesaron 6gr del tomate antes triturado y se diluyeron con 30ml de extractante. Previamente se optimizó la solución del extractante. Para ello se hicieron diversos análisis en: Agua, Metanol, Acetona, Agua:metanol 50:50, Agua:metanol 80:20, Agua:metanol 90:10, Agua:metanol 95:5. Siempre se utilizó una Solución saturada en ClCa;.La solución extractante con la que se obtuvo mayor número de volátiles de interés fue: Agua:100% saturada en ClCa. Para facilitar y completar el proceso de extracción se procedió a la utilización del ultrasonidos. Previamente se optimizó el tiempo de ultrasonidos realizando diversos análisis: 7, 10, 15, 20 y 40 min. El tiempo de ultrasonidos con el que se obtenía mayor representación de abundancia en los volátiles de interés era de 10 min ( con tiempos mayores comienza la degradación de volátiles).:El filtrado del extracto de tomate se realizó mediante un büchner-Kitasato. A continuación el extracto se inyectó en el Purga y Trampa.

### Condiciones Purga y Trampa

Volumen de inyección: 4mL,temperatura de absorción: 30°C ,temperatura de desorción: 220°C, tiempo de purga: 10.5 min (Fig 2), tiempo de desorción: 4 min (Fig 3).



**Fig 2.** Tendencia de la abundancia de cada analito con el incremento del tiempo de desorción. Para optimizar el tiempo de desorción, se mantuvo una purga constante de 11 min. Pone de manifiesto que en el tiempo de desorción de 4 min hay un máximo/cambio de tendencia en cada analito.



**Fig. 3.** Tendencia de la abundancia de cada analito con el incremento del tiempo de purga. Para optimizar el tiempo de purga, se mantuvo constante una desorción de 5 min. Pone de manifiesto que en el tiempo de purga de 10.5 min hay un máximo/cambio de tendencia en cada analito.

## Análisis GC-MS

Columna Modelo NO: 190915-433HP-5MS (5% diphenyl-95% methylsiloxane) Capilaridad 30.0 m × 250 μm × 0.25μm nominal. Gas portador: flujo de 1ml/min de helio. Temperatura del inyector: se optimizó a 250°C. T Inicial= 40°C. Mantenida 8 min. Rampa= 120°C/min. Mantenida 2 min. Tiempo cromatográfico total: 18 min. Fuente: Impacto Electrónico (EI)(Ionización Interna), 70 ev. Modo de operación: SIM. Tabla 2.

**Tabla 2.** Optimización de parámetros cromatográficos-MS

| Compuestos                     | Tiempo retención(min) | de Iones monitorizados seleccionados(RA%) |
|--------------------------------|-----------------------|---|
| <b>MTBE</b>                    |                       |   |
| <b>(Standard Interno )</b>     | 1.653                 | 73 (100)*, 57 (30)                        |
| <b>Ethyl Vinyl Ketona</b>      | 2.533                 | 55 (100), 43 (50), 84(40)                 |
| <b>Hexanal</b>                 | 4.862                 | 56 (100), 44 (90), 72 (40)                |
| <b>Trans-2-hexenal</b>         | 7.148                 | 69 (100), 83 (85), 98 (40)                |
| <b>6-methyl-5-hepten-2-ona</b> | 12.423                | 108 (100), 69 (60), 111(50)               |

\*Pocentaje referido a la presencia de los iones mas abundantes para cada analito.

## Diseño experimental.

El ensayo consiste en determinar la presencia y la concentración de estos cuatro volátiles de interés en tomates empacados en atmósferas pasivas de un supermercado (Alcampo) durante el almacenamiento a dos temperaturas: 5°C y temperatura ambiente. Las tomas de muestras se realizan: 1, 4, 8, 11 y 14 días.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Validación de parámetros analíticos.

La obtención de recuperaciones, límite de detección y coeficiente de variación; para cada volátil analizado por cromatografía gaseosa acoplada a Purga y Trampa se presenta en la tabla 3 y figura 3.

