

Estudio del efecto de la radiación ionizante de electrones acelerados sobre los ácidos grasos de carne de cerdo

Carla González, Ricardo Muñoz y Florinella Muñoz
Laboratorio de Química Orgánica e Investigaciones Aplicadas
Departamento de Ciencias Nucleares
florinella.munoz@epn.edu.ec

Resumen

En el presente trabajo se estudió el efecto de la radiación ionizante de electrones acelerados sobre la concentración de ácidos grasos de la carne de cerdo.

La extracción de la grasa de la carne de cerdo se llevó a cabo por fusión.

En pruebas preliminares se determinaron las condiciones adecuadas para que la reacción de transesterificación, necesaria para la determinación de la concentración de ácidos grasos, fuese reproducible. Se trabajó con una reacción catalizada por ácidos (H_2SO_4 en CH_3OH al 1 % w/w).

La cuantificación de la concentración de los ácidos grasos se realizó con ayuda de la técnica de cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC/FID).

Las muestras de grasa fueron irradiadas en un acelerador lineal de electrones LINAC y se usaron dosis internacionalmente aceptadas para la irradiación de alimentos (3, 5 y 7 kGy). Se ejecutaron las pruebas a 2 condiciones de irradiación distintas: Temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N_2) y Temperatura ambiente y atmósfera oxidante (Ta/O_2). Además, se estudió el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las muestras correspondientes a la condición Tr/N_2 , analizando las mismas 28 días después de su irradiación ($\text{Tr}/\text{N}_2/28$).

Se efectuó un análisis de varianza multifactor a las concentraciones de ácidos grasos obtenidas, utilizando el programa STATGRAPHICS PLUS®, y no se encontraron diferencias significativas según las dosis de irradiación aplicadas. Sin embargo, si existieron diferencias significativas provocadas por las condiciones de irradiación. Con este análisis se determinó que bajo condiciones Tr/N_2 , se logró atenuar la producción de compuestos radiolíticos en las muestras analizadas.

Palabras claves: irradiación, radiólisis, ácidos grasos, transesterificación, cromatografía de gases/ionización de llama GC/FID.

Abstract

The effect of ionizing radiation of electron beams on the concentration of fatty acids in pork meat was studied. The extraction of lipids from the pork meat was performed using fusion. First of all, the appropriate conditions for the transesterification reaction were established and a catalyzed acid reaction was selected (H_2SO_4 : CH_3OH , 1 % w/w) was used. The fatty acids concentration was quantified using gas chromatography with flame ionization detector (GC/FID).

The lipid samples were irradiated in an electron beam accelerator LINAC with internationally accepted doses (3, 5, 7 kGy). The tests were performed under two irradiation conditions: refrigeration temperature and nitrogen atmosphere (Tr/N_2) and room temperature and oxidant atmosphere (Ta/O_2). In addition, the effect of storage was tested during a period of 28 d on samples irradiated at conditions (Tr/N_2). Statistical analyses were carried out using STATGRAPHICS PLUS® software and no significant differences were found according to the applied dose. However, significant differences were detected with the irradiation conditions. Refrigeration temperature and nitrogen atmosphere (Tr/N_2) showed the best results to reduce the production of radiolytic compounds in irradiated samples.

Keywords: irradiation, radiolysis, fatty acids, transesterification, GC/FID.

1 Introducción

La irradiación de alimentos es el proceso por el cual estos se exponen a una fuente controlada de radiación ionizante, con el propósito de reducir la carga microbiana, destruir patógenos, extender la vida en percha del producto o desinfectarlo [10].

Actualmente, la irradiación de al menos una clase de alimento es permitida en 35 países y productos alimenticios irradiados están disponibles comercialmente en 28 naciones. Algunos productos cárnicos irradiados (carne, aves o comida de mar) son aceptados para su expendio en 18 países, incluyendo Chile, Francia y Holanda [7].

Los tipos de radiación aceptados para su uso en la industria de alimentos incluyen: rayos gamma, generados por radioisótopos cobalto 60 o cesio 137; rayos X, generados por máquina con una energía máxima de 5 MeV; y rayos beta, generados por electrones acelerados con una energía máxima de 10 MeV. Además para el tratamiento de alimentos, las dosis, internacionalmente aceptadas, pueden ser de hasta 10 kGy [4].

