

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA
ESCUELA TÈCNICA SUPERIOR DE INGENIERIA AGRONÓMICA Y DEL
MEDIO NATURAL



**EVALUACIÓN DE UN SISTEMA DE ENMASCARAMIENTO DE OLOR DE
MUESTRAS DE AJO, MEDIANTE UN SISTEMA DE NARIZ
ELECTRÓNICA**

TESINA DE MASTER

PRESENTADA POR:
ROBERTO ORDOÑEZ ARAQUE

DIRIGIDA POR:
JOSE MANUEL BARAT BAVIERA

VALENCIA 2014

RESUMEN

La tendencia actual de la industria agroalimentaria se enfoca en el desarrollo de alimentos funcionales y naturales para el consumo diario. El ajo, por ejemplo, presenta una actividad antioxidante y antimicrobiana y según recientes reportes, podría asociarse también con efectos anticancerígenos. Estas características hacen del ajo un potencial ingrediente para el desarrollo de productos funcionales; sin embargo su característico olor limita su uso.

Este trabajo evaluó el posible enmascaramiento de los compuestos que desarrollan el olor en el ajo, empleando sistemas de liberación controlada, reportados recientemente en diversas aplicaciones alimenticias.

Mediante el uso de una Nariz Electrónica, construida por el departamento de electrónica de la Universidad Politécnica de Valencia, se detectaron muestras de uno de los compuestos organosulfurados más importantes en el desarrollo del olor del ajo, dialil disulfuro. Este compuesto fue encapsulado en un soporte microparticulado de sílice mesoporosa (MCM41), que a su vez fue recubierto con dos diferentes sistemas moleculares. Estos sistemas, actúan como puertas para controlar la liberación del compuesto cargado en los poros. En este trabajo, dichos sistemas se propusieron como dispositivos potenciales para enmascarar el olor de dialil disulfuro encapsulado.

Los resultados obtenidos por la nariz electrónica se analizaron mediante un desarrollo estadístico multivariado de componentes principales (PCA). Se encontraron interesantes diferencias entre los sistemas a los que no se ancló ningún tipo de puerta molecular y los sistemas que si la incluían. Adicionalmente las muestras recubiertas, se agruparon dentro de las muestras 'blanco', que no contenían el compuesto en sus poros ni los sistemas moleculares en su superficie. Por lo tanto dichas muestras 'blanco' no tenían un olor característico perceptible por el equipo y deja ver el posible efecto de enmascaramiento que produjo el uso de los sistemas moleculares. En conclusión este trabajo mostró la capacidad de la nariz electrónica para diferenciar un sistema de encapsulamiento que puede llegar a enmascarar los olores del compuesto cargado en su interior; lo que abre la puerta a interesantes aplicaciones dentro del campo de la tecnología alimentaria y el análisis sensorial.

PALABRAS CLAVE:

Nariz electrónica, ajo, dialil disulfuro, puertas moleculares, PCA, soportes microparticulados de sílice mesoporosa.

ABSTRACT

The current trend in the food industry focuses on the development of functional and natural food for daily consumption. Garlic, for example, have an antioxidant and antimicrobial activity and according to recent reports, could also be associated with anti-cancer effects. These features make the garlic ingredient extremely usefu for the development of functional products; however its characteristic odor limits its use.

This study evaluated the potential possibility to mask developing compounds in garlic odor using controlled release systems, recently reported in various food applications.

Using an Electronic Nose, built by the electronics department of the Polytechnic University of Valencia, samples of one of the most important organosulfur compounds in the development of the smell of garlic, diallyl disulfide were detected. This compound was encapsulated in a microparticle support mesoporous silica (MCM41), which in turn was coated with two different molecular systems. These systems act as gateways to control the release of the compound loaded in the pores. In this work, these systems were proposed as potential odor masking devices diallyl disulfide encapsulated.

The results obtained by the electronic nose were analyzed by multivariate statistical development of principal components (PCA).

Interesting differences between the systems were found to which any door and molecular systems were not anchored. Additionally the coated samples were grouped within the 'white' sample, containing no compound of pore molecular systems or on its surface. Therefore these samples 'white' had no noticeable characteristic odor for the team and reveals the possible masking effect produced using molecular systems. In conclusion, this study demonstrated the ability of the electronic nose to differentiate encapsulation system able to mask the odor of the compound loaded therein; which opens the door to interesting applications in the field of food technology and sensory analysis.

KEY WORDS:

Electronic nose, garlic, diallyl disulfide, molecular gates, PCA, microparticulate silica mesoporous supports.

RESUM

La tendència actual de la indústria agroalimentària s'enfoca en el desenvolupament d'aliments funcionals i naturals per al consum diari. L'all, per exemple, presenta una activitat antioxidant i antimicrobiana i segons recents informes, podria associar-se també amb efectes anticancerígens. Aquestes característiques fan de l'all un potencial ingredient per al desenvolupament de productes funcionals; no obstant, el característic olor limita el seu ús.

Aquest treball va avaluar el possible emmascarament dels compostos que desenvolupen l'olor en l'all, emprant sistemes d'alliberament controlat, reportats recentment en diverses aplicacions alimentoses.

Mitjançant l'ús d'un Nas Electrònic, construït pel departament d'electrònica de la Universitat Politècnica de València, es van detectar mostres d'un dels compostos organosulfurats més importants en el desenvolupament de l'olor de l'all, dialildisulfur. Aquest compost va ser encapsulat en un suport microparticulat de sílice mesoporos (MCM41), que al seu torn va ser recobert amb dos diferents sistemes moleculars. Aquests sistemes, actuen com a portes per a controlar l'alliberament del compost carregat en els porus. En aquest treball, aquests sistemes es van proposar com a dispositius potencials per a emmascarar l'olor de dialildisulfur encapsulat.

Els resultats obtinguts pel nas electrònic es van analitzar mitjançant un desenvolupament estadístic multivariat de components principals (PCA).

Es van trobar interessants diferències entre els sistemes als quals no es va ancorar cap tipus de porta molecular i els sistemes que si la incloïen. Addicionalment les mostres recobertes, es van agrupar dins de les mostres 'blanc', que no contenien el compost en els seus porus ni els sistemes moleculars en la seua superfície. Per tant aquestes mostres 'blanc' no tenien una olor característica perceptible per l'equip i deixa veure el possible efecte d'emascarament que va produir l'ús dels sistemes moleculars. En conclusió aquest treball va mostrar la capacitat del nas electrònic per a diferenciar un sistema d'encapsulament que pot arribar a emascarar les olors del compost carregat en el seu interior; això obri la porta a interessants aplicacions dins del camp de la tecnologia alimentària i l'anàlisi sensorial.

PARAULES CLAU:

Nas electrònic, all, dialil disulfur, portes moleculars, PCA, suports microparticulats de sílice mesoporós.

