

Métodos generales para ensayos y análisis de los productos alimenticios

Soluciones para métodos regulados de análisis instrumental con
AAS, GC, HPLC, ICP, KF y TLC
2016-1



Contenido

Índice de aplicaciones	3
Introducción	4-7
- Definición de comida y bebida (ingesta de energía en estado líquido y sólido)	4
- Leche	5
- Carne	6
- Análisis de alimentos	6-7
Métodos instrumentales regulados en las normas	8-42
Técnicas instrumentales utilizadas en los métodos mencionados en las normas	43-69
Información sobre la normativas	70-79

Índice de aplicaciones

Matriz/ muestra	Parámetro	Técnica	Norma	
Determinación del pH en la carne y los productos cárnicos				
Carne (lomo de cerdo)	pH	pH-metro / no destructiva	ISO 2917:1999	
Carne (salchichas)	pH	pH-metro / destructiva	ISO 2917:1999	
Determinación del pH en frutas y verduras				
Zumo de manzana	pH	pH-metro	ISO 1842:1991	
Zumo de naranja	pH	pH-metro	ISO 1842:1991	
Mermelada de albaricoque	pH	pH-metro	ISO 1842:1991	
Mermelada de zanahoria	pH	pH-metro	ISO 1842:1991	
Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos				
Carne y productos cárnicos	Cloruro	Valoración	ISO 1841-1:1996	
Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en muestras de aceite				
Aceite de girasol	FAME*	GC con FID	EN ISO 12966-2:2011 EN ISO 12966-4:2015	* Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME)
Determinación de plomo y cadmio en el pescado				
Pescado	Cadmio, plomo	AAS/GFAAS	EN 14084:2003	
Determinación de deoxinivalenol (DON)				
Trigo	DON**	HPLC	EN 15791:2009	**Deoxinivalenol
Contenido de sal en la carne y los productos cárnicos con diferentes métodos				
Fiambre	Sodio	AAS	EN 15505:2008	
Fiambre	cloruro	Valoración	ISO 1841-1:1996	
Salami	Sodio	AAS	EN 15505:2008	
Salami	cloruro	Valoración	ISO 1841-1:1996	
Determinación del contenido de agua en las muestras de aceite				
Aceite	Agua	Valoración de KF / coulombimetría	DIN EN ISO 8534:2009	
Determinación de oligoelementos en los productos alimenticios				
Carne (vaca)	oligoelementos***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Carne (pollo)	oligoelementos***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Leche	oligoelementos***	ICP-OES	EN 13805:2002	***Fe, Mg, Ca, Na, K
Determinación de plaguicidas				
Tomate	plaguicidas	LC-MS/MS	EN 15662:2009	

Introducción

En esta compilación se comentan los análisis regulados de los alimentos. Se presentan soluciones completas para el análisis instrumental regulado concentrándose en los métodos generales de análisis y ensayos de los productos alimenticios.

Todos los métodos destacados siguen las normas internacionales:

ISO (International Organization for Standardization/Organización internacional de normalización)
<http://www.iso.org/iso/home.html>

DIN (Deutsches Institut für Normung/Instituto alemán de normalización)
<http://www.din.de/en>

CEN (Normas europeas mantenidas por el Comité europeo de normalización)
<https://www.cen.eu/>

Un punto de partida apropiado para comentar los análisis regulados de los alimentos es entender el término alimento: cualquier sustancia consumida para proporcionar soporte nutricional. Los alimentos contienen nutrientes esenciales, como grasas, proteínas, vitaminas o minerales.

El alimento suele ser de origen vegetal o animal, pero algunos hongos son también comestibles. En la preparación de los alimentos fermentados y encurtidos (pan con levadura, queso, etc.), también se utilizan hongos y bacterias ambientales. Las sustancias inorgánicas, como la sal y el bicarbonato de sodio, se utilizan para conservar o alterar químicamente un ingrediente, es decir, se utilizan como aditivos alimentarios.

Las bebidas son alimentos líquidos que se beben, a excepción normalmente del agua, y estos pueden incluir al té, café, licor, cerveza, jugos, o refrescos. Los tipos más importantes de refrescos son las bebidas listas para beber con sabores (prácticamente siempre carbonatadas), las bebidas listas para beber que contienen fruta o zumos de fruta, y las bebidas pensadas para beber después de diluir.

Los alimentos, por tanto, pueden ser de forma sólida (fruta, carne, verduras e incluso los líquidos congelados o, dicho de otra manera, helados) y líquida (bebidas).

- Las bebidas energéticas, ¿son alimentos o suplementos dietéticos?
- ¿Cuál es la diferencia entre una bebida y un suplemento dietético?
- ¿Cuándo se convierte el helado en una bebida y en qué momento es un comida?

Leche

La leche es un líquido producido por las glándulas mamarias de los mamíferos y puede ajustarse separando de ella la parte de la grasa o añadiendo nata (crema), leche concentrada, leche entera en polvo, leche descremada, leche descremada concentrada, o leche desnatada en polvo. La leche puede ser homogenizada. La leche puede homogeneizarse.

El Codex Alimentarius proporciona las siguientes definiciones:

1. La leche es la secreción mamaria normal de los animales de ordeño obtenida de uno o más ordeños sin adición ni extracción, pensada para consumo como leche líquida o para ulterior procesamiento.
2. Un producto lácteo es un producto obtenido por medio de cualquier procesamiento de la leche, que puede contener aditivos alimentarios y otros ingredientes funcionalmente necesarios para el procesamiento.
3. Un producto lácteo compuesto es un producto en el cual la leche, los productos lácteos o los constituyentes lácteos son una parte esencial del producto final en cuanto a su cantidad tal como se consumen, siempre que los constituyentes no procedentes de la leche no estén destinados a sustituir por completo o en parte a cualquier constituyente de la leche.
4. Un producto lácteo reconstituido es un producto que resulta de la adición de agua a la forma deshidratada o concentrada del producto en la cantidad necesaria para restablecer la proporción adecuada del agua respecto del extracto seco.
5. Un producto lácteo recombinado es un producto que resulta de la combinación de materia grasa de la leche y del extracto seco magro de la leche en sus formas conservadas con o sin la adición de agua para obtener la composición apropiada del producto lácteo.
6. Los términos lácteos se entienden por nombres, designaciones, símbolos, ilustraciones, u otros dispositivos que sugieren o se refieren, directa o indirectamente, a la leche o productos lácteos.

Sólo puede nombrarse como "leche" un alimento que cumpla la definición dada en el punto 1. Si dicho alimento se ofrece a la venta como tal se denominará "leche cruda" o se utilizará otro término apropiado que no engañe ni confunda al consumidor. La leche cuya composición se modifique mediante la adición o la retirada de constituyentes de la leche puede identificarse con un nombre en el que se incluya el término "leche", siempre que se proporcione muy cerca del nombre una descripción clara de la modificación a la que ha sido sometida la leche.

India es el mayor productor de leche del mundo, y Nueva Zelanda, los estados miembros de la Unión Europea y los Estados Unidos de Norteamérica son los mayores exportadores de leche y productos lácteos. China y Rusia son los mayores importadores de leche y productos lácteos del mundo.

Carne

La carne se define como las partes cárnicas comestibles de un animal. La carne de las aves domésticas se distingue a veces como ave de corral. La carne es también la parte comestible de una pieza de fruta o fruto seco.

En gastronomía, la carne roja es roja cuando está cruda y tiene un color no pálido cuando está cocinada, y la carne blanca es pálida antes y después de cocinarla.

En ciencia, la carne roja se define como la carne que contiene más mioglobina que una carne blanca, definiéndose esta última como la carne no oscura procedente de los pollos (descartando la pata o el muslo) o el pescado.

El cerdo, por ejemplo, es carne roja si se utiliza la definición nutricional y carne blanca si se utiliza la definición gastronómica. *Esto puede causar confusión.*

Análisis de alimentos

Esta compilación se centrará principalmente en el análisis instrumental. No obstante, en la página siguiente encontrará una panorámica que ilustra la perspectiva más amplia de ensayos de los productos alimenticios, con referencia a las pruebas de control biológico y las pruebas rápidas. Por tanto, le animamos a que considere el proceso completo. En la práctica, esto significa que un producto comercial de carne procesada (por ejemplo, una salchicha) se ha visto afectado no sólo por su proceso de fabricación, sino también por el suelo donde creció el alimento del ganado. Así pues, los ensayos relacionados con el alimento abarcan más que los meros análisis instrumentales de los productos acabados. Se podría, por ejemplo, sostener que los análisis medioambientales (por ejemplo, la calidad del suelo y del agua, el control del aire) son relevantes.