El mayor objetivo de la irradiación, como mecanismo de barrera aplicado a cárnicos, es la eliminación de patógenos y se han obtenido muy buenos resultados en la reducción de los microorganismos causantes de los daños producidos en la carne [9].

En lo referente a cambios ocurridos en carnes irradiadas, los lípidos y el ADN son particularmente sensibles a la radiación ionizante. Entre los principales efectos en las grasas, relacionados con este tratamiento, se encuentran la producción de varios compuestos volátiles, la oxidación de grasas y, como consecuencia de las dos anteriores, la variación en la concentración de ácidos grasos originales en el alimento. Dichos efectos podrían impactar negativamente en la aceptación de los alimentos con contenido de grasa, para su comercialización [9], [1].

En este trabajo se investigaron los efectos de la radiación ionizante de electrones acelerados en la concentración de los ácidos grasos en carne de cerdo para establecer si existen variaciones significativas de estos componentes al ser sometidos a este tratamiento. Dicho estudio, realizado por primera ocasión en el Ecuador en el año 2007, se llevó a cabo en el Acelerador Lineal de Electrones ubicado en la Escuela Politécnica Nacional (EPN) de la ciudad de Quito.

2 Materiales y métodos

2.1 Materiales y equipos

Para la cuantificación de los ácidos grasos se utilizó una mezcla de ésteres metílicos de ácidos grasos FAME Mix C14-C22 18917 (Supelco) de 99.5% de pureza, en solución de hexano grado ACS. Se utilizaron además metanol anhidro para análisis (99.9%) (Mallinckrodt), cloruro de sodio grado ACS (Fisher Scientific), ácido sulfúrico grado analítico (95–97%) (J.T. Baker), sulfato de sodio anhidro grado ACS (99%) (Merck), hexano grado ACS

(89.2%) (J.T. Baker) y Nitrógeno grado 4.5.

La preparación de las muestras se realizó con el uso de una balanza analítica Acculab, un procesador de alimentos Alton, un bloque de calentamiento VWR Scientific, una centrífuga Wifug 200 E, un rotavapor R KV Büchi, chaquetas de calentamiento Briskeat de 500 mL, un reóstato Powerstat y un refrigerador Samsung.

El análisis cuantitativo fue llevado a cabo en un Cromatógrafo de Gases con Detector de Ionización de Llama (GC/FID) Perkin Elmer modelo Clarus 500 en la EPN, Quito. La separación se realizó utilizando una columna megacapilar Elitewax (530 μm de diámetro interno, 1 μm de fase estacionaria de polietilenglicol entrecruzado, 30 m).

Se utilizaron muestras de carne que visualmente mostraban una gran cantidad de tejido adiposo.

Los procesos de irradiación se llevaron a cabo en un acelerador lineal de electrones ELU-6U de la EPN, en Quito.

2.2 Métodos

2.2.1 Cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos

Extracción de grasa. Para la extracción de la grasa de la carne de cerdo empleada como muestra, se ensayaron dos métodos: el método propuesto por Folch [5] y una extracción por fusión.

Para la extracción por fusión, se pesaron 19 g de muestra congelada, a los cuales fue agregado 1 g de sulfato de sodio anhidro. La mezcla fue homogeneizada y calentada a 50 °C hasta la completa fusión. Posteriormente, la muestra fue centrifugada a 2300 rpm (586 g) durante 10 min. Se recogió la grasa separada en cajas petri de vidrio, las cuales fueron selladas y almacenadas en congelación a -20 °C.

Método de Transesterificación. Para la reacción de transesterificación, indispensable para el análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases, se pesaron aproximadamente 0.04 g de muestra de grasa congelada en un balón con cuello esmerilado. Se agregaron 2 mL de tolueno para disolver la grasa. Posteriormente, se añadieron 4 mL de solución 1% w/w de ácido sulfúrico analítico en metanol anhidro.

Se llevó la mezcla a reflujo durante 3 horas, a una temperatura promedio de 140 °C. Se dejó enfriar la muestra y se agregaron 10 mL de solución 5% w/w de cloruro de sodio, para separar la fracción que contenía los ésteres metílicos de aquella que contenía el glicerol.