Tabla de contenido

INTRODUCCIÓN	6
Compuestos del Ajo.....	6
Sistemas nanoestructurados de sílice mesoporosa	7
Sistemas de liberación controlada – Puertas moleculares	7
MATERIALES Y MÉTODOS	9
Materia Prima	9
Síntesis de los sistemas de encapsulación	9
Síntesis de micropartículas de sílice mesoporoso MCM-41 (S0)	9
Encapsulado de los componentes de ajo	10
Carga del dialil disulfuro en los sistemas mesoporosos (S1)	10
Funcionalización de los soportes cargados con DADS	10
Síntesis de S2	10
Síntesis de S3	10
Medidas en nariz electrónica, Diseño del experimental.	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	11
Ensayos preliminares	11
Experimental.....	12
Comparación entre sólidos S0 y S1	14
Estudio de los Sólidos S0, S1 y S3.....	14
Comparación sólidos S3 y S1	16
Estudio de sólido S0, S1 y S2.....	16
Comparación de sólidos S1 y S2.....	17
CONCLUSIONES.....	18
REFERENCIAS.....	19

INTRODUCCIÓN

Compuestos del Ajo

Dentro de la composición del ajo, además de hidratos de carbono, proteínas, vitaminas (B1, B3, B6, C, E), minerales como fósforo, zinc, potasio, yodo, lípidos, terpenos, flavonoides, enzimas, sales de selenio, azúcares y diferentes elementos fenólicos. (Block, 1985) Se distinguen centenares de compuestos bioactivos, principalmente asociados a los componentes azufrados. Se encuentra de forma profusa el aminoácido azufrado aliína o sulfóxido de S-alil-cisteína. (López, 2007) La aliína (sulfóxido de S-alil-cisteína), es un derivado del aminoácido cistiína que constituye el principal sustrato para la enzima aliinasa, que una vez desligada de su compartimiento intracelular por rotura (molturación, trituración), se transformará en alicina (dialiltiosulfonato), causante del olor representativo del ajo, ésta se descompone inmediatamente y forma mono- di- y trisulfuros, así como otros derivados azufrados como el ajoeno, el disulfuro de dialilo, trisulfuro de dialilo, y diallil disulfuro, este último representa un 70% de los organosulfuros que dan el olor característico al ajo. (Navarro, 2007., Díaz y Jiménez 2008., Fulder y Blackwood, 1997).

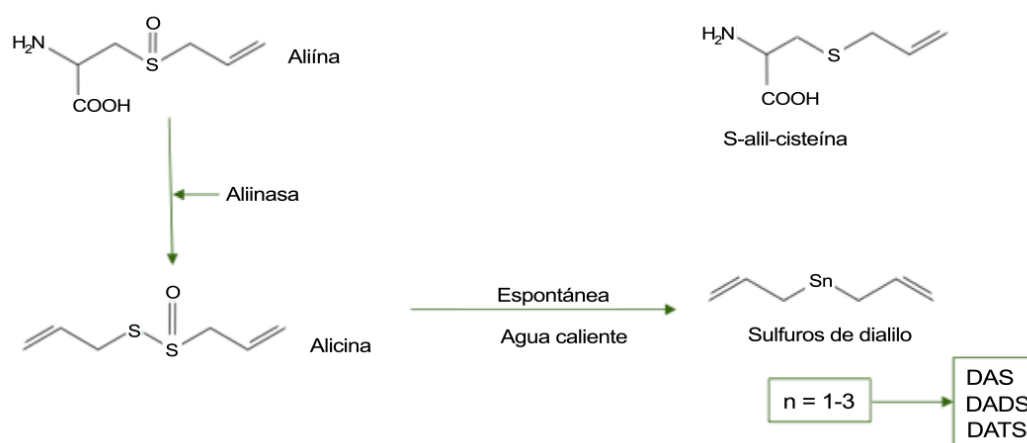


FIGURA 1. Síntesis de algunos componentes del ajo y derivados. DAS: Sulfuro de dialilo; DADS: Disulfuro de dialilo; DATS; Trisulfuro de dialilo. (Navarro, 2007)

Dichos componentes azufrados presentes en el ajo se consideran bioactivos; entre los elementos más importantes destaca: la Aliína y Ajoeno (ajocisteína), a la que se asocia una posible acción hipotensora hipoglucemiante, anti-inflamatoria y vasodilatadora. Así mismo, recientes estudios del sulfuro de dialilo y organosulfuros asociados, han demostrado la acción hipocolesterolemia, y preventiva frente a daños químicos del DNA, (a través del aumento de la producción de enzimas desintoxicantes) además de posibles efectos quimioprotectores que favorecen la acción desintoxicante del hígado frente a sustancias químicas nocivas para el organismo. (García y Sánchez, 2000)

Sistemas nanoestructurados de sílice mesoporosa

Dentro de los materiales denominados M41S, el más estudiado y utilizado es el MCM-41. Materiales compuestos de sílice amorfa (SiO₂), que poseen una fuerte estructura definida y ordenada, con un tamaño de poro entre 2 y 50 nm. (Esquivel, 2011), (Kresge et al. 1992) Este material presenta una elevada área superficial, una formación porosa topológicamente ordenada (poros hexagonales) con una estrecha distribución entre ellos y un buen diámetro de poro que sirve para procesar sustratos voluminosos. (Fellenz et al. 2012)

A lo largo del tiempo, se destaca su uso en aplicaciones farmacéuticas, un ejemplo de ello se muestra en el trabajo de Vallet et al, donde se realizó la adsorción de ibuprofeno por impregnación, seguido de una liberación, introduciendo el polvo en medios diferentes de la liberación in vitro. (Vallet et al. 2001) Del mismo modo se reportan estudios sobre la liberación controlada de vitamina B2 en agua a partir de materiales a base de sílice mesoporosos que nos permite ver lo importancia de estos sistemas como soportes de encapsulación y liberación controlada de diversos compuestos, con excelentes resultados. (Bernardos, 2008)

Dentro de las propiedades o características que tienen estos sólidos la forma como está hecha su superficie permite que hayan interacciones a través de las cuales es posible anclar una gran variedad de moléculas, inicialmente se las usaba adhiriéndoles marcadores moleculares, después con el auge de la liberación controlada se planteó usar moléculas que recubren la superficie de dichos sólidos, desarrollando una tecnología llamada "molecular gates" (puertas moleculares). (Coll et al. 2013)

Sistemas de liberación controlada – Puertas moleculares

Las puertas moleculares son sistemas que controlan la liberación de una carga a través de la aplicación de un estímulo externo, estos pueden ser físicos, químicos o bioquímicos. Dentro de sus aplicaciones se cuenta el diseño de materiales auto-reparadores, fármacos, fertilizantes, pesticidas y herbicidas, etc. (Bernardos, 2011)

Recientes estudios buscan aplicar estos sistemas en el área de alimentos; se reportan principalmente dos tipos de puertas; un sistema molecular de hidrolizados de almidón, denominado G47 y un sistema de poli-aminas. En función al estímulo al que responden dichos sistemas, resultan de amplio interés dentro del desarrollo de nuevos productos alimenticios.