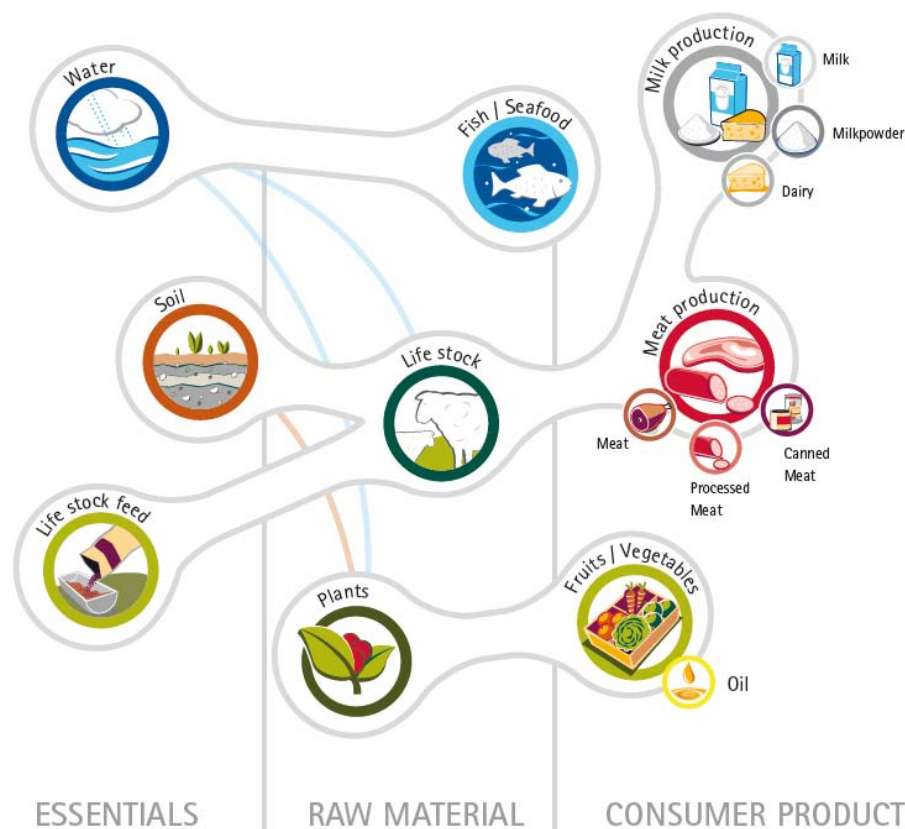
En las siguientes páginas encontrará métodos de HPLC y UHPLC presentados para la identificación sistemática de toxinas y plaguicidas (detección mediante MS); métodos de Karl Fisher (KF) para la determinación del agua; métodos de espectroscopia de absorción atómica (AAS) y plasma acoplado inductivamente (ICP) para determinación del contenido de metales, métodos de cromatografía de gases para determinación de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) y diferentes ejemplos de análisis de valoración clásica.

Se dedican secciones separadas para presentar las diferentes técnicas analíticas utilizadas y una actualización de las exigencias normativas y las diferentes legislaciones alimentarias.

Descargo de responsabilidad:

"Merck ofrece información y soporte a nuestros clientes sobre las tecnologías de aplicaciones y temas normativos según nuestro conocimiento y experiencia, pero sin obligación o responsabilidad alguna. Nuestros clientes deben respetar en todos los casos las normativas y leyes vigentes. Esto también aplica a todo derecho de terceros. Nuestra información y asesoramiento no exime a nuestros clientes de su responsabilidad de comprobar la idoneidad de nuestros productos para el propósito contemplado. Apura®, Certipur®, Titripur®, Lichropur®, Lichrosolv®, Purospher® y Suprapur® son todas marcas comerciales de Merck KGaA, Darmstadt, Alemania."

Visión global de los análisis de alimentos



	Agua	Suelo	Alimentación	Ganado/verduras	Proceso de producción	Producto final
Tipo de análisis						
Pruebas rápidas	Análisis de aguas residuales: demanda química de oxígeno (DQO) N en sus diferentes formas	Nitrato, fósforo, azufre		Ácido ascórbico, azúcares, control de la desinfección, nitratos, azufre	Ácido ascórbico, azúcares, control de la desinfección	Ácido láctico en la leche, pH en la carne, hidroximetilfurfural en la miel
Instrumentales	pH, oligoelementos, plaguicidas	Elementos traza, plaguicidas	Antibióticos	plaguicidas, toxinas		Metales pesados, plaguicidas, antibióticos, toxinas, contenido de agua, contenido salino
Microbiológicos	Para el agua potable y el agua de procesamiento de alimentos sólo: E. coli y coliformes		Análisis de patógenos y descomponedores, por ejemplo Salmonella, Listeria pathogenic, E. coli, clostridios, enterobacteriáceas, levaduras y hongos, Aspergillus		Control medioambiental: muestreo del aire, control de superficies utilizando placas de contacto y portaobjetos, pruebas de ATP	Análisis de patógenos y descomponedores, por ejemplo Salmonella, Listeria pathogenic, E. coli, clostridios, enterobacteriáceas, levaduras y hongos, Aspergillus

*En la tabla se muestran algunos ejemplos típicos

Determinación del pH en la carne y los productos cárnicos

ISO 2917:1999

En este método se utiliza la diferencia de potencial medida entre un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia que se colocan en un extracto de muestra de la carne o el producto cárnico.

Se utilizan dos procedimientos debido al diferente tipo de muestra:

1. método no destructivo para medición en el lomo de cerdo
2. método destructivo para medición en una salchicha fermentada

Reactivos *(utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa. El agua deberá ser como mínimo de grado 3 según la ISO 3696)*

En la norma, se describe cómo preparar las soluciones tampón, pero nosotros podemos ofrecer soluciones ya preparadas:

Las siguientes soluciones Certipur® pueden ofrecerse también con especificaciones a 20°C.

Soluciones tampón:

1. Ácido cítrico – hidróxido de sodio – cloruro de hidrógeno conforme al SRM (patrón de referencia) del NIST y el PTB pH 4,00 (25°C) Certipur® (1.09445)
2. Dihidrogenofosfato de potasio – hidrogenofosfato de disodio conforme al SRM del NIST y el PTB pH 7,00 (25°C) Certipur® (1.09407)
3. Ácido bórico – cloruro de potasio – hidróxido de sodio (conforme al SRM del NIST y el PTB pH 9,00 (25°C) Certipur® (1.09408)

Solución de hidróxido de sodio

c(NaOH) = 1 mol/l (1 N) Titripur® Reac. Farm. Eur., Reac. USP (1.09137)

Limpieza:

Etanol; EMSURE® 96% Reac. Farm. Eur. (1.59010)

Éter dietílico; EMSURE® ACS, ISO, Reac. Farm. Eur. (1.00921)

Aparato

- Cortador rotatorio de gran velocidad, capaz de homogeneizar la muestra del laboratorio (sin superar los 4,0 mm de diámetro)
- pH-metro, con una precisión de 0,01 unidades de pH
- Electrodo combinado (en el cual el electrodo de referencia y el de medición están juntos en una sola unidad)
- Homogeneizador de gran velocidad (capaz de funcionar a una frecuencia de rotación de 20.000 min⁻¹)
- Agitador magnético

Determinación del pH en la carne y los productos cárnicos

ISO 2917:1999

El muestreo no forma parte de esta norma, pero en la ISO 3100-1 se proporciona un método recomendado. Es importante tener muestras representativas y se sugiere empezar con un mínimo de 200 gramos.

Calibración del pH-metro

Calibrar el medidor de pH según las instrucciones del fabricante utilizando por lo menos dos soluciones tampón, mientras se agita con el agitador magnético. Si el medidor de pH no incluye un sistema de corrección de temperatura, la temperatura de la solución tampón estará comprendida dentro del intervalo 20 ± 2 °C.

Método no destructivo

Perfore un agujero en la muestra con un cuchillo o un alfiler afilado e inserte el electrodo. Si el medidor de pH no incluye un sistema de corrección de temperatura, la temperatura de la muestra deberá estar comprendida dentro del intervalo 20 ± 2 °C.

Para la medición no destructiva, utilizar un electrodo de pH con punta de lanza. Seleccionar un punto representativo de la muestra. Si se considera útil conocer las diferencias entre los valores de pH medidos en diversos puntos de la muestra, repetir las mediciones en varios puntos de la muestra.

Método destructivo

Homogeneizar la muestra de laboratorio. Asegurarse de que la temperatura de la muestra no supera los 25 °C. Homogeneizar una cierta masa de la muestra problema preparada en una solución con exceso de cloruro de potasio (10 veces más) mediante un homogeneizador de eje. Introducir los electrodos en el extracto de muestra y ajustar el sistema de corrección de la temperatura del pH-metro a la temperatura del extracto. Si el medidor de pH no incluye un sistema de corrección de temperatura, la temperatura de la muestra deberá estar comprendida dentro del intervalo 20 ± 2 °C. Medir el pH mientras se agita con el agitador magnético. Una vez alcanzado un valor constante, leer el pH directamente del instrumento.

Consejos:

Llenar un envase hermético adecuado con la muestra homogeneizada. Se recomienda analizar la muestra lo antes posible, pero siempre en las 24 siguientes a la homogeneización. Debe anotarse la hora exacta de medición del pH. Con la carne fresca, que se mantiene generalmente a temperaturas comprendidas entre 0 y 5 °C, es necesario utilizar un sistema de corrección de la temperatura.

Resultados (comunicar el resultado con una precisión de 0,05 unidades de pH).