**Tabla 3.** Validación de parámetros analíticos obtenidos en matriz de tomate.

| Compuestos                      | Recuperaciones % | Límite detección (ng/L) | Límite cuantificación (ng/L) |
|---------------------------------|------------------|-------------------------|------------------------------|
| <b>MBTE</b>                     | 40.12            | 23.8                    | 79.4                         |
| <b>Ethyl Vinyl Ketona</b>       | 37.00            | 32.9                    | 11 0                         |
| <b>Hexanal</b>                  | 24.24            |                         | 14.2                         |
| 2.58                            |                  |                         |                              |
| <b>Trans-2-hexenal</b>          | 50.27            | 90.9                    | 303.2                        |
| 1.77                            |                  |                         |                              |
| <b>6-methyl-5-hepten-2-ona.</b> | 22.24            | 29.7                    | 90.3                         |
| 0.52                            |                  |                         |                              |

Abundance

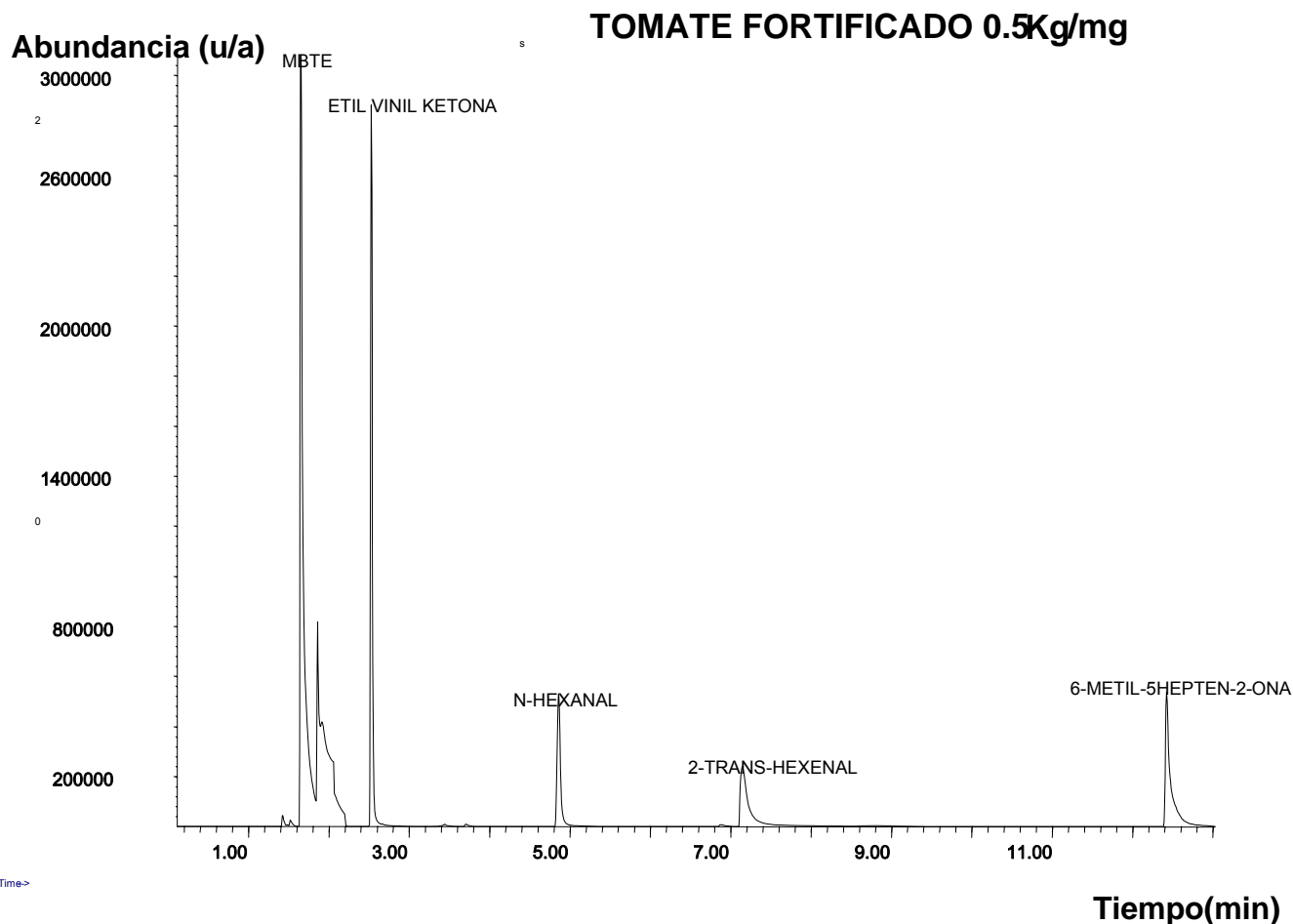


Fig 3. Cromatograma que representa la respuesta de los cuatro volátiles ensayados en matriz de tomate. La matriz de tomate se fortificó con la solución de patrones de 0.5ppm.

**Medida del efecto matriz .**

La medida del efecto matriz está representada por la respuesta de cada analito en disolvente, y la respuesta de cada analito en matriz de tomate. En las figuras : 4, 5, 6, 7 y 8 se muestra el efecto matriz para cada analito.