La puerta molecular G47 responde a una acción enzimática. En presencia de pancreatina, el enlace glicosídico (1 → 4) entre β-D-glucosas presente en el almidón se hidroliza con la posterior liberación del contenido encapsulado en los poros. En cuanto a las puertas constituidas por poli-aminas (dentro de las que se encuentran puerta N3 y puerta carboxilato), son sistemas que responden a un cambio de pH, basado en un proceso de 'protonación/desprotonación'. Cuando el medio se encuentra en un pH ácido, los átomos de nitrógeno de las poliaminas sufren repulsiones electrostáticas y son completamente protonados. Estas repulsiones hacen que las poli-aminas se configuren de cierto modo que bloquean los poros del soporte y en consecuencia, se inhibe la liberación de la carga. Sin embargo a pH neutro,

las poliaminas se desprotonan y las repulsiones electrostáticas disminuyen, lo que permite una conformación flexible de las poliaminas, lo que desbloquea el poro y permite la liberación de la carga. (Oroval 2013., Acosta 2014)

En resumen, la superficie externa de estos materiales mesoporosos (MCM-41) se funcionaliza con distintos tipos de moléculas idóneas encapsulando en el interior de su poro a diferentes tipos de materiales químicos. Una vez logrado esto, un determinado estímulo externo puede producir que la puerta se abra y el material libere la muestra encapsulada en los poros o que admita el ingreso de otras especies moleculares que se encuentren en el medio. (Casasús, 2009) Esto puede ser interesante en el sentido que moléculas volátiles podrían llegar a ser retenidas igualmente por el sistema de puertas, de modo que dichos dispositivos servirían a su vez para enmascarar características como el olor, lo que en la industria alimentaria representa una interesante aplicación para el desarrollo de nuevos productos.

Nariz electrónica.

Se han considerado sistemas olfativos artificiales como instrumentos que realizan una serie de análisis de mezclas complejas de gases. Estos tienen el nombre de nariz electrónica, su objetivo es analizar cualitativamente aromas difíciles de percibir, reconociendo sus huellas olfativas, valorando los componentes de la muestra a analizar en todo su conjunto y no de una manera cuantitativa. (Lozano et al., 2008)

El propósito general del sistema de sensores de una nariz electrónica es el de emular el sistema olfativo diferenciando adecuadamente los distintos tipos de volátiles que le sean requeridos, para la empresa alimentaria el uso de estos sistemas cada vez es mayor y está más en auge especialmente en el análisis sensorial de sustancias complejas.

Desde el desarrollo del primer sistema en ser llamado nariz electrónica en 1982, se han venido desarrollando un sinnúmero de investigaciones referentes. (Rodríguez, 2001) Podemos encontrar muchas en el ámbito de análisis sensorial de alimentos, ejemplos importantes realizados son la identificación y diferenciación de vinos varietales elaborados bajo idénticas condiciones (Guadarrama et al., 2001), evaluación y control de calidad de aceite de oliva (Vaz et al., 2011), monitorización del estado de maduración de la fruta (Brezmes, 2001), en cuanto al ajo uno de los estudios más relevantes desarrollados fue el que se realizó para discriminar 8 tipos de especies, secadas en estufa, liofilizadas y humedecidas (previamente secadas por las dos técnicas), dando un gran resultado donde el sistema supo identificar cada variedad y sistema de conservación aplicado. (Baby et al., 2009)

Sistema de análisis de datos, PCA.

En una red amplia de sensores como es la de la nariz electrónica, el número de variables es muy alto, hay que recurrir a métodos de análisis sofisticados que permitirán observar las diferencias entre todas las series de datos como algo global y no como una respuesta individual de cada sensor. (Gardner, 1991) El método que asume colinearidad entre las variables que intervienen en el sistema se llama PCA (análisis de componentes

principales), un algoritmo lineal adecuado para explotar el concepto de variables solapadas que se utiliza en las narices electrónicas. (Jackson, 1981) Esta es una técnica no supervisada útil cuando se busca una relación entre muestras, variables o cuando no existan ejemplos con otros modelos para comparar. En resumen, las muestras con características olfativas comunes estarán alineadas en la misma región del espacio, mientras que cuan mayor sea la diferencia entre ellas, los clusters estarán más separados. (Durán 2013)

El objetivo de este trabajo fue evaluar a través del seguimiento del perfil aromático por nariz electrónica, dos sistemas de puertas moleculares (G47 y carboxilato), como dispositivos de enmascaramiento de olor de dialil disulfuro (DADS) que fue encapsulado en un sistema de micropartículas de sílice mesoporosa MCM41.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materia Prima

Todos los productos fueron usados directamente sin la aplicación de ningún tipo de purificación. Diallyldisulfide (Tech., 80%) y NaClO₄ (reactivo ACS, 98%) se adquirió de la casa Sigma Aldrich. El NaBr se compró en la casa comercial May y Baker Ltd, UK. Todas las soluciones se prepararon con acetonitrilo (grado de gradiente para HPLC, Fisher Scientific) y agua desionizada de resistividad no menor de 18,2 MU/cm-1 a 298 K (Milliporos UHQ, Vivendi, UK).

Los compuestos ortosilicato de tetraetilo (TEOS), n-bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), hidróxido de sodio, trietanolamina (TEAH₃), 3-aminopropiltriethoxisilano, 3 - [2 - (2-aminoetilamino) etilamino] -propil-trimethoxisilano, Carboxilato (N-[(3-trimethoxysilyl)propyl]ethylenediamine triacetic acid trisodium salt) y pancreatina fueron proporcionados por la marca Aldrich, Adicionalmente la organización Roquette donó las muestras de almidón modificado G47 (5% glucosa, 50% maltosa, 45% oligosacáridos y polisacáridos).

Síntesis de los sistemas de encapsulación

Síntesis de micropartículas de sílice mesoporoso MCM-41 (S0)

El soporte mesoporoso MCM-41, se sintetizó a través de la "ruta de los atranos" (Cabrera, El Haskouri et al. 2000) en donde se añadió 4,68 g de CTAB a 118 °C a una solución de TEAH₃ (25,79 g) que contenía 0,045 moles de un precursor de sílice (TEOS, 11 ml). Se adicionó 80 ml de agua, manteniendo una fuerte agitación a 70 °C. Después de unos minutos, se formó una suspensión blanca. Esta mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche. El polvo resultante se recogió por filtración y se lavó. El sólido se secó a 70 °C y con el fin de eliminar el

surfactante, se calcinó a 550 °C durante 5 h utilizando una atmósfera oxidante.

Encapsulado de los componentes de ajo

Carga del dialil disulfuro en los sistemas mesoporosos (S1)

En un matraz de fondo redondo se suspendieron 100 mg de micro-partículas mesoporosas MCM-41 (S0) en 40 ml de una solución de DADS disuelto en acetonitrilo. Se evaluaron tres concentraciones de encapsulado diferentes, 0.01 – 1 y 10 ml/mg. La mezcla se agitó durante 24 h a temperatura ambiente. Esta mezcla se filtró y se secó a temperatura ambiente durante 12 h.