Se extrajeron los ésteres metílicos con 2 lavados de hexano ACS, de 4 mL cada uno, con la ayuda de una pipeta Pasteur. Se trasladó el extracto a otro tubo de ensayo y se lo lavó con 4 mL de solución 2% w/w de bicarbonato de potasio. Después de este lavado, se recogió la fase orgánica en un frasco con tapa esmerilada, conteniendo

1 g de sulfato de sodio anhidro. Se dejó reposar. Se filtró el extracto utilizando lana de vidrio, lavada previamente con hexano, y se recogió el filtrado en un matraz de 10 mL. Se aforó hasta dicho volumen con hexano ACS.

Análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos por GC/FID. La cuantificación de los ésteres metílicos de ácidos grasos (equivalentes a la concentración de ácidos grasos), se realizó en un GC/FID, utilizando como gas portador Helio UHP grado 5.0 con flujo fijado por presión (4.8 psig). El volumen de inyección de la muestra fue de 4 μ L, a una temperatura de inyección de 220 °C y una razón de división de 20 mL/min. El horno de la columna trabajó en un sistema con gradiente, cuyos perfiles de temperatura se encuentran en la Figura 1.

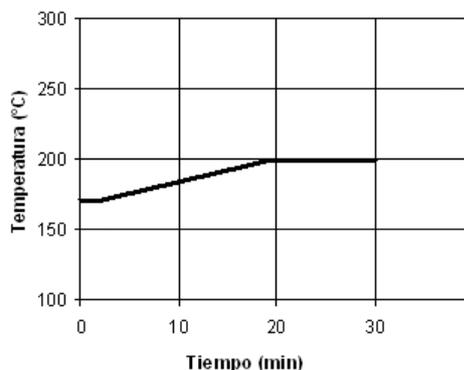


Figura 1. Perfiles de temperatura utilizados para el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos por GC/FID

Construcción de curvas de calibración de ésteres metílicos de ácidos grasos en GC/FID. Para proceder a la cuantificación de los resultados, se prepararon soluciones en diferentes concentraciones de la mezcla de estándares, que contenían los ésteres metílicos de los ácidos grasos de interés: mirístico (C14:0), palmítico (C16:0), esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y linolénico (C18:3). El detalle de las concentraciones preparadas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Concentración de los ésteres metílicos de los ácidos grasos usados en este estudio en las soluciones de calibración preparadas

Éster metílico	Concentraciones (g/L)					
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	Nivel 5	Nivel 6
C14:0	0.002	0.003	0.004	0.014	0.028	0.040
C16:0	0.005	0.007	0.010	0.035	0.070	0.100
C18:0	0.003	0.004	0.006	0.021	0.042	0.060
C18:1	0.012	0.018	0.026	0.088	0.176	0.252
C18:2	0.017	0.024	0.036	0.119	0.237	0.339
C18:3	0.002	0.003	0.005	0.017	0.035	0.050

Cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos en las muestras analizadas. Las áreas de los cromatogramas obtenidos de las muestras procesadas, en las cuales se realizaron la extracción de grasa y la reacción de

transesterificación, se transformaron a su equivalencia en concentración en gramos de ácido/litro de solución, utilizando las ecuaciones de las curvas de calibración correspondientes. Con estos datos y los pesos de las muestras en análisis, se calcularon los gramos de ácido por cada 100 g de muestra grasa. Los análisis en el GC/FID se realizaron con paralelas.

2.2.2 Irradiación de las muestras de grasa de cerdo

Ensayo a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂). La grasa previamente extraída y dispuesta en cajas petri, de modo que su espesor no sobrepasara los 0.5 cm, se mantuvo en congelación a -20 °C. Unas horas antes del proceso de irradiación, se dispusieron las cajas petri que contenían la muestra, sin su tapa superior, dentro de una funda de polietileno tipo "ziploc". Se desalojó el aire del interior de las fundas con nitrógeno grado 4.5. Las fundas fueron selladas y mantenidas en baño de hielo hasta el momento de su irradiación en el acelerador de electrones ELU-6U. Se utilizaron dosis de 3, 5 y 7 kGy. Cada muestra contó con su respectivo control no expuesto a la irradiación, para que la comparación de los efectos producidos en los ácidos grasos fueran lo más objetivas posibles, dado que la composición de la grasa puede variar de una muestra a otra.