Lomo de cerdo: 5,80; 5,75; 5,90

Salchichas fermentadas 4,95; 5,00; 4,95

Determinación del pH en frutas y verduras

ISO 1842:1991

En el método se utiliza la diferencia de potencial medida entre dos electrodos sumergidos en el líquido que va a analizarse.

Reactivos *(utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa. El agua deberá ser como mínimo de grado 3 según la ISO 3696)*

En la norma, se describe cómo preparar las soluciones tampón, pero nosotros podemos ofrecer soluciones ya preparadas:

Las siguientes soluciones Certipur® pueden ofrecerse también con especificaciones a 20°C.

Soluciones tampón:

1. Ácido cítrico – hidróxido sódico – cloruro de hidrógeno
conforme al SRM (patrón de referencia) del NIST y el PTB pH 4,00 (25°C) Certipur® (p/n 1.09445)
2. Dihidrogenofosfato de potasio – hidrogenofosfato de disodio
conforme al SRM del NIST y el PTB pH 7,00 (25°C) Certipur® (p/n 1.09407)
3. Ácido bórico – cloruro de potasio – Hidróxido de sodio (conforme al SRM del NIST y el PTB pH 9,00 (25°C) Certipur® (p/n 1.09408)

Aparato

- pH-metro, con una precisión de 0,01 unidades de pH
- Electrodo combinado (en el cual el electrodo de referencia y el de medición están juntos en una sola unidad)

Medición del pH en frutas y verduras

ISO 1842:1991

Calibración del pH-metro

Calibrar el medidor de pH según las instrucciones del fabricante utilizando por lo menos dos soluciones tampón, mientras se agita con el agitador magnético. Si el medidor de pH no incluye un sistema de corrección de temperatura, la temperatura de la solución tampón estará comprendida dentro del intervalo 20 ± 2 °C.

Preparación de la muestra

- Productos líquidos: mezclar cuidadosamente la muestra de laboratorio hasta que esté homogénea.
- Productos espesos o semi-espesos: mezclar una parte de la muestra de laboratorio y molerla, si es necesario con un mezclador o un mortero. Si el producto obtenido sigue siendo demasiado espeso, añadir una masa igual de agua destilada y mezclar bien.

Porción de muestra

Utilizar como porción de muestra un volumen suficiente de la muestra preparada para la inmersión de los electrodos, de acuerdo al aparato usado.

Determinación

Introducir los electrodos en la porción de muestra y ajustar el sistema de corrección de la temperatura del pH-metro a la temperatura de medición.

Llevar a cabo la determinación utilizando el procedimiento apropiado para el medidor de pH utilizado. Una vez alcanzado un valor constante, leer el pH directamente con una precisión mínima de 0,05 unidades de pH. Realizar dos determinaciones en dos porciones de muestra separadas.

Expresión de los resultados

Tomar como resultado la media aritmética de los resultados de las dos determinaciones. Comunicar los resultados con una precisión mínima de 0,05 unidades de pH.

Valores de pH de las muestras analizadas:

Zumo de manzana: 3,70 y 3,79	Media: 3,70
Zumo de naranja: 3,99 y 3,99	Media: 3,99
Mermelada de albaricoque: 3,46 y 3,47	Media: 3,47
Mermelada de zanahoria: 4,60 y 4,59	Media: 4,60

Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos

ISO 1841-1:1996

En el método se utiliza la extracción de una porción de muestra con agua caliente y la precipitación de proteínas. Después de la filtración y la acidificación, se añade al extracto un exceso de solución de nitrato de plata y se lleva a cabo la valoración del exceso con solución de tiocianato de potasio.

Reactivos (*utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa.*
El agua deberá cumplir como mínimo el grado 3 según la ISO 3696)

Agua destilada y libre de halógenos (para cromatografía; LiChrosolv® (1.15333)

Nitrobenceno, reactivo ACS, $\geq 99,0\%$ (8.06770)

Ácido nítrico; Suprapur® $c(\text{HNO}_3) = 4 \text{ mol/l}$ (1.00441)

Kit de clarificación de Carrez; equipo de reactivos para preparación de muestras en análisis de alimentos, concentrado 5 veces (1.10537)

(El kit de clarificación de Carrez listo para usar puede acelerar el análisis)

Solución de nitrato de plata; Reac. Farm. Eur., Reac. USP; $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$, (0,1 N) Titripur® (1.09081)

Tiocianato de potasio, EMPLURA® (1.05124)

Sulfato hierro(III) y amonio dodecahidrato, EMSURE® ACS, ISO, Reac. Farm. Eur. (1.03776)

Disolver en agua unos 9,7 g de tiocianato de potasio.

Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 1000 ml y diluir hasta la marca con agua.

Estandarizar la solución con una precisión de 0,0001 mol/l contra la solución de nitrato de plata usando como indicador la solución de sulfato hierro(III) y amonio.

Aparato:

Balanza analítica

Equipo homogeneizador

Matraz volumetrico (Fiola) de 200 ml de capacidad

Matraz cónico de 250 ml de capacidad

Bureta de 50 ml de capacidad

Baño de agua hirviendo (Baño María)

Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos

ISO 1841-1:1996

Procedimiento:

Pesar unos 10 g de la muestra (con una precisión de 0,001 g) y transferirlos cuantitativamente a un matraz cónico (lo que se conoce como la porción de muestra).

Desproteínización (eliminación de las proteínas de la muestra)

1. Añadir 100 ml de agua caliente a la porción de muestra.
2. Calentar el matraz y su contenido durante 15 minutos en el baño María.
3. Cada 3-5 minutos agitar el contenido del matraz.
4. Dejar enfriar el matraz y su contenido hasta alcanzar la temperatura ambiente y añadir 2 ml de la solución Carrez I y 2 ml de la solución Carrez II. Mezclar bien después de cada adición.

Dejar reposar el matraz durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Transferir cuantitativamente el contenido a una fiola de 200 ml y diluir con agua hasta enrasar.

Mezclar el contenido y filtrar a través de papel filtro plegado.

Determinación:

Transferir 20 ml del filtrado a un matraz cónico y añadir 5 ml del ácido nítrico diluido y 1 ml de la solución de sulfato de hierro (III) y amonio como indicador. Transferir 20 mL de la solución de nitrato de plata al matraz cónico, luego añadir 3 mL del nitrobenceno y mezclar bien. Agitar vigorosamente para coagular el precipitado. Valorar el contenido del matraz cónico con tiocianato de potasio hasta la aparición de una coloración rosa persistente. Anotar el volumen de la solución de tiocianato de potasio requerida, con una precisión de 0,05 ml.

Ensayo en blanco: llevar a cabo una prueba en blanco utilizando el mismo volumen de solución de nitrato de plata.

Cálculo: contenido de cloruro = $58,44 \times (V_2 - V_1) / m \times C$

V1 es el volumen, en mililitros, de la solución del tiocianato de potasio utilizado en la determinación

V2 es el volumen, en mililitros, de la solución del tiocianato de potasio utilizado en el ensayo en blanco

m es la masa, en gramos, de la porción de muestra

C es la concentración de la solución de tiocianato de potasio en moles por litro

Cálculo en el caso de la muestra analizada (2015/34018)

V1 = 16,75, V2 = 19,90. m = 10,112 y c = 0,1

(Consejos: para calcular el contenido de sal: cloruro x 1,65

Contenido de cloruro = 1,82 %

Contenido de sal = 3,00%

Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en muestras de aceite

EN ISO 12966-2:2011 y EN ISO 12966-4:2015

En el método se utiliza el hecho de que los ésteres metílicos se forman por transesterificación con hidróxido de potasio metanólico. Utilizando cromatografía de gases capilar, los ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) se separan en una fase estacionaria altamente polar con respecto a la longitud de su cadena, el grado de saturación o insaturación y la geometría y la posición de los dobles enlaces.

En las normas indicadas se describe cómo trabajar y a continuación puede encontrar productos importantes:

Reactivos (utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa. El agua deberá ser como mínimo de grado 3 según la ISO 3696)

Agua destilada y libre de halógenos (para cromatografía; LiChrosolv® (1.15333)

Metanol para cromatografía de gases ECD y FID SupraSolv® (1.06011)

Hidrogenosulfato de sodio monohidratado; para análisis EMSURE® (1.06352)

Isooctano para cromatografía de gases ECD y FID SupraSolv® (1.15440)

Hidróxido de potasio; lentes para análisis EMSURE® (1.05033)

Patrones de FAME

Aparato:

Tubos de ensayo con tapón de rosca, 10 ml

Viales de muestra de vidrio

Matraz volumétrico, capacidades de 50 y 100 ml

Cromatógrafo de gases con FID equipado con:

Columna GC capilar: columna de GC capilar SLB®-IL60; L× D.I. 60 m × 0,32 mm, df 0,26 µm

Condiciones experimentales:

Gas portador: helio, 2,2 ml/min; gases de llama: hidrógeno y aire; gas auxiliar: nitrógeno

Temperatura del inyector: 250 °C

Temperatura del detector (DIF): 300 °C

Temperatura del horno: ver tabla

Volumen de inyección: 1 µl

Tiempo (min)	Temperatura (°C)
0-2	80
2-152	80-230 (1°C/min)
152-162	230

Ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME) en muestras de aceite

EN ISO 12966-2:2011 y EN ISO 12966-4:2015

Procedimiento: (Muestra: aceite de girasol-elevado contenido ácido oleico)

1. Preparación de los ésteres metílicos de ácidos grasos

Pipetear 60 µl de la muestra problema en un tubo de ensayo con tapón de rosca de 10 ml.