Funcionalización de los soportes cargados con DADS

Síntesis de S2

En un matraz de fondo redondo se adicionó un exceso de carboxilato (N-[(3-trimethoxysilyl)propyl] ethylenediamine triacetic acid trisodium salt), 1.75ml) a 0,1 g S1 en 10 ml de acetonitrilo. La mezcla final se agitó durante 5,5 h a temperatura ambiente en una atmósfera inerte de nitrógeno. El sólido se filtró y se lavó con solución de ácido a un pH de 2,0 (se acidificó con ácido sulfúrico) y se secó durante 12 h a 35 ° C. (Bernardos, Aznar et al. 2008)

Síntesis de S3

En un matraz de fondo redondo se adicionaron en medio acuoso, en una relación 1:1 (w/w) el sólido S1 y el almidón modificado G47, previamente anclado a una amina (N1: aminopropyltriethoxysilane). La mezcla final se agitó durante 5,5 h a temperatura ambiente en una atmósfera inerte de nitrógeno. El sólido se filtró y se lavó con agua (milli-Q) y se secó durante 12 h a 35 ° C. (Bernardos, Aznar et al. 2008)

Medidas en nariz electrónica, Diseño del experimental.

Cabe destacar que los sensores en la nariz electrónica no tienen una medida uniforme para cualquier producto, si bien el fabricante da parámetros de cómo funcionará, estos lo harán de manera distinta ante cualquier nuevo compuesto, así que es imprescindible hacer una prueba inicial para saber cuál será nuestro tiempo idóneo de medida.

En este caso, luego de realizar un estudio preliminar, se determinó que era necesario una medida de limpieza del equipo de 10 minutos, después una medida de aire de 20 minutos y finalmente una medida de la muestra de 20 minutos; en la cual los sensores desarrollan una zona dinámica durante los primeros 10-12 minutos, seguida de una zona estable que se mantiene hasta el final de la medición; por lo que no es necesario tener la muestra más de ese tiempo.

Se diseñó un experimental de tres series de medida cada una con tres repeticiones hechas en días diferentes, Con el fin de obtener un conjunto de datos robustos que permitan hacer un claro análisis del sistema.

El ensayo inicial de detección del DADS se validó a través de una solución del compuesto en acetonitrilo, medida en tres concentraciones diferentes: 0,1 – 10 y 700 mg/ml. Finalmente con las condiciones del método validadas, se dio paso a la medición de los sólidos. Bajo el mismo diseño de 3 series X 3 repeticiones se evaluaron los sólidos: S0 S1, S2 y S3.

Para diferenciar las muestras se empleó una denominación que indica en primer lugar la concentración aparente de DADS presente en la muestra y luego, mediante una letra (G ó C) se indica el tipo de puerta empleado para funcionalizar el sólido. G para referirse al sistema S3 de hidrolizado de almidón, G47 y C para las muestras S2 que emplean un conjunto de aminos conocido como 'carboxilato', a continuación se muestra un ejemplo de notación (Tabla 1).

TABLA 1. Nomenclatura utilizada en muestras.

Muestra	Descripción
0	Muestra blanco: Sólido sin carga ni funcionalización de ninguna puerta (S0)
1	Sólido cargado con DADS en una concentración de 1mg/ml sin puerta (S1)
0.01C	Sólido cargado con una concentración de DADS de 0.01 mg/ml y recubierto con la puerta carboxilato (S2)
10G	Sólido cargado con una concentración de DADS de 10 mg/ml y recubierto con la puerta G47 (S3)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos preliminares

La Figura 2 presenta los resultados del primer ensayo donde se empleó el compuesto dialil disulfuro (DADS) en solución. Con un nivel de representatividad de los datos del 86.21%, se encontró una agrupación por concentración, que además se diferencia claramente de la solución que no contienen el compuesto (0). Adicionalmente, la agrupación entre concentraciones, dejó en un grupo diferenciado a las muestras de mayor concentración (700 mg/ml). Esto comprueba la efectividad del método en la detección del compuesto.

Para el caso específico de la Figura 2, no se considera la nomenclatura detallada en la Tabla 1, ya que aquí se hace referencia a las soluciones empeladas en el análisis preliminar: Tres concentraciones de la solución: 0 0.1 y 700, y la solución sin adición de DADS como 0

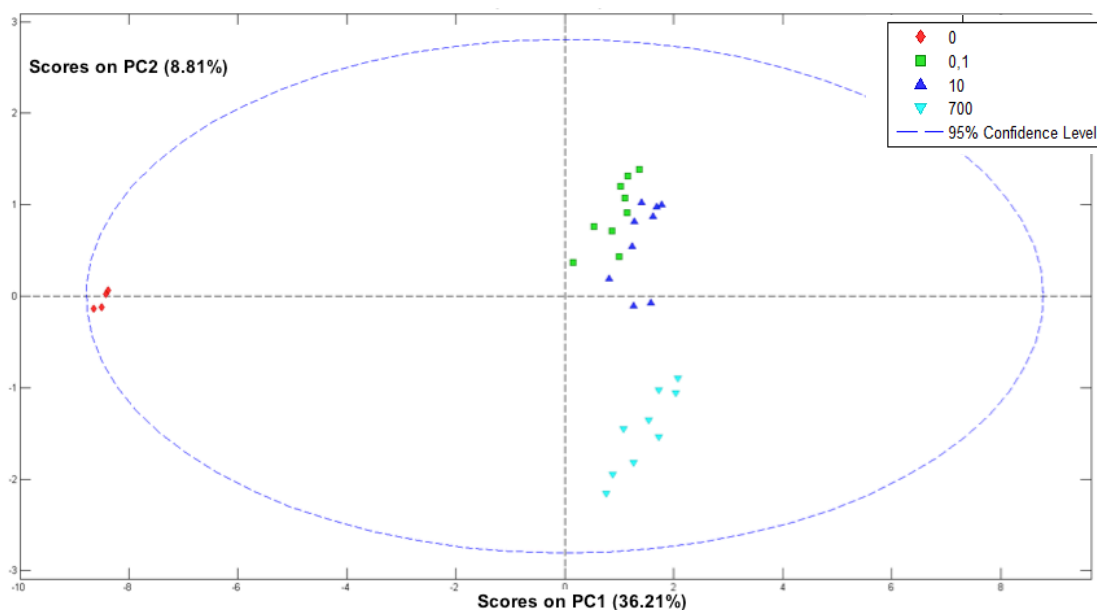


FIGURA 2. Análisis de componentes principales frente a compuestos de dialil disulfuro (DADS) en concentración de 0,1 mg/ml, 10 mg/ml y 700 mg/ml. Y muestra blanco de acetonitrilo que no contiene el compuesto de interés.

Experimental

La mayoría de estudios relacionados con el desarrollo de los sensores en la nariz electrónica, se hace directamente en la zona dinámica por razones de tiempo y por el tipo de muestra o producto utilizado, en este caso, el DADS dio una respuesta positiva al interactuar con los sensores y podemos tener análisis de las dos zonas (dinámica y estable), de modo que se realizó un análisis de todos los datos en conjunto, analizando por separado las dos zonas desarrolladas en la medición (dinámica y estable), y el conjunto de datos que compone las dos zonas (zona completa). Como se puede observar en las figuras 4, 5 y 6 se diferencian claramente los sólidos que no tienen puerta de los que tienen puerta.

Sin embargo, el análisis de la zona dinámica, aunque muestra diferencia entre los sistemas propuestos, tiene un nivel de representatividad de los datos de 50,63% el más bajo de los análisis propuestos. Para el caso del estudio completo de las zonas, aunque la representatividad de los datos es ligeramente mayor (56,16%), no se considera como la mejor opción para abordar el análisis, ya que al ver la marcada diferenciación en el agrupamiento de los sistemas y el nivel de representación de datos superior (casi 59%), la zona estable resultó la más adecuada para continuar con el análisis de los resultados.