Ensayo a temperatura ambiente y atmósfera oxidante (Ta/O₂). La grasa previamente extraída y congelada fue llevada a refrigeración doce horas antes de recibir el tratamiento de irradiación. Dos horas antes del proceso de irradiación, la muestra fue sacada del refrigerador para su aclimatación a temperatura ambiente.

Una vez alcanzada dicha temperatura, se retiró la tapa superior de las cajas petri y se cubrió la parte que contenía la muestra con film plástico. En estas condiciones se irradiaron las muestras en el acelerador de electrones ELU-6U. Las muestras recibieron dosis de 3, 5 y 7 kGy. Igual que en el ensayo anterior, cada muestra contó con su respectivo control, no expuesto al tratamiento de irradiación.

Análisis del efecto del almacenamiento posterior al tratamiento con irradiación en atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂/28). Una parte de la muestra sometida a tratamiento a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno se almacenó por un período de 28 días en condiciones de refrigeración. Transcurrido este período, se analizaron las concentraciones de ácidos grasos de estas muestras, siguiendo los mismos procedimientos descritos en 2.2.1 y 2.2.2. Se conservó, de igual forma, una muestra control de grasa sin irradiar.

2.2.3 Análisis estadísticos

Se analizó la reproducibilidad del método de transesterificación por análisis de varianza de las áreas obtenidas

en diferentes pruebas. Se empleó para el efecto el paquete Statgraphics Plus®. Los factores considerados fueron: prueba (es decir, el origen de la muestra), paralela (diferente equipo para reflujo) y corrida cromatográfica (repetición de lectura en el cromatógrafo). Para este análisis se emplearon 3 pruebas, con 2 paralelas cada una y 2 corridas cromatográficas por prueba. Se trabajó con un nivel de significación del 5 %.

Para el análisis estadístico de los resultados de los efectos de la radiación ionizante de electrones acelerados sobre las concentraciones de ácidos grasos en muestras de grasa de cerdo tratadas, se analizaron diferentes factores: condición de irradiación (Tr/N₂, Ta/O₂ y Tr/N₂/28), dosis absorbida (0, 3, 5 y 7 kGy) y paralela (repetición del análisis). Para establecer las diferencias, se realizó un análisis de varianza multifactor de las concentraciones calculadas en gramos de ácido graso por cada 100 g de muestra.

3 Resultados y discusión

3.1 Cuantificación de ésteres metílicos de ácidos grasos

3.1.1 Extracción de grasa

Los métodos empleados permitieron extraer la fracción lipídica de las muestras de carne de cerdo. Los cromatogramas correspondientes a los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos al tratar las grasas, extraídas con ambos procedimientos (por solventes y por fusión), son similares a aquellos reportados en estudios afines y en boletines técnicos (Supelco, 1998, Chamorro, 2003), como el que se muestra en la Figura 2. El método de extracción por fusión permitió obtener cantidades mayores de grasa, por lo que este fue el método elegido para la siguiente etapa de la investigación.

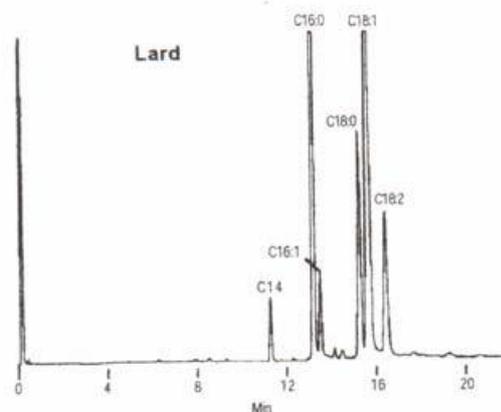


Figura 2. Cromatograma de ésteres metílicos de ácidos grasos en manteca de cerdo obtenida en el equipo GC/FID de la EPN

3.1.2 Método de transesterificación y análisis de ésteres metílicos por GC/FID

Método de transesterificación. El método de transesterificación descrito permitió la transformación de los

ácidos grasos libres y de los ésteres presentes en la muestra, a ésteres metílicos de ácidos grasos en un tiempo razonable de 3 h, y con conversiones relativamente elevadas entre el 80 y el 85 %.