Añadir 5 ml de isooctano y mezclar en un agitador Vortex.

Añadir 400 µl de la solución de hidróxido de potasio 2 ml/l y colocar inmediatamente el tapón, apretar y agitar vigorosamente durante 1 minuto. La solución se vuelve transparente y poco después vuelve a enturbiarse, a medida que se separa el glicerol. Dejar reposar durante unos 2 minutos.

Añadir aproximadamente 1 g de hidrogenosulfato de sodio y agitar brevemente. Retirar la capa de isooctano y transferir a un vial de muestra. La solución de isooctano es adecuada para análisis utilizando cromatografía de gases.

2. Cálculos

Cada FAME se identifica por su tiempo de retención y en comparación con los FAME patrones de referencia. Los picos de identidad desconocida no deben incluirse en la suma de las áreas de los picos cuando se calcule la composición de ácidos grasos, salvo que se haya confirmado que son ácidos grasos. También es posible resumir los picos desconocidos como tales.

$AFFAME = AFAME / \Sigma A \times 100$, donde:

AFFAME es la fracción de área de cada éster metílico de ácido graso

AFAME es el área de cada éster metílico de ácido graso

ΣA es la suma de las áreas bajo todos los picos de todos los ésteres metílicos de ácidos grasos individuales

Resultados:	FAME	Tiempo de retención (min)	%
	Palmitato de metilo	68,4	4,10
	Palmitoleato de metilo	70,8	0,15
	Octadecanoato de metilo	82,7	2,94
	Éster metílico del ácido cis-9-oleico	84,6	83,5
	Linoleato de metilo	88,2	5,95
	Éster metílico del ácido gamma-linolénico	92,8	0,11
	Cis-11-eicosenoato de metilo	95,6	0,42
	Linolenato de metilo	97,3	0,30
	Éster metílico del ácido cis-11,14,17-eicosatrienoico	107,8	0,97
	Cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoato de metilo	119,1	0,33
	Sin identificar		1,21
	Suma		100,00

Determinación de plomo y cadmio en el pescado

EN 14084:2003

En el método se analizan muestras que se digieren en recipientes cerrados utilizando ácido nítrico y un horno microondas. La solución resultante se diluye con agua, y el contenido de plomo y cadmio se determina mediante espectrometría de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS) con modificador de matriz.

Reactivos (*utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa. El agua deberá cumplir como mínimo el grado 3 según la ISO 3696*) Por tanto, usar sólo reactivos o agua con una concentración de elementos lo suficientemente baja como para no afectar a los resultados.

Agua, LiChrosolv® (1.15333)

Ácido nítrico al 65 % Suprapur® (1.00441)

Nitrato de magnesio hexahidratado 99,99 Suprapur® (1.05855)

Plomo (1000 mg/l Pb en HNO₃ 0,5 mol/l) conforme al SRM del NIST. Certipur® (1.19776)

Cadmio (1000 mg/l Cd en HNO₃ 0,5 mol/l) conforme al SRM del NIST Certipur® (1.19777)

Aparato:

Molino de laboratorio (por ejemplo, molino de cuchillas)

Horno microondas de laboratorio

Espectrómetro de absorción atómica

Tubos de grafito

Lámparas específicas del elemento

Determinación de plomo y cadmio en el pescado

EN 14084:2003

Procedimiento:

1. Homogeneizar la muestra con un molino de laboratorio.

Sugerencia: en algunos casos, es necesario el secado de la muestra de manera que no afecte a los elementos contenidos, por ejemplo, mediante liofilización.

2. Preparación de la muestra

- Pesar 0,5 – 1,5 g de la muestra en un recipiente.
- Añadir 5,0 ml de ácido nítrico. Después de 30 minutos, añadir 5,0 ml de agua destilada y mezclar suavemente.
- Permitir la predigestión de las muestras dejando los recipientes abiertos durante un mínimo de 15 minutos antes de cerrarlos y proceder al programa de calentamiento.

Normalmente el programa de un horno consta de una etapa de bajo consumo con aumento de la temperatura durante unos pocos minutos seguido de una o más etapas de mayor intensidad. Se recomienda un aumento gradual entre las etapas seleccionadas para evitar picos de presión súbitos en el interior de los recipientes presurizables.

Sugerencia: las muestras con elevada concentración de carbono (por ejemplo, azúcares y grasas) pueden causar picos de presión súbitos durante el proceso. Permitir la predigestión de esas muestras dejándolas reposar durante la noche.

3. Programa de calentamiento del microondas

Etapa	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	20	Hasta 200 °C
2	20-30	200 °C
3	De 30 en adelante	Enfriamiento

Sugerencia: cuando se digieren muestras desconocidas, hay que tener cuidado ya que una cantidad de muestra demasiado grande puede romper la membrana de seguridad del recipiente de digestión. En concreto, las muestras con elevada concentración de carbono (por ejemplo, azúcares y grasas) pueden causar picos de presión súbitos durante el proceso. En todos los casos, la recepción de la muestra debe seguir estrictamente la recomendación de los fabricantes.

Determinación de plomo y cadmio en el pescado

EN 14084:2003

4. Medición con la técnica de horno de grafito

Para la determinación de plomo y de cadmio, se requiere la técnica de horno de grafito. Usar tubos recubiertos pirolíticamente y plataformas. Programar el automuestreador para que distribuya al horno de grafito un volumen de muestra que proporcione una absorbancia de fondo no superior a unas 0,5 unidades de absorbancia. Parámetros del instrumento con un volumen de inyección de 20 µl.

Elemento	Longitud de onda (nm)	Corrección del fondo	Parámetro	Paso 1	Paso 2	Paso 3	Paso 4
Cd	228,8	Zeeman	Temp. (°C)	110	450	1000	2500
			Rampa (°C/s)	10	150	0	0
			Retención (s)	30	20	3	3
Pb	217	Zeeman	Temp. (°C)	120	800	1200	2500
			Rampa (°C/s)	10	150	0	0
			Retención (s)	10	20	3	3

5. Cálculo

Construir una curva patrón y leer en la curva la concentración del metal. Calcular el contenido (c) como una fracción de la masa del elemento que quiere determinarse en µg/kg de la muestra:

$$c = ((a-b) \times V) / m$$

a es la concentración de la solución de muestra en µg/l

b es la concentración media en la solución blanco del reactivo en µg/l

V es el volumen de la solución muestra en ml

m es la masa de la muestra en gramos

Resultado:

(en el caso de la muestra 2015/33632

- Especie Patagonotothen spp)

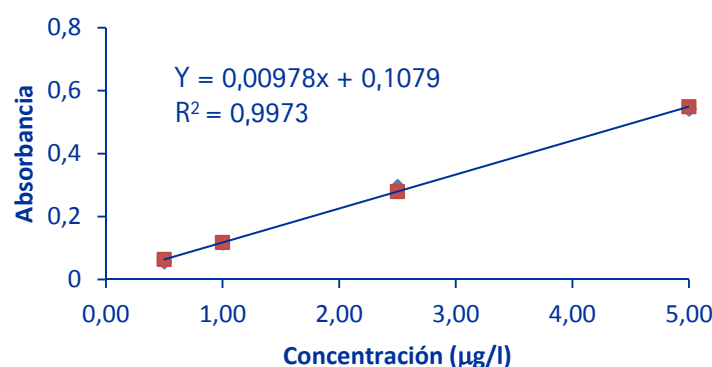
	Plomo	Cadmio
m (g)	1,0115	1,0015
a	0,8493	0,3025
b	-	-
V (ml)	100	100
C (µg/kg)	84	29,9

Determinación de plomo y cadmio en el pescado

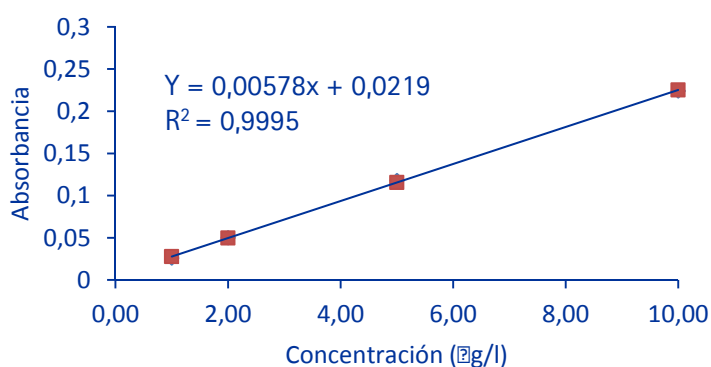
EN 14084:2003

6. Datos de calibración – Cadmio (Cd)

ID de la muestra	""Señal de Abs." (Altura)""	"Conc. (µg/l)"
Blanco de Cd	0,002	0,0000
Patrón 1 de Cd	0,056	0,5000
Patrón 2 de Cd	0,116	1,0000
Patrón 3 de Cd	0,296	2,5000
Patrón 4 de Cd	0,542	5,0000
Blanco de Cd	0,002	0,0005
Blanco de Cd	0,002	0,0065
Cd 33632	0,034	0,3025
Cd Ha94	0,191	1,6413
Patrón Cd 2,5 ppb	0,296	2,4974
Blanco de Cd	0,002	0,0005