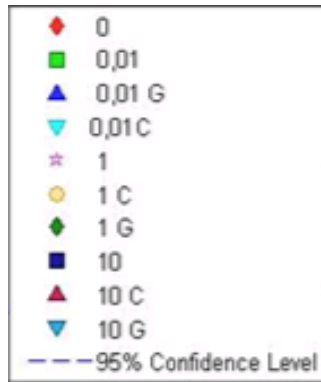


FIGURA 3. Nomenclatura utilizada a lo largo del análisis de resultados

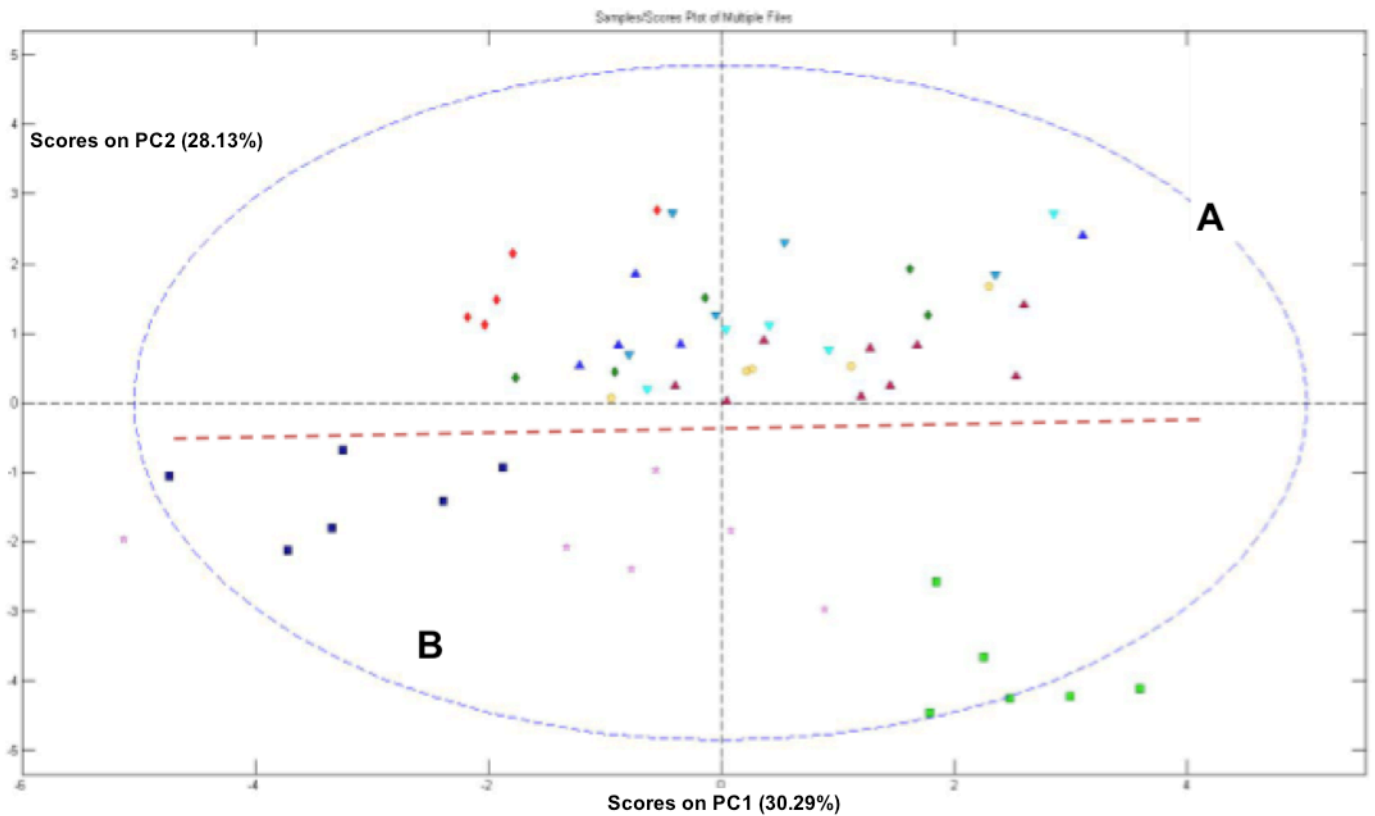


FIGURA 4. Análisis de los datos obtenidos en Zona Estable.

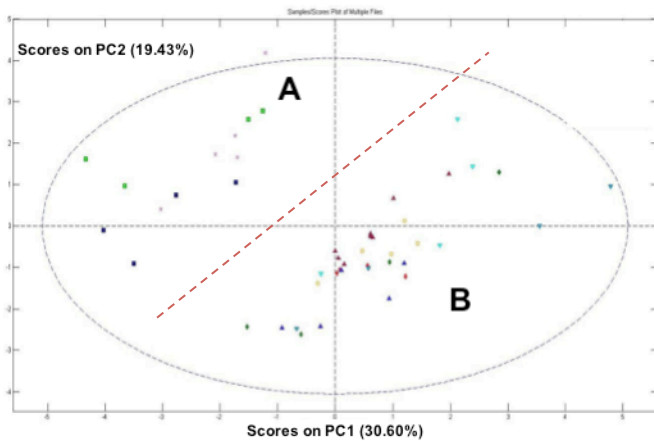


FIGURA 5. Análisis de datos obtenidos en Zona dinámica

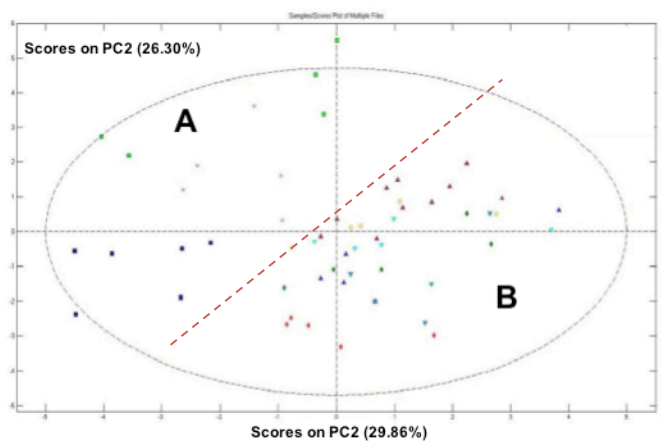


FIGURA 6. Análisis de datos en conjunto, Zona completa.

El agrupamiento representado en la Figura 4, deja a la muestra blanco (0) en la zona A, en esta zona se ubican todos los sólidos cargados con puerta, tanto el de azúcar y el carboxilato, mientras que en la zona B están ubicados todos los sólidos cargados sin puerta a distintas concentraciones.

Adicionalmente en la zona B observamos como los sólidos cargados sin puerta de concentración 0,01 están juntos en la parte derecha, los de concentración 1 se ubican en la mitad y los de 10 se ubican en la parte izquierda un poco más dispersos que los demás, vemos como los sensores de la nariz detectaron y clasificaron cada concentración de menor a mayor de derecha a izquierda. Aunque la representación de los datos es de un nivel no muy elevado (58,42%), la información recolectada puede considerarse representativa para los resultados encontrados.