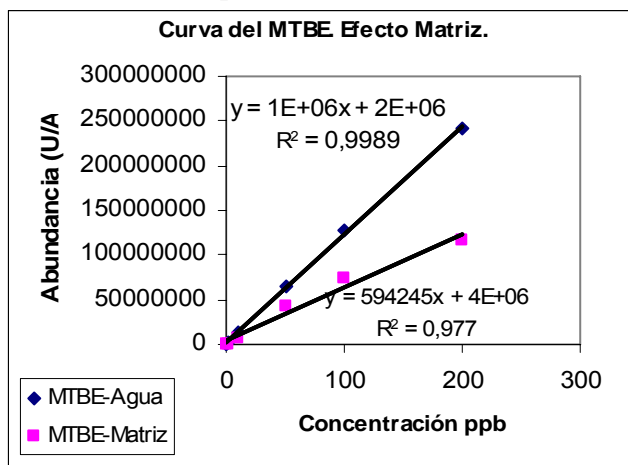


Fig 4. Presencia de la abundancia del MTBE en disolvente y en matriz de tomate.

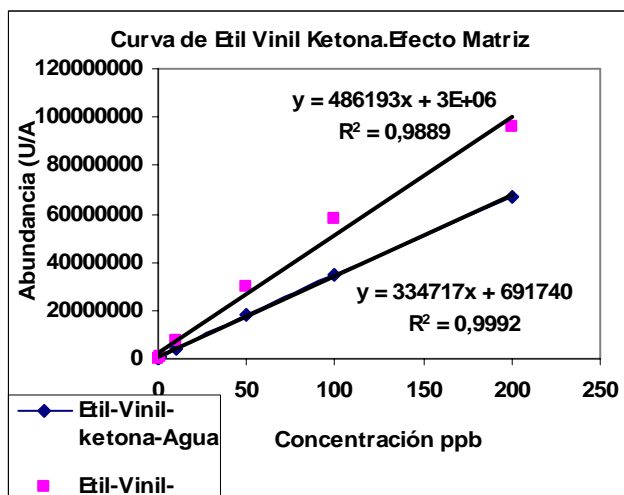


Fig 5. Presencia de la abundancia de Etil Vinil Ketona en disolvente y en matriz de tomate.

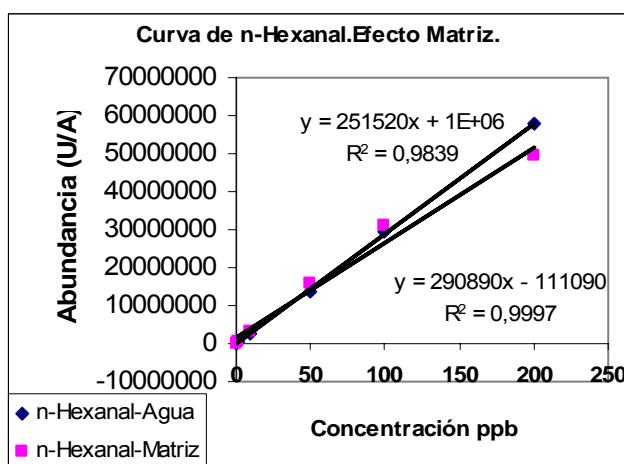


Fig 6. Presencia de la abundancia de n-Hexanal en disolvente y en matriz de tomate.

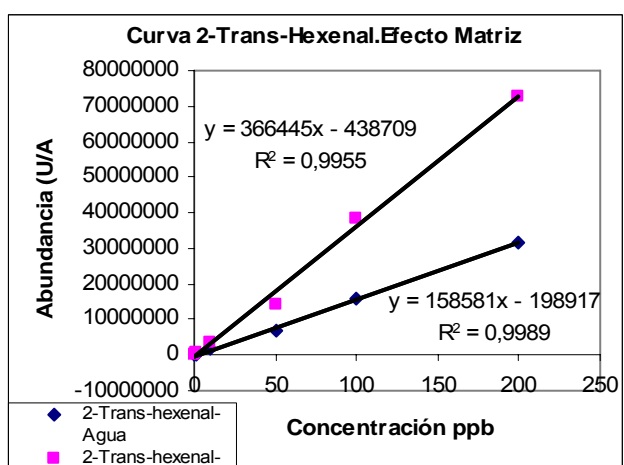
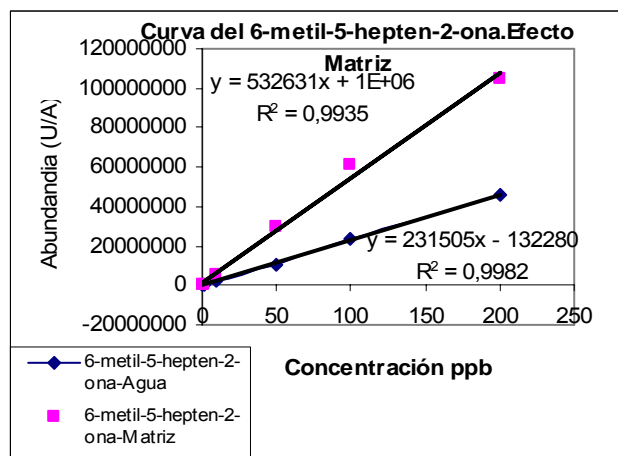