ID de la muestra	""Señal de Abs." (Altura)""	"Conc (µg/l)"
Blanco de Pb	0,003	0,0000
Patrón 1 de Pb	0,026	1,0000
Patrón 2 de Pb	0,050	2,0000
Patrón 3 de Pb	0,118	5,0000
Patrón 4 de Pb	0,224	10,0000
Blanco de Pb	0,003	0,0022
Blanco de Pb	0,002	-0,0218
Pb 33632	0,022	0,8493
Pb Ha94	0,036	1,4433
Patrón Cd 25,0 ppb	0,122	5,2115
Blanco de Pb	0,002	-0,0524



Pb Ha94 y Cd Ha94 son materiales de referencia

Determinación de deoxinivalenol (DON)

EN 15791:2009

El deoxinivalenol (DON) se extrae de la muestra utilizando agua. El extracto acuoso se limpia con una columna de inmunoafinidad para retirar las impurezas de la muestra. Posteriormente el DON se determina cuantitativamente mediante HPLC con detección UV.

La norma EN describe el procedimiento completo y a continuación, puede encontrar los productos importantes: **Reactivos** (*utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa.*)

Metanol grado gradiente; LiChrosolv® Reac. Farm. Eur. (1.06007)
Agua, LiChrosolv® (1.15333)

Patrón analítico de deoxinivalenol (DON)

Solución de calibración de DON: 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; y 2,5 µg/ml

Aparato:

Balanza analítica
Homogeneizador
Agitador de laboratorio
Mezclador Vortex
Matraces con tapón de rosca, con volúmenes de 500 ml
Embudos
Papeles filtro
Matraces volumétricos (fiolas)
Evaporador con corriente de aire o de nitrógeno

Columnas de inmunoafinidad de limpieza del DON

Sistema de HPLC equipado con:

Columna analítica: Purospher® STAR RP-18 desactivada (5 µm), Hibar®, 125 x 4 mm (1.50036)
Equipada con precolumnas Purospher® STAR RP-18 desactivada (5 µm) LiChroCART® 4-4 (1.50250)

Determinación de deoxinivalenol (DON)

EN 15791:2009

1. Preparación de la muestra

– las muestras deben molerse finamente y mezclarse bien utilizando un molino.
Hemos utilizado trigo (id 2015/B/4586) como matriz de muestra

2. Extracción de la muestra

Pesar una porción de muestra de 25,0 g en un matraz con tapón de rosca de 500 ml.
Añadir 200 ml de agua desionizada, tapar y agitar durante 1 hora en un agitador.
Preparar un embudo con papel de filtro.
Filtrar la muestra extraída en un matraz con tapón de rosca limpio de 500 ml.

Consejos: A veces la filtración tarda mucho. Puede acelerarse utilizando dos papeles de filtro de tamaño de poro diferente

3. Limpieza de la columna de inmunoafinidad

Conectar un recipiente a una columna de inmunoafinidad. Transferir al depósito 2,0 ml del extracto filtrado. Dejar que la solución descienda lentamente por gravedad a través de la columna a una velocidad de 1-2 gotas/s. Cuando haya pasado por completo todo el extracto por la columna de inmunoafinidad, hacer pasar 5 ml de agua desionizada por la columna. Retirar el líquido que pueda quedar haciendo pasar nitrógeno o aire a través de la columna durante unos 5 segundos. Desechar todo el eluido de esta etapa del procedimiento de limpieza.

Consejos: debe comprobarse con regularidad la capacidad de la columna de inmunoafinidad utilizada. La columna tendrá una capacidad no inferior a 2.500 ng.

Por último, colocar un vial para el automuestreador del HPLC debajo de la columna, hacer pasar 0,5 ml de metanol a través de la columna y recoger el eluido por gravedad. Después de que hayan pasado las últimas gotas de metanol por la columna, dejar que el metanol permanezca en la columna durante 1 minuto aproximadamente. Luego añadir 1 ml mas de metanol y recoger el eluato. Pasar con cuidado nitrógeno o aire a través de la columna para recoger el eluato residual.

4. Preparación de la solución problema para el análisis de HPLC

Colocar el vial con el eluato en el evaporador y evaporar con cuidado hasta sequedad bajo nitrógeno o aire a aprox. 50 °C. Inmediatamente después, enfriar el vial de HPLC hasta temperatura ambiente y reconstituir el residuo con 1,0 ml de fase móvil de HPLC. Mezclar bien con un mezclador Vortex durante un mínimo de 30 segundos para garantizar que el residuo se re-disuelve por completo. En caso de turbidez, filtrar la solución problema a través de un filtro de jeringa.

Determinación de deoxinivalenol (DON)

EN 15791:2009

5. Condiciones cromatográficas

Columna:	Purospher® STAR RP-18 desactivada (5 µm), 125 x 4 mm, Hibar® (1.50036)
Inyección:	10 µl
Detección:	Detección UV, 220 nm
Caudal:	10,7 ml/min
Fase móvil:	metanol y agua 20:80 (v/v)
Temperatura:	25 °C
Diluyente:	Fase móvil
Muestra:	Trigo
Caída de presión:	120 bar

6. Cálculo

$w(\text{DON}) = c(\text{DON}) \times (V(3))/(V(2)) \times (V(1))/(m(s))$, donde

$c(\text{DON})$ es la concentración de masa de DON determinada mediante calibración

$V(1)$ es el volumen total del solvente de extracción (200 ml)

$V(2)$ es el volumen de la alícuota de extracto utilizada para limpieza

$V(3)$ es el volumen total de la solución problema

$m(s)$ es la masa de la porción de muestra extraída

Cálculo en el caso de la muestra 2015/B/4586

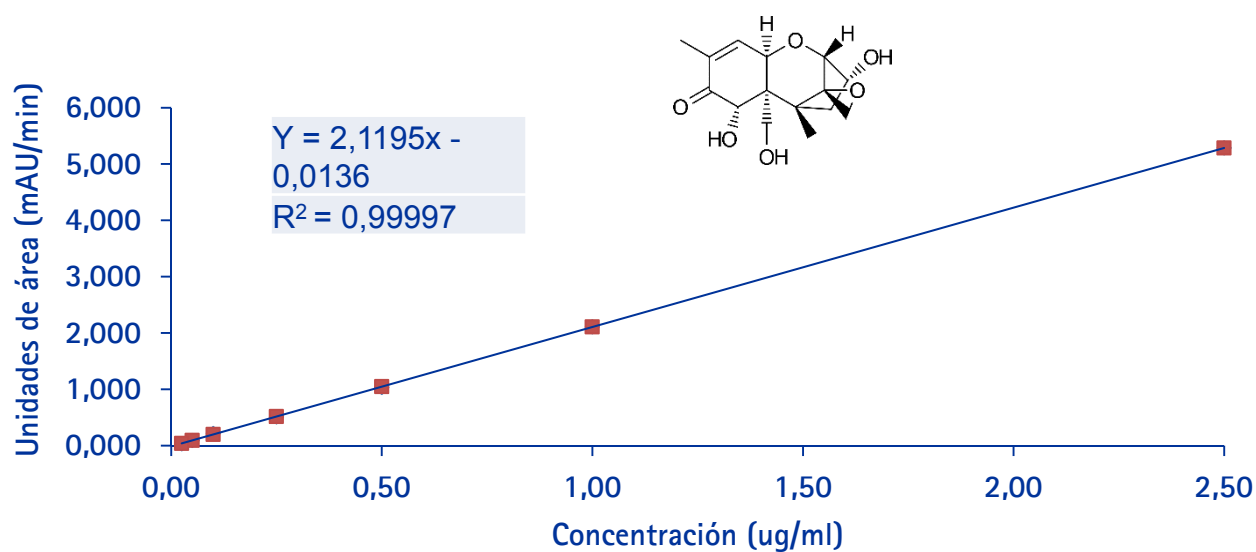
$c(\text{DON})$:	1,221
$V(1)$:	200 ml
$V(2)$:	2 ml
$V(3)$:	1 ml
$m(s)$:	25 g

$w(\text{DON})$: 4,9 mg/kg

Por tanto, en la muestra analizada pudieron encontrarse 4,9 mg/kg de deoxinivalenol (DON)

Determinación de deoxinivalenol (DON)