Una vez analizada la zona estable en general, se decidió comparar distintos tipos de variables con el fin de analizar la respuesta de los sensores de la nariz electrónica según los distintos tipos de muestras.

Comparación entre sólidos S0 y S1

Con uno de los porcentajes más altos de fiabilidad (77,78%) este análisis muestra como los sensores distinguen la muestra blanco (S0) de los sólidos cargados con el compuesto DADS. Los clusters de la muestra blanco se ubican en la parte alta, lo interesante es como la muestra del sólido cargado se ubica en la parte inferior con una marcada correlación de concentración (Figura 7).

Estudio de los Sólidos S0, S1 y S3

En la Figura 8 vemos como la disposición de los clusters de cada muestra se ubica de manera distinta, la muestra blanco está independiente en la zona A parte izquierda y a su lado se ubican las muestras recubiertas con la puerta G47, cargadas con una concentración de 10-1-0.01 mg/ml, consecutivamente. Quizá existen unas pequeñas desviaciones de algunas muestras pero sin relevancia, ya que los sensores los ubican a todos de una manera uniforme. Mientras que los sólidos cargados sin puerta se ubican muy distantes de los demás y de una manera ordenada, empezando en la parte izquierda de la zona B con el de mayor concentración siguiendo así su curso de ordenación a la derecha. El porcentaje de representación de los datos es de 63,54% el cual es interesante a la hora del análisis ya que indica un buen nivel de concordancia de los resultados.

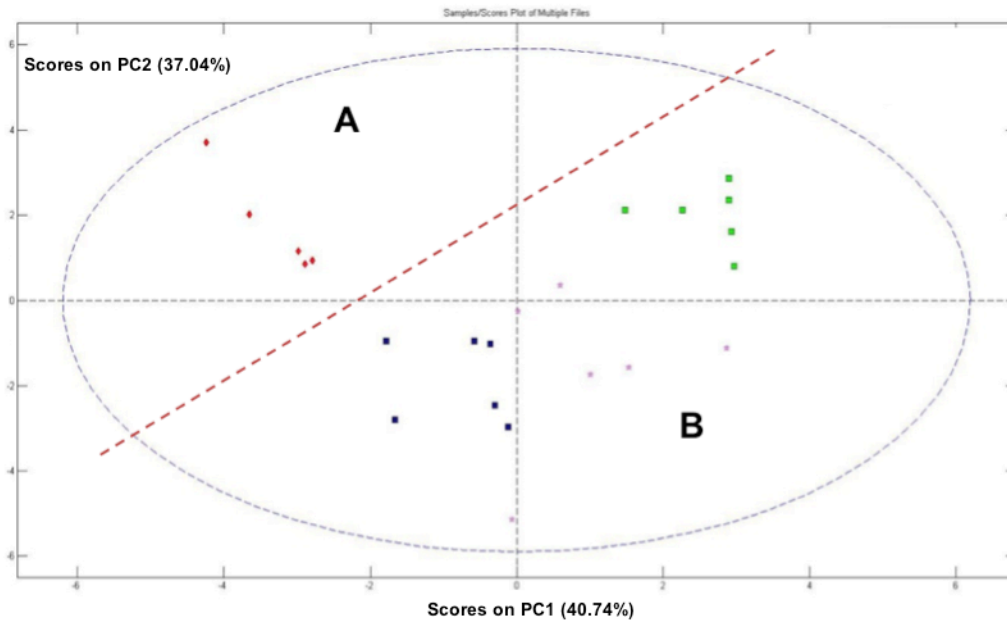


FIGURA 7. Análisis de componentes principales frente a sólido vacío (S0), y sólidos cargados sin puerta (S1) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml.

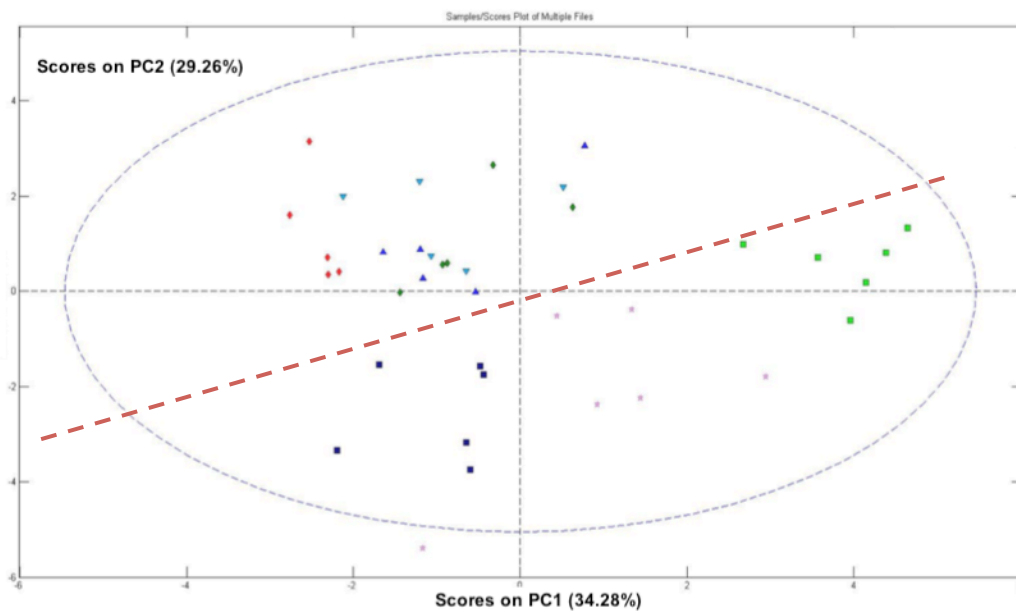


FIGURA 8. Análisis de componentes principales frente a sólido vacío (S0), sólidos cargados con puerta G47 (S3) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml y sólidos cargados sin puerta (S1) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml.

Comparación sólidos S3 y S1

Las muestras recubiertas con puerta G47 en la figura 9 se ubican en la parte central de la zona B, estas en todas sus concentraciones se encuentran relativamente unidas sin una gran separación; lo que puede deberse a que la nariz electrónica no puede discernir volátiles en las muestras recubiertas. Las muestras cargadas con DADS sin funcionalizar (S1) se encuentran separadas y con un agrupamiento marcado que va en orden ascendente de izquierda a derecha de menor a mayor. El porcentaje de representación de los datos es de 67,28%, que pese a no ser demasiado alto, da buena cantidad de información de los datos obtenidos.