Fig 7. Presencia de la abundancia de 2-trans-hexenal en disolvente y matriz de tomate.



**Fig 8.** Presencia de la abundancia de 6-metil-5-hepten-2-ona en disolvente y en matriz de tomate.

#### **Evaluación analítica de volátiles durante el almacenamiento de tomate.**

Por problemas de instrumentación de los equipos :Purga y Trampa-Cromatógrafo GS-MS, no se ha podido concluir a tiempo el ensayo; no obstante presentaré los resultados durante la realización del Congreso. Disculpen las molestias.

### **DISCUSIÓN**

#### **Validación de parámetros analíticos.**

Las recuperaciones presentan valores desde 40.12 hasta 22.24, siendo normales con estos volátiles en matriz de tomate.

Los límites de detección y límites de cuantificación ponen de manifiesto la buena sensibilidad del Purga y Trampa-GC-MS.

Los coeficientes de variación fluctúan entre el 0.52 y el 2.58, poniendo de manifiesto la repetitividad del método.

#### **Efecto Matriz.**

El MTBE presenta menor ionización en matriz de tomate que en solvente, repercutiendo en menor respuesta y menor abundancia. El MTBE es un volátil que no forma parte del tomate, de modo que se encuentra en dicha matriz menos estable que en el disolvente.

La Etil Vinil Keton, hexanal, 2-trans-hexenal y 6-metil-5-hepten-2-ona, presentan mayor ionización, mayor respuesta y mayor abundancia en matriz de tomate. Estos volátiles son componentes naturales del tomate; por consiguiente se encuentran mas estables en su hábitat natural.

Evaluación analítica de volátiles durante el almacenamiento de tomate.

Se discutirá cuando se concluya el ensayo.

### **CONCLUSION**

Se concluirá cuando finalice el ensayo. Será presentado durante el Congreso.

### **AGRADECIMIENTOS**



Yolanda Cortés agradece al contrato “FPI” (formación de personal investigador) perteneciente al CIFA-La Mojonera. I.F.P.A. (Instituto de Formación Agrario y Pesquero de la Junta de Andalucía). Milagros Mezcua agradece al contrato de investigación: “Juan de la Cierva” perteneciente al Ministerio Español de Ciencia y Tecnología.

### BIBLIOGRAFÍA

- Alonso A, García Martínez S, Valero M, Blasco P, Ruiz JJ and Ruiz-Bevia. 2003 F.Análisis cuantitativo de compuestos volátiles responsables del aroma en variedades tradicionales del tomate.. X Congreso nacional de ciencias hortícolas. Actas de horticultura. 39: 73-75
- Angelika Krumbein.; Peter Peters.; Bernhard Brüchner. 2003. Flavour compounds and a quantitative descriptive analysis of tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) of different cultivars in short –term storage. *Postharvest Biology and Technology*. 32: 15-28.
- Cebolla Cornejo, J.; Roselló, S.; Beltran, J.; Serrano, E. Variedades tradicionales y comerciales de tomate. Instituto de Conservación y Mejora de la Agrodiversidad Valenciana(COMAV).
- J, Beltran.; E, Serrano.; F, J, López.; A, Peruga.; M, Valcarcel.; S, Rosello. 2006. Comparison of two quantitative GC-MS methods for análisis of tomato aroma based on purge-and-trap and on solid-phase microextraction. *Anal Bioanal Chemistry*. 385: 1255-1264.
- Milagros Mezcua.; Ana Agüera.; María Dolores Hernando.; Luis Piedra.; Amadeo R, Fernández-Alba.2003. Determination of methyl tert-butyl ether and tert-butyl alcohol in seawater samples using purge-and-trap enrichment coupled to spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*. 999:81-90
- K.S, Tandon; E.A, Baldwin; R. L, Shewfelt. 2000. Aroma perception of individual volatile compounds in fresh tomatoes( *Lycopersycon esculentum*, Mill.) as affected by the medium of evaluation. *Postharvest Biology and Technology*. 20: 261-268.