EN 15791:2009

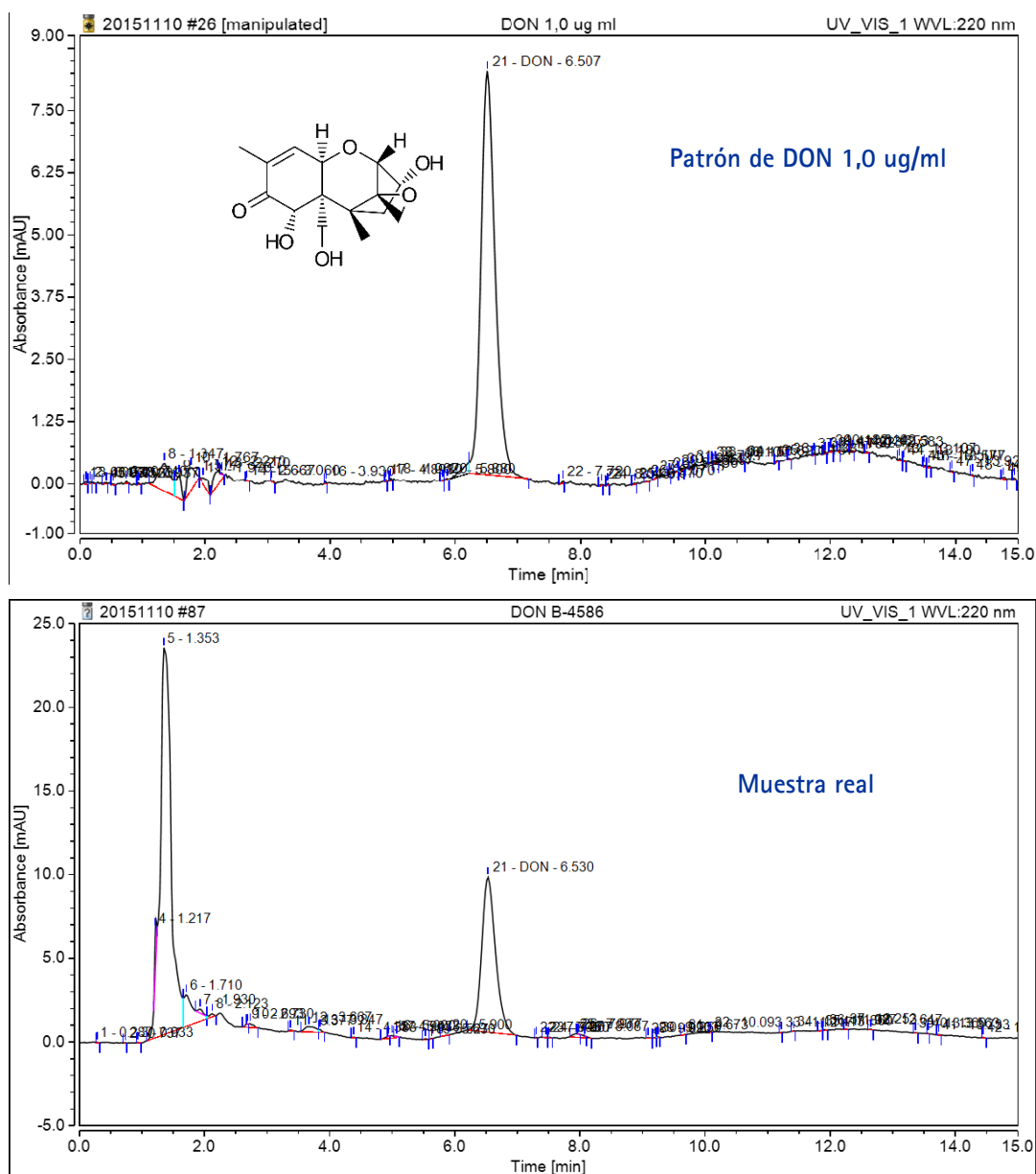


Resultados de la calibración

ID	Nivel de calibración	Concentración (ug/ml)	Área (mUA/min)	Altura (mUA)
DON 2,5 ug/ml	04	2,5000	5,286	18,75
DON 1,0 ug/ml	05	1,0000	2,109	8,107
DON 0,5 ug/ml	01	0,5000	1,034	4,127
DON 0,25 ug/ml	02	0,2500	0,509	1,777
DON 0,1 ug/ml	03	0,1000	0,219	0,961
DON 0,05 ug/ml	06	0,0500	0,092	0,398
DON 0,025 ug/ml	07	0,0250	0,034	0,176

Determinación de deoxinivalenol (DON)

EN 15791:2009



		TR (min)	Anchura al 50 % (min)	Resolución (EP)	Asimetría (EP)	Placas (EP)
1	DON	6,5	0,23	5,1	1,2	4285

Misma muestra, métodos diferentes

En las siguientes páginas hemos incluido ejemplos de análisis del contenido de sal en las mismas muestras (un tipo de embutido italiano y un salami) pero con diferentes técnicas analíticas. El contenido de sodio se determina con espectroscopia de absorción atómica y el contenido de cloruro a través de valoración.

En el caso de la determinación del valor nutricional, según el Reglamento N° 1169/2011 de la UE, tiene que indicarse el contenido de sal en la etiqueta del producto (antes sólo había que poner el sodio). En este reglamento, se prescribe que el contenido de sal puede calcularse sólo a partir del sodio (contenido de sal = sodio x 2,5). Hay otros reglamentos en los que los límites se proporcionan en sodio-cloruro. No se indica qué tipo de medición tiene que aplicarse, si la basada en el cloruro o la basada en el sodio.

La ventaja de un método basado en el cloruro es la velocidad (mucho más rápido) y la ausencia de necesidad de grandes inversiones en instrumental fundamental. Normalmente todos los laboratorios internos de la industria cárnica utilizan el método basado en el cloruro. Sin embargo, el método de valoración es menos exacto, con mayor incertidumbre.

En el caso de la determinación del sodio, se necesita un instrumento, pero dicho equipo proporciona un método más preciso y debe utilizarse este procedimiento para determinar el valor nutricional.

La experiencia de la industria es que, en especial en la industria cárnica, se utilizan diversos aditivos alimentarios que, además de la sal, tienen contenido de sodio (por ejemplo, nitrito de sodio). En ese caso, el contenido de sal basado en el sodio suele ser superior al contenido de sal basado en el cloruro. Esta última afirmación se verifica en el siguiente ejemplo, en el que se determinó una diferencia del contenido de sal del 0,22 % para la muestra de embutido italiano y del 0,14 % para la muestra de salami.

Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos

ISO 1841-1:1996

En el método se utiliza la extracción de una porción de muestra con agua caliente y la precipitación de proteínas. Después de la filtración y la acidificación, se añade al extracto un exceso de solución de nitrato de plata y se lleva a cabo la valoración del exceso con solución de tiocianato de potasio.

Reactivos (*utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa.*)

Agua destilada y libre de halógenos (para cromatografía; LiChrosolv® (1.15333). *El agua deberá ser como mínimo de grado 3 según la ISO 3696*)

Nitrobenceno, $\geq 99,0\%$ (8.06770)

Ácido nítrico; Suprapur® c(HNO₃) = 4 mol/l (1.00441)

Kit de clarificación de Carrez, equipo de reactivos para preparación de muestras en análisis de alimentos, concentrado 5 veces (1.10537)

(El kit de clarificación de Carrez listo para usar puede acelerar el análisis)

Solución de nitrato de plata; Reac. Farm. Eur., Reac. USP; c(AgNO₃) = 0,1 mol/l, (0,1 N) Titripur® (1.09081)

Sulfato hierro(III) y amonio dodecahidrato, EMSURE® ACS, ISO, Reac. Farm. Eur. (1.03776)

Tiocianato de potasio, EMPLURA®, c(KSCN) = 0,1 mol/l; (1.05124)

Disolver en agua unos 9,7 g de tiocianato de potasio.

Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 1000 ml y diluir hasta la marca con agua.

estandarizar la solución con una precisión de 0,0001 mol/l contra la solución de nitrato de plata usando como indicador la solución de sulfato hierro(III) y amonio.

Aparato:

Balanza analítica

Equipo homogeneizador

Matraz volumétrico (Fiola) de 200 ml de capacidad

Matraz cónico de 250 ml de capacidad

Bureta de 50 ml de capacidad

Baño de agua hirviendo (Baño María)

Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos

ISO 1841-1:1996

Procedimiento:

Pesar unos 10 g de la muestra (con una precisión de 0,001 g) y transferirlos cuantitativamente a un matraz cónico (lo que se conoce porción de muestra).

Desproteínización (eliminación de las proteínas de la muestra)

1. Añadir 100 ml de agua caliente a la porción de muestra.
2. Calentar el matraz y su contenido durante 15 minutos en el baño María.
3. Cada 3-5 minutos agitar el contenido del matraz.
4. Dejar enfriar el matraz y su contenido hasta alcanzar la temperatura ambiente y añadir 2 ml de la solución Carrez I y 2 ml de la solución Carrez II. Mezclar bien después de cada adición.

Dejar reposar el matraz durante 30 minutos a temperatura ambiente.

Transferir cuantitativamente el contenido a un matraz volumétrico de 200 ml y diluir hasta la marca con agua. Mezclar el contenido y filtrar a través de papel filtro plegado.