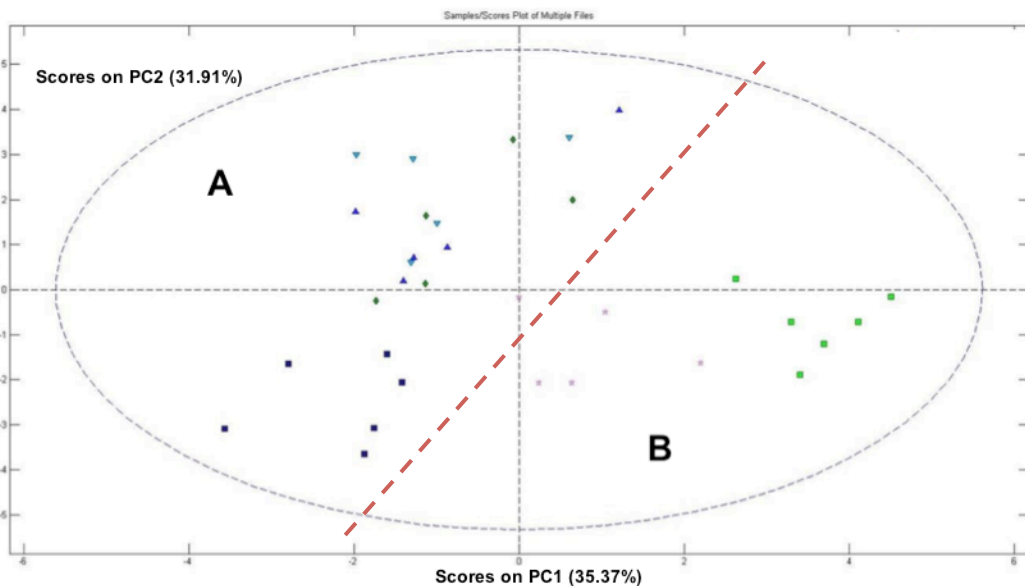


FIGURA 9. Análisis de componentes principales frente a sólidos cargados y recubiertos con puerta G47 (S3) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml y sólidos cargados sin puerta (S1) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml.

Estudio de sólido S0, S1 y S2

La figura 10 muestra la respuesta de la puerta de carboxilato, esta gráfica tiene un nivel de representación de los datos del 59,59%, porcentaje menor al arrojado en la comparación de la puerta de G47.

Se observa la muestra blanco en la sección superior (A) y direccionando a nuestros sólidos cargados con puerta, que se encuentran agrupados en la parte alta derecha. La gráfica muestra como los sensores no detectaron el olor del compuesto DADS y los ubicaron en una parte distinta a los sólidos que desprenden la volatilidad del compuesto que se encuentran en la parte inferior (B).

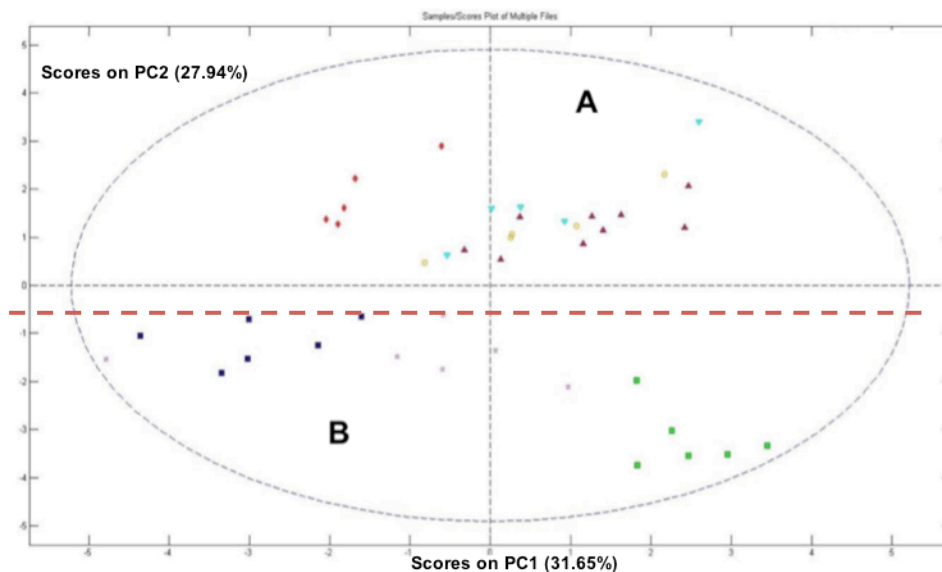


FIGURA 10. Análisis de componentes principales frente a sólido vacío (S0), sólidos cargados con puerta de carboxilato (S2) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml y sólidos cargados sin puerta (S1) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml.

Comparación de sólidos S1 y S2

La figura 11 tiene un ordenamiento un poco distinto a lo que se ha visto, aunque muestra la diferenciación entre sistemas esperada. Por un lado se agrupan los sólidos cargados sin puerta con su menor concentración desde la parte superior tomando un descenso hacia la izquierda en forma escalonada según la misma. Los sólidos cargados con puerta de carboxilato tienen una agrupación en la parte derecha de la sección B demostrando como los sensores los diferencian de las otras muestras.

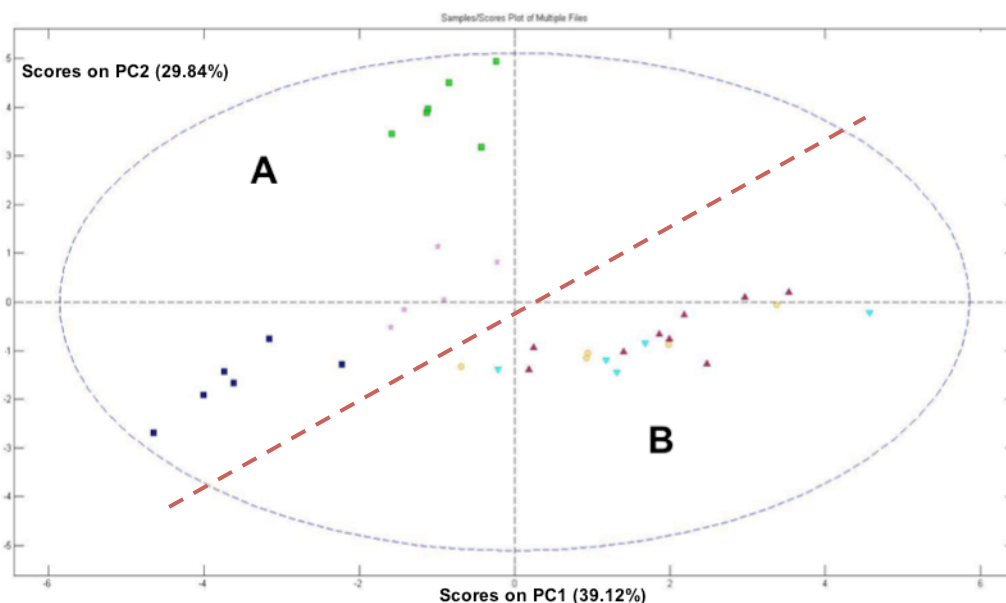


FIGURA 11. Análisis de componentes principales frente a sólidos cargados con puerta de carboxilato (S2) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml y sólidos cargados sin puerta (S1) a concentración de 0,01-1-10 mg/ml.

En general se puede decir que la nariz fue capaz de diferenciar los dos sistemas propuestos, ya que separó en diferentes zonas las medidas realizadas y agrupó por un lado, los olores de los sólidos cargados sin puerta en una línea de concentración y por otro, a los sólidos cargados con puerta en un conjunto comparable con la respuesta que genera un sólido vacío (muestra blanco). De modo que se abre paso a la posibilidad de asociar el sistema vacío, que en principio no genera ningún olor detectable por la nariz, con el aroma desprendido por los sistemas S2 y S3, cargados con el compuesto de interés DADS y recubierto con las puertas moleculares.