Los valores estadísticos encontrados muestran que ni la prueba, ni la paralela, ni la corrida tuvieron una influencia significativa en los resultados obtenidos y por ende, el método se consideró reproducible.

Los cromatogramas pertenecientes a dos muestras de los ensayos preliminares de transesterificación se muestran en la Figura 3. En esta Figura se observa que los cromatogramas se superponen completamente, lo que permite comprobar la reproducibilidad del método.

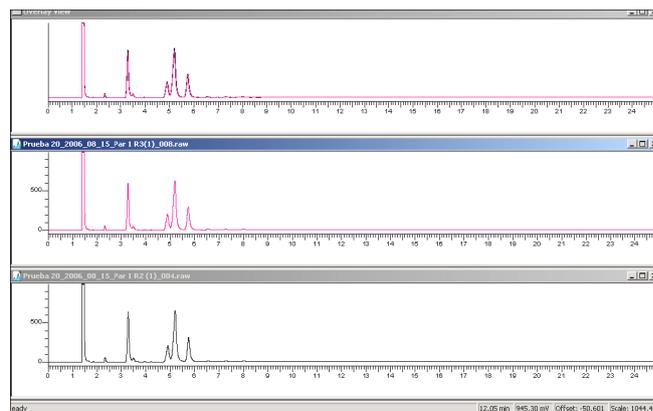


Figura 3. Superposición de cromatogramas correspondientes a ensayos preliminares de transesterificación, que muestran que el método es reproducible

Curvas de calibración de ésteres metílicos de ácidos grasos.

Con las soluciones de los estándares de ésteres metílicos de ácidos grasos y, de acuerdo con la metodología descrita en 2.2.1 (Construcción de curvas de calibración de ésteres metílicos de ácidos grasos en GC/FID), se prepararon las curvas de calibración. Un ejemplo de ellas se presenta en la Figura 4, en la cual se observa la curva de calibración del ácido mirístico C14:0.

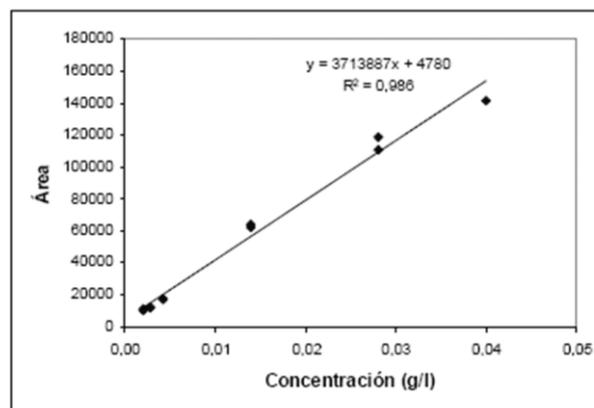


Figura 4. Curva de calibración para el ácido mirístico, obtenida por GC/FID

Tabla 2. Concentraciones de ácidos grasos obtenidas de la irradiación de muestras de grasa de 0.0403 g a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂)

Ácido	Dosis (kGy)	3		5		7	
	Paralela	1	2	1	2	1	2
C14:0	g ácido /100 g grasa	0.928	0.965	1.065	1.112	0.880	0.893
C16:0		14.421	14.573	16.231	16.702	13.886	14.106
C18:0		8.463	8.391	9.409	9.527	8.585	8.715
C18:1		18.225	18.104	20.409	20.753	17.733	17.989
C18:2		8.874	8.822	9.931	10.115	8.532	8.661
C18:3		4.267	4.228	4.809	4.924	3.157	3.224

Tabla 3. Concentraciones de ácidos grasos obtenidas de la irradiación de muestras de grasa de 0.0403 g a temperatura ambiente y atmósfera de oxígeno (Ta/O₂)