Determinación:

Transferir 20 ml del filtrado a un matraz cónico y añadir 5 ml del ácido nítrico diluido y 1 ml de la solución de sulfato de hierro (III) y amonio.

Transferir 20 ml de la solución de nitrato de plata al matraz cónico, luego añadir 3 ml del nitrobenzeno y mezclar bien. Agitar vigorosamente para coagular el precipitado.

Valorar el contenido del matraz cónico con tiocianato de potasio hasta la aparición de una coloración rosa persistente. Anotar el volumen requerido de la solución de tiocianato de potasio con una precisión de 0,05 ml.

Ensayo en blanco: llevar a cabo un ensayo en blanco utilizando el mismo volumen de solución de nitrato de plata.

Cálculo:

$$\text{Contenido de cloruro} = 58,44 \times (V_2 - V_1) / m \times C$$

V1 es el volumen, en mililitros, de la solución del tiocianato de potasio utilizado en la determinación

V2 es el volumen, en mililitros, de la solución del tiocianato de potasio utilizado en el ensayo en blanco

m es la masa, en gramos, de la porción de muestra

C es la concentración de la solución de tiocianato de potasio en moles por litro (l).

Contenido de cloruro en la carne y los productos cárnicos

ISO 1841-1:1996

Muestras:

Muestra ID 2015/P/20298 (embutido italiano)

Muestra ID 2015/36814 (salami)

Resultados:

Contenido de cloruro = $58,44 \times (V2-V1)/m \times C$

Contenido de sal = contenido de cloruro x 1,65

	Muestra 2015/P/20298 (embutido)	Muestra 2015/36814 (salami)
V1	18,4	15,7
V2	19,9	19,9
m	10,0514	10,0597
C	0,1	0,1
Contenido de cloruros (%)	0,87	2,43
Contenido de sal (%)	1,43	4,01

Determinación del contenido de sodio en la carne

EN 15505:2008

La muestra se digiere en ácido nítrico en recipientes cerrados en un horno de microondas. La solución resultante se diluye con agua, y el contenido de sodio se determina mediante AAS de llama utilizando un modificador de matriz.

Reactivos (*utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa.*)

Por tanto, usar sólo reactivos o agua con una concentración de elementos lo suficientemente baja como para no afectar a los resultados.

Agua, LiChrosolv® (p/n 1.15333)

El agua deberá ser como mínimo de grado 3 según la ISO 3696)

Ácido nítrico al 65 % Suprapur® (1.00441)

Sodio (1000 mg/l Na en HNO₃ 0,5 mol/l) conforme al SRM del NIST; Certipur® (1.70238)

Cloruro de cesio 99,995 Suprapur® (1.02039)

Aparato:

(Todo el material de vidrio y de plástico debe limpiarse cuidadosamente y enjuagarse para evitar la contaminación cruzada. El método exacto de limpieza se describe en la norma EN 13804.)

Molino de laboratorio (por ejemplo, molino de cuchillas)

Horno microondas de laboratorio

Espectrómetro de absorción atómica

Lámparas específicas del elemento:

Para el sodio, se aplican lámparas específicas del elemento con una longitud de onda de 589,0 nm.

(Consejos: el sodio puede medirse con AAS en modo emisión.)

Acetileno con la calidad apropiada.

Aire

Determinación del contenido de sodio en la carne

EN 15505:2008

Procedimiento:

1. Homogeneizar la muestra con un molino de laboratorio.

Sugerencia: en algunos casos, es necesario el secado de la muestra de manera que no afecte a los elementos contenidos, por ejemplo, mediante liofilización.

2. Preparación de la muestra

- Pesar 1,0 – 2,5 g de la muestra en un recipiente.
- Añadir 5,0 ml de ácido nítrico. Después de 30 minutos, añadir 5,0 ml de agua destilada y mezclar suavemente.
- Permitir la predigestión de las muestras dejando los recipientes abiertos durante un mínimo de 15 minutos antes de cerrarlos y proceder al programa de calentamiento.

Consejos: en caso de muestras con elevado contenido en grasas, reducir la porción de muestra 0,5 – 1,0 g. En caso de muestras con elevado contenido de agua, la porción de muestra puede aumentarse hasta 2,0 – 3,0 g. Las muestras con alto contenido de carbono elevado (por ejemplo, azúcares y grasas) pueden causar picos de presión súbitos durante el proceso. Permitir la predigestión de esas muestras dejándolas reposar durante la noche.

3. Programa de calentamiento del microondas

Etapa	Tiempo (min)	Temperatura (°C)
1	0–15	Hasta 190 °C
2	15–35	200 °C
3	De 35 en adelante	Enfriamiento

4. Dilución

Pipetear un volumen adecuado de la solución de la muestra, añadir 1 ml de solución Cs y diluir (prácticamente hasta 500 ml) este volumen con ácido nítrico al 2,7 % para que la concentración final de Na se encuentre en el intervalo de medición del elemento.

5. Espectrometría de absorción atómica

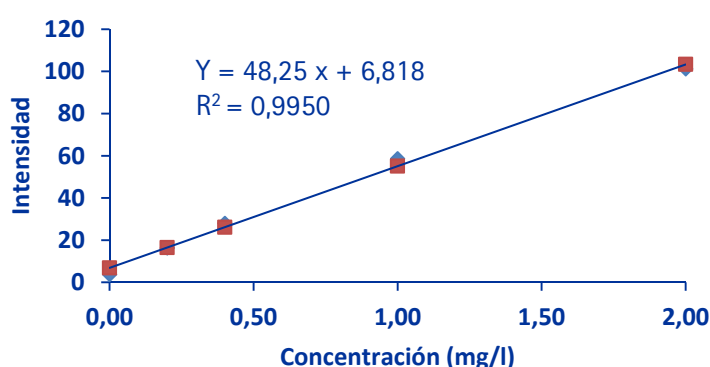
Antes de cada determinación, ajustar el instrumento como se especifica en el manual de funcionamiento del fabricante. La configuración exacta de nuestro instrumento se adjunta en un archivo aparte.

Determinación del contenido de sodio en la carne

EN 15505:2008

6. Calibración – Sodio

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
Blanco	3,7	0,0000
Patrón 1	16,3	0,2000
Patrón 2	28	0,4000
Patrón 3	58,6	1,0000
Patrón 4	101,2	2,0000
P-20298	50,4	0,8246
36814	55,1	0,9231



7. Cálculo

$c = (a \times V \times F) / m$, donde

c es la fracción de masa del sodio en miligramos por kilogramo

a es el contenido del elemento, en mg/l

V es el volumen de la solución de digestión, en ml

F es el factor de dilución de la solución problema

m es la muestra inicial en gramos

	muestra 2015/P/20298 (embutido)	muestra 2015/36814 (salami)
a (mg/l)	0,8246	0,9231
V (ml)	500	500
F (dilución)	25	50
m (g)	1,5713	1,3890
Contenido de sodio (%)	0,66	1,66
Contenido de sal (%)	1,65	4,15

Determinación del contenido de agua en muestras de aceite

DIN EN ISO 8534:2009

La grasa disuelta se valora contra una solución de yodo y el dióxido de azufre (SO₂) es oxidado por el yodo en presencia de agua. El alcohol reacciona con el SO₂ y una base nitrogenada (RN) para formar una sal alquilsulfito intermedia, que luego es oxidada por el yodo a una sal alquilsulfato. Esta reacción de oxidación consume el agua contenida en la muestra.

Reactivos para el análisis de Karl Fischer:

utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa.)

CombiCoulomat frit (1.09255.0500)

Reactivos de un componente: contienen todo el reactante de la solución valorante

Patrón de agua (1.88052.0010, al 1%)

Aparato: por ejemplo Cou-Lo Aquamax

Determinación:

1. verificar el aparato midiendo un patrón (inyectar 0,5 ml)
2. si el resultado vuelve en ± 10 %, es utilizable
3. inyectar la muestra en el recipiente de valoración (0,5 ml de muestra)
4. anotar la masa
5. introducir la masa de muestra en el instrumento
6. el instrumento calculará el resultado final
7. medir la muestra dos veces, luego hacer el promedio
8. la diferencia debe estar en el 10 % entre las dos mediciones

Resultados:

	Patrón	Muestra 1	Muestra 2
Peso total (g)	3,3128	2,9408	2,9561
Peso de la muestra (g)	0,4561	0,4657	0,4786
Resultado (mg/kg)	9767,38	292,53	292,17

Determinación de oligoelementos

EN 13805:2002

Éste es un método para la determinación de hierro, magnesio, potasio, sodio y calcio en los productos alimenticios. La muestra se mineraliza mediante digestión presurizada con ácido nítrico. En la solución de digestión resultante, el hierro, el magnesio, el potasio, el sodio y el calcio se cuantifican mediante espectrometría de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

Reactivos:

(utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa. La concentración de hierro, magnesio, potasio, sodio y calcio en los reactivos y el agua utilizada será lo suficientemente baja como para no afectar a los resultados de la determinación).