Sin embargo, para validar el presente estudio es necesario realizar un análisis físico químico y a su vez incluir una evaluación sensorial, que permita un análisis estadístico más completo para confirmar los resultados previos encontrados hasta ahora.

CONCLUSIONES

Se desarrolló un método de medición que empleando una nariz electrónica, fue capaz de no solo detectar, sino en cierta medida, diferenciar tres concentraciones de dialil disulfuro (principal componente organosulfurado en el desarrollo de olor del ajo), que pudieron ser diferenciadas también de un grupo de muestras blanco, que no contenían dicho compuesto.

Tras el análisis en las distintas zonas durante la medición, se determinó que la zona estable es la que arroja mejores resultados comparándola con la zona dinámica y el análisis de las dos zonas juntas, ya que muestra un buen nivel de representación de los datos y de ordenamiento de los clusters.

Se observó que los sensores de la nariz electrónica empleada, logran diferenciar las muestras que no tienen el sistema de puertas moleculares anclado; (que en principio desprenden más fácilmente el olor del compuesto encapsulado en su interior) de los sólidos recubiertos con las distintas puertas.

Se identificó una posible asociación de la muestra blanco (sólidos vacíos, sin carga de DADS y sin puertas), con las muestras cargadas y recubiertas por el sistema de puertas (S2 y S3), propuesto como dispositivo de enmascaramiento de olor.

REFERENCIAS

Abril, H.; Rodríguez, R.; Hernández, L. 2004. Ajo: consideraciones sobre sus propiedades farmacológicas y terapéuticas. *Revista Científica Villa Clara*. Vol 8, N.01.

Acosta, C.; Pérez-Esteve, E.; Fuenmayor, C.A.; Benedetti, S.; Cosio, M.S.; Soto, J.; Sancenón, F.; Mannino, S.; Barat, J.; Marcos, M.D.; Martínez-Máñez, R. 2014. Polymer coposites containing gated Mesoporous materials for on-command controlled release. *Applied Materials and interfaces*. 6 (9): P 6453-60

Baby, R.; Sance, M.; Bauzá, M.; Messina, V.; Rodríguez, E.; Gómez, A.; Walsøe de Reca, W.; Burba. 2009. Electronic nose study of powdered garlic. *Sensors and Transducers*, p. 26-34

Bernardos, A.; Aznar, E.; Coll, C.; Martínez, R.; Barat, J. M.,; Dolores, Ma.; Sancenón, F.; Benito, A.; Soto, J. 2008. Controlled release of vitamin B2 using mesoporous materials functionalized with amine-bearing gate-like scaffolds. *J Control Release*. 131(3):181–189.

Bernardos, A. 2011. Desarrollo y Síntesis de Materiales Híbridos, para la Liberación Controlada de Moléculas Bioactivas. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Brezmes, J. 2001. Diseño de una Nariz Electrónica para la Determinación no Destructiva del Grado de Maduración de la Fruta. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Cataluña.

Block, E. 1985. Química del ajo y la cebolla. *Revista Investigación y Ciencia*, 104:99-104.

Casasús, R. 2009. Diseño de Puertas Moleculares Controladas a Nivel Nanoscópico. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia.

Cabrera, S., J. El Haskouri.; Guillem, C.; Latorre, J.; Beltrán-Porter, G.; Marcos, M.; Amorós, P. 2000. Generalised syntheses of ordered mesoporous oxides: the atrane route. *Solid State Sci*, 2(4): 405-420.

Coll, C.; Bernardos, A.; Martínez-Manez, R.; Sancenón, F. Gated Silica Mesoporous Supports for Controlled Release and Signaling Applications. *Acc Chem Res* 2013, 46, 339-349.

Díaz, L.; Jimenez, K. 2008. Validación de un Método de Extracción de Alicina en Ajo y su Cuantificación por HPLC. *Simposio de Metrólogia*, 1066, 1-6.

Durán, C. 2013. Optimización de una nariz electronica a Través de un Método de Selección de Variables. *El hombre y la máquina*, N°41, p.56-63.

Esquivel, M. 2011. Síntesis, Caracterización y Aplicaciones de Materiales Periódicos Mesoporosos Organosilícicos. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.

Fellenz, N.; Bengoa, J.; Marchetti, J.; Gervasini, S. 2012. Influence of the Brønsted and Lewis Acid Sites on the Catalytic Activity and Selectivity of fe/mcm-41 System. *Applied catalysis a:general*, vol. 433, p.187-196.

Fulder, D.; Blackwood, J. 1997. El ajo: Un remedio natural. Ediciones Étoile, S.A de C.V., México.

García, J.; Sánchez, F. 2000. Efectos cardiovasculares del ajo (*Allium sativum*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. Vol.50, N.03

Gardner, W. 1991. Detection of vapors and odors from a multisensor array using pattern recognition. Part 1. Principal component and cluster analysis. *Sens. Actuators B*, vol.4, p.109–115.

Guadarrama, A.; Fernandez, A.; Iniguez, M.; Souto, J.; de Saja, J. 2001. Discrimination of Wine Aroma Using An Array of Conducting Polymer Sensors in Conjunction With Solid-phase Micro-extraction (SPME). *Technique, Sensors and Actuators B*, 77(1-2), p. 401-408

Jackson, J. 1981. Principal Component and Factor Analysis: Part 1-Principal components. *Journal of Quality Technology*, vol 13, 1.

Kresge, C.; Leonowicz, M.; Roth, W.; Vartuli, J.; Beck, J. 1992. Ordered mesoporous molecular sieves synthesized by a liquid-crystal template mechanism. *Nature*, Vol. 359, N.6397, 710-712.

Kyung, K.; Lee, Y. 2001. Antimicrobial Activities of Sulfur Compounds Derived from s-alk(en)yl-l-cysteine Sulfoxides in Allium and Brassica, *Food Reviews International*, 17(2):183-198.

López, M. 2007. El ajo Propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Offarm*, p 77-81.

Lozano, J.; Arroyo, T.; Santos, J.; Cabellos, J.; Horrillo, M. 2008. Electronic Nose for Wine Ageing Detection. *Sensors & Actuators B*, Vol.133, N.1, p. 180-186

Navarro, M. 2007. Posibilidades Terapéuticas del Bulbo de Ajo (Allium Sativum). *Revista de Fitoterapia*, Vol.7, N.2, p.131-151.

Oroval, M.; Climent, E.; Coll, C.; Erijta, R.; Aviñó, A.; Marcos, M. D.; Sancenón, F.; Martínez-Máñez, R.; Amorós, P. An Aptamer-Gated Silica Mesoporous Material for Thrombin Detection. *Chem commun.* 2013, 49, 5480-5482.

Rodriguez, M. 2001. Análisis Sensorial de Alimentos. Nariz Electrónica. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, Vol. 2, p. 10-18.

Vaz, L.; Cabrita, M.; Gomes, M.; Costa, A. 2011. Sensorial Analysis and Electronic Aroma Detection to Compare Olive Oils Produced by Different Extraction Methods. *Grasas y Aceites*, 62(4): 428-435