Ácido	Dosis (kGy)	3		5		7	
	Paralela	1	2	1	2	1	2
C14:0	g ácido /100 g grasa	1.080	1.131	1.223	1.202	1.204	1.132
C16:0		17.053	17.107	18.051	17.776	18.092	18.340
C18:0		9.558	9.452	9.881	9.767	11.342	10.668
C18:1		20.057	19.873	21.252	21.024	21.431	21.648
C18:2		9.690	9.602	10.234	10.119	10.506	10.485
C18:3		4.504	4.458	4.709	4.671	5.222	4.868

Tabla 4. Concentraciones de ácidos grasos obtenidas del análisis las muestras de grasa de 0.0403 g irradiadas a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno, 28 días después del tratamiento (Tr/N₂/28)

Ácido	Dosis (kGy)	3		5		7	
	Paralela	1	2	1	2	1	2
C14:0	g ácido /100 g grasa	1.355	1.363	0.983	1.078	1.009	0.955
C16:0		19.974	19.921	15.456	15.794	16.082	15.420
C18:0		9.698	9.649	7.772	7.870	8.301	8.045
C18:1		24.643	24.522	19.666	19.982	20.076	19.472
C18:2		11.884	11.831	9.531	9.686	9.610	9.308
C18:3		5.461	5.458	4.371	4.431	4.338	4.199

3.2 Cuantificación del efecto de la radiación ionizante sobre la concentración de ácidos grasos en la carne de cerdo

Irradiación a condiciones de temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂). Las muestras de grasa de cerdo se irradiaron siguiendo el procedimiento definido como Tr/N₂. Estos resultados, para cada dosis aplicada y las dos paralelas ensayadas, se encuentran en la Tabla 2.

Irradiación a temperatura ambiente y atmósfera oxidante. Las muestras de grasa de cerdo se irradiaron siguiendo el procedimiento descrito como Ta/O₂. Los resultados de estos cálculos para cada ácido graso estudia-

do se encuentran en la Tabla 3.

Análisis de muestras de los ensayos a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno 28 días post irradiación (Tr/N₂/28). Las muestras irradiadas a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno, fueron analizadas 28 días después de haber recibido el tratamiento. Los resultados de las concentraciones de ácidos grasos, medidos al día 28 son los que se presentan detallados en la Tabla 4.

Comparación entre los efectos producidos por las diferentes condiciones de irradiación y de almacenamiento estudiados. Para comparar los efectos producidos por las diferentes condiciones del tratamiento de irradiación,

en cuanto a dosis absorbida y a condiciones del proceso, se realizó el tratamiento estadístico descrito en 2.2.4.

De acuerdo con los valores obtenidos estadísticamente, se encontró que para el factor relacionado con las paralelas no existen diferencias significativas, por lo que se puede establecer que el método es reproducible. En el caso del factor relacionado con las dosis de irradiación, los resultados estadísticos muestran que no existen variaciones significativas en la concentración de ácidos grasos debido a la dosis aplicada.

En cuanto a las condiciones de irradiación aplicadas, si se observa la Figura 5, en la cual se presenta como ejemplo representativo, los datos del ácido mirístico, los valores estadísticos muestran que existen diferencias significativas de la concentración de ácidos grasos para la condición Tr/N₂ frente a los otros procesos utilizados.

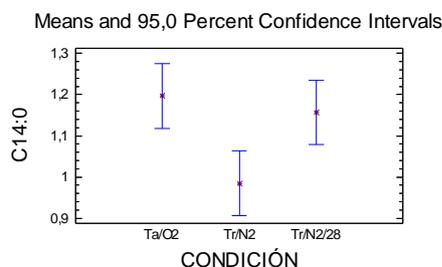


Figura 5. Resultados de la prueba de rango múltiple correspondiente al factor condición de irradiación para el ácido mirístico C14:0

En todos los ácidos estudiados se encuentra que la única condición significativamente distinta es Tr/N₂, mientras que Ta/O₂ y Tr/N₂/28 pertenecen a un grupo homogéneo, con excepción del ácido esteárico, donde la condición Tr/N₂/28 presenta valores más bajos de concentración que en los otros casos, posiblemente debido a una mayor influencia sobre dicho ácido del proceso de enranciamiento de tipo oxidativo (Badui, 1993, Gunstone y Norris, 1983).

Ejemplos de los resultados obtenidos estadísticamente, se muestran también en las Figuras 6 y 7, que presentan la variación respecto al valor control (0 kGy) para los ácidos mirístico y linolénico, respectivamente. Se empleó para cada dosis de irradiación el valor medio de la concentración del ácido.

En las Figuras anteriores, se puede observar que respecto a la dosis de irradiación aplicada, no existe una tendencia de variación de la concentración de los ácidos grasos de carne de cerdo, en el rango de dosis considerado.

Para la mayoría de los ácidos estudiados, el efecto de la dosis en las pruebas produce variaciones menores al 5% en los valores de concentración de los mismos. Este hecho, posiblemente, se debe a que la radiación ionizante, a las dosis aplicadas, no provoca rompimientos de cadenas en las estructuras de los lípidos de la carne de cerdo. Solo en el caso del ácido linolénico y, específicamente, para la prueba Tr/N₂ se tiene una clara reducción de

la concentración, en especial a la dosis de 7 kGy. La razón de este comportamiento estaría determinada por la presencia de tres dobles enlaces dentro de la estructura de dicho ácido, que lo hacen más susceptible a los procesos radiolíticos que los ácidos saturados y que otros menos insaturados (Von Sonntag, 1987; Nawar, 1978)

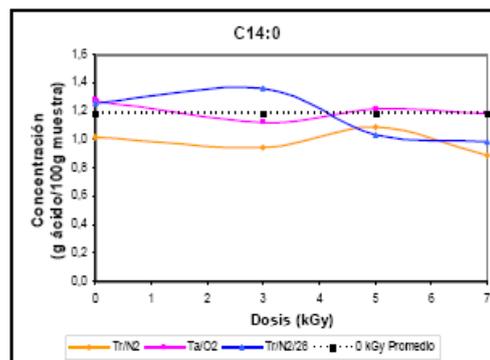


Figura 6. Concentraciones del ácido mirístico en las muestras de grasa de cerdo, para las diferentes dosis y condiciones de irradiación estudiadas

En general para todos los ácidos estudiados, sean saturados o insaturados, si se comparan los valores de concentración obtenidos para la prueba de Tr/N₂ con aquellos de las pruebas Ta/O₂ y Tr/N₂/28, se observa que estos últimos tienden a ser más altos. Esto podría ser un indicativo de que a las condiciones oxidativas, la concentración de ácidos grasos se incrementa. Probablemente, lo que influye en este incremento sea la generación de ácidos grasos libres y de ésteres metílicos de ácidos grasos, como productos primarios en la irradiación de triglicéridos, ayudada, en el primer caso, por la presencia de oxígeno, y en el segundo, por el tiempo de almacenamiento.

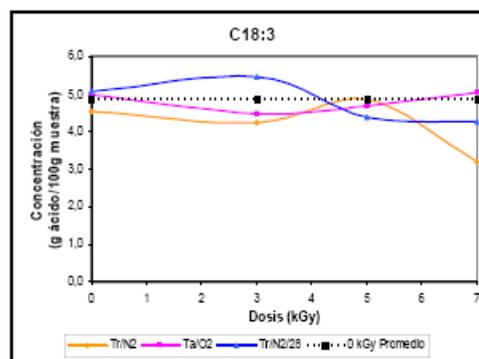


Figura 7. Concentraciones del ácido linolénico en las muestras de grasa de cerdo para las diferentes dosis y condiciones de irradiación estudiadas

El hecho de que las concentraciones de ácidos grasos sean menores para el caso de la prueba Tr/N₂, confirma que al irradiar productos cárnicos a bajas temperaturas y evitando la presencia de oxígeno, se consigue atenuar el efecto propio de la irradiación sobre los enlaces de los triglicéridos, lo cual se recomienda por algunos autores que analizan los procesos oxidativos posibles (Stewart, 2001).

4 Conclusiones

1. Los cambios producidos por la radiación de electrones acelerados sobre los ácidos grasos presentes en muestras de carne de cerdo son menores al 5%. Esto permite inferir que la tecnología de irradiación por este medio, es un potencial método de barrera para la conservación de alimentos ricos en grasa, sin provocar en ellos alteraciones en su composición.
2. Los métodos de extracción de grasa por solventes y por fusión empleados en el presente estudio, dieron resultados similares, siendo en este caso el método de extracción por fusión el más idóneo, por ser más económico y requerir menor cantidad de recursos.
3. El método de transesterificación con catalizador ácido, durante 3 h a 140 °C, permitió obtener resultados reproducibles.
4. El presente estudio permitió cuantificar la concentración en gramos de ácido graso por 100 g de muestra grasa irradiada en rangos entre 0.8 g/100 g de grasa para el ácido mirístico hasta valores de 24.5 g/100 g de grasa para el ácido oleico. Dicha cuantificación no fue realizada en ninguno de los estudios similares consultados como bibliografía, y constituiría un aporte adicional del presente trabajo.
5. El efecto que provoca la dosis de radiación ionizante de electrones acelerados entre 0 y 7 kGy, sobre la concentración de ácidos grasos de grasa de carne de cerdo no es estadísticamente significativo al 5%.
6. Existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones de ácidos grasos obtenidas al irradiar las muestras a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂) y aquellas concentraciones obtenidas en los otros casos estudiados: irradiación a temperatura ambiente y atmósfera oxidante (Ta/O₂) y almacenamiento 28 días post irradiación de las muestras tratadas a temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno (Tr/N₂/28).
7. La condición de irradiación denominada "temperatura de refrigeración y atmósfera de nitrógeno" (Tr/N₂), atenuó la producción de compuestos radiolíticos. Por lo tanto, sería recomendable irradiar carne de cerdo con gran contenido graso, bajo las condiciones antes mencionadas, en lugar de hacerlo a temperatura ambiente y con presencia de oxígeno.

Referencias

- [1] Ahn, D.U., Jo, C. y Olson, D.G., 1997. *Analysis of volatile components and sensory characteristics of irradiated raw pork*. Paper ASL-R1711, Iowa State University, U.S.A.
- [2] Badui, D. S., 1993. *Química de los Alimentos*. Pearson Education, Addison Wesley Longman editores, México, pp. 213-258.
- [3] Chamorro, N., 2003. *Determinación de isómeros -cis-, -trans en los ácidos grasos de las mantecas y margarinas vegetales comercializadas en el Ecuador*. Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniero Químico, Facultad de Ingeniería Química, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.
- [4] Codex Alimentarius, 2003. *Recommended international code of practice for radiation processing of food*. CAC/RCP 19 - 1979 Rev. 2, http://www.codexalimentarius.net/download/standards/16/cxp_019e.pdf
- [5] Folch, J., Lees, M. y Stanley, G.H.S. *A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues*. *Journal of Biological Chemistry*, **226**, 1957, 497.
- [6] Gunstone, F. D., y Norris, F. *Lipids in foods*. *Chemistry, Biochemistry and Technology*. Primera Edición, Pergamon Press, Oxford.
- [7] IAEA. *Clearance of irradiated food database*. <http://nucleus.iaea.org/NUCLEUS/nucleus/content/Applications/Ficdb/FoodIrradiationClearances> (marzo 2007).
- [8] Nawar, W.W. *Reaction Mechanisms in the Radiolysis of Fats: A Review*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **26**, N° 1, 1978, 21.
- [9] Olson, D.G. *Irradiation of food*. *Food Technology* **52**, N° 1, 1998, p 56.
- [10] Smith, S. y Pillai, S., 2004. *Irradiation and Food Safety*. *Food technology*, **58** (11), 48.
- [11] Stewart, E. *Food Irradiation Chemistry* en *Food Irradiation: Principles and Applications* editado por R. Molins. Wiley Interscience. John Wiley & Sons. Inc, New York, U.S.A, 2001, p 37.
- [12] Supelco Sigma-Aldrich Co., 1998. "Boletín 855 B Analyzing Fatty Acids by Capillary Gas Chromatography". Sigma - Aldrich Co., <http://www.sigmaaldrich.com> (enero 2006).
- [13] Von Sonntag, C., 1987. *The Chemical Basis of radiation biology*. Taylor & Francis Ltd., Londres.