Agua, LiChrosolv® (1.15333)

Ácido nítrico al 65 % Suprapur® (1.00441)

Solución madre de múltiples elementos – solución patrón IV de múltiples elementos para ICP Certipur® (1.11355.0100)

$\rho(\text{Fe}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Mg}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{K}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Na}) = 1000 \text{ mg/l}$

$\rho(\text{Ca}) = 1000 \text{ mg/l}$

Soluciones patrón de multielementos y soluciones de calibración

Las soluciones patrón y de calibración se preparan a partir de la solución madre mediante dilución en matraces aforados de vidrio (fiolas). Para la calibración, preparar como mínimo cinco (5) soluciones de calibración de concentraciones diferentes. La concentración ácida corresponderá a la concentración de la solución de medición. Se proporciona como ejemplo la preparación de las soluciones siguientes.

Soluciones de calibración de $\rho(\text{Fe, Mg, K, Na, Ca}) = 0,5 \text{ mg/l, } 1,0 \text{ mg/l, } 2,5 \text{ mg/l, } 5,0 \text{ mg/l, } 10,0 \text{ mg/l}$ para ICP-OES.

Llenar cinco matraces aforados (fiolas) de 100 ml con 10–20 ml de agua, añadir 10 ml de ácido nítrico y mezclar. Enfriar las soluciones a temperatura ambiente y pipetear exactamente 0,05, 0,1, 0,25, 0,5, 1,0 ml de una solución madre multielementos para obtener las soluciones de calibración respectivas con concentraciones en masa de 0,5 mg/l, 1,0 mg/l, 2,5 mg/l, 5,0 mg/l y 10,0 mg/l en las cinco diferentes fiolas de 100 ml. Mezclar las soluciones y diluir hasta completar el volumen con agua.

Las soluciones de calibración aquí descritas se entenderán como ejemplos. Las concentraciones preparadas estarán en el intervalo lineal del aparato de medición. La concentración de ácido de las soluciones de calibración coincidirán con la concentración de ácido de la solución de muestra.

Determinación de oligoelementos

EN 13805:2002

Solución blanco

La solución blanco contiene agua y ácido nítrico en cantidades que corresponden a las concentraciones de la solución de medición, por ejemplo, 10 ml de ácido nítrico en 100 ml de agua.

Aparato

Sistema de reacción por microondas
ICP- OES (Visión axial).

Digestión de la muestra

Mineralizar la muestra en digestión bajo presión de acuerdo con la EN 13805:2002. Los requisitos de la digestión se basan en las especificaciones del fabricante del instrumento, la reactividad de la muestra, la estabilidad del recipiente de digestión a presión máxima y la temperatura alcanzable.

Pesar precisamente 0,8–0,9 g de muestra en el recipiente de digestión y mezclar con 5 ml de ácido nítrico y 1 ml de agua. La solución en digestión producida como consecuencia de la digestión bajo presión según la norma puede utilizarse directamente o puede diluirse para la posterior cuantificación del hierro, el magnesio, el potasio, el sodio y el calcio.

Espectrometría de emisión óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP – OES)

Iniciar el instrumento y dejarlo estabilizar, luego optimizar siguiendo las especificaciones del fabricante e iniciar las mediciones. Utilizar la solución blanco para ajustar el instrumento a cero. Inyectar las soluciones de calibración por separado en orden ascendente en el plasma y medir la emisión del elemento que vaya a determinarse.

Evaluaciones

En la siguiente tabla se indican las líneas analíticas pertinentes para la determinación con ICP – OES y el límite de cuantificación (LdC).

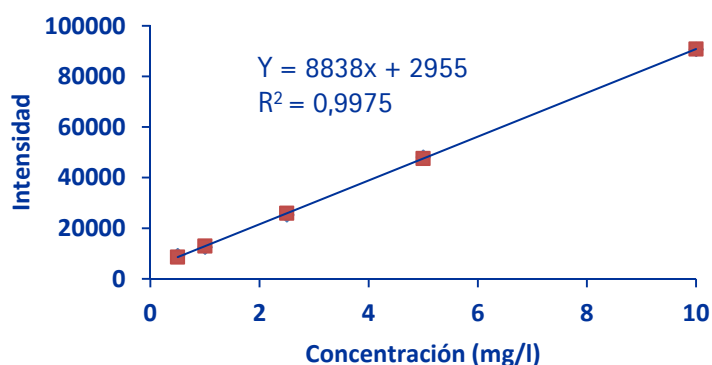
Elemento	Longitud de onda de emisión (nm)	LdC (mg/kg)
Fe	239,562	2,0
Mg	280,271	1,0
Ca	315,887	3,0
Na	589,592	3,0
K	766,490	1,5

Determinación de oligoelementos

EN 13805:2002

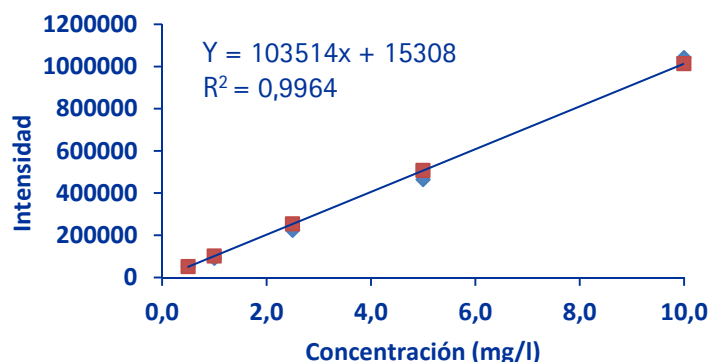
Datos de calibración – Calcio (Ca)

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
1	9208	0,5
2	12475	1,0
3	25234	2,5
4	48070	5,0
5	90670	10,0



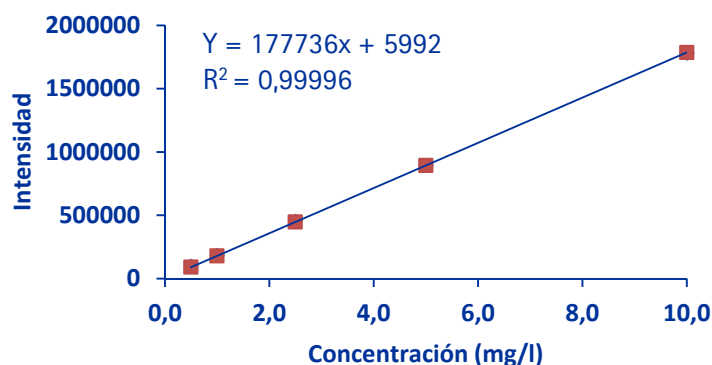
Datos de calibración – Sodio (Na)

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
1	52753	0,5
2	91055	1,0
3	224058	2,5
4	464668	5,0
5	1042380	10,0



Datos de calibración – Magnesio (Mg)

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
1	98003	0,5
2	184064	1,0
3	453123	2,5
4	895895	5,0
5	1781856	10,0

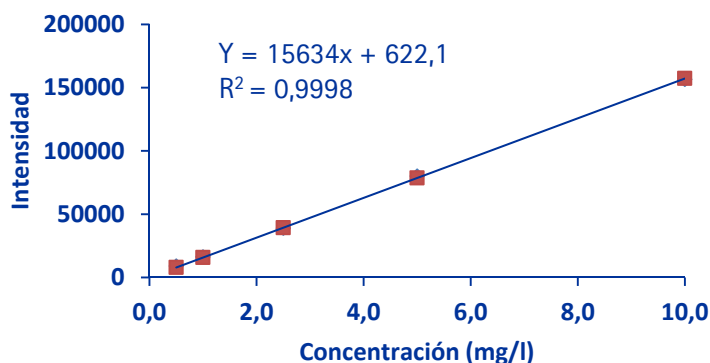


Determinación de oligoelementos

EN 13805:2002

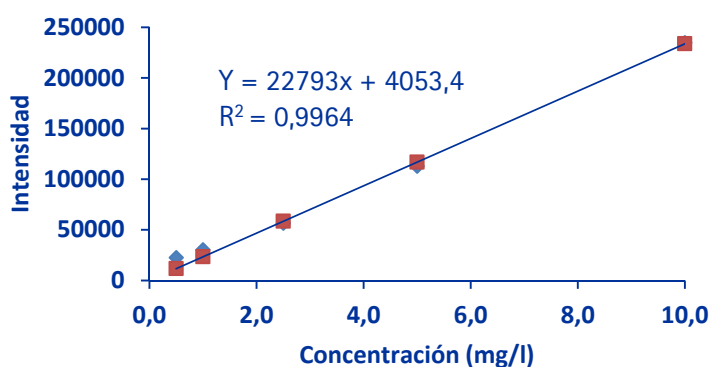
Datos de calibración – Hierro (Fe)

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
1	9052	0,5
2	16226	1,0
3	38950	2,5
4	80062	5,0
5	156491	10,0



Datos de calibración – Potasio (K)

ID de la muestra	"Intensidad" (Altura)"	"Conc. (mg/l)"
1	22605	0,5
2	30335	1,0
3	56651	2,5
4	112827	5,0
5	234966	10,0



Resultados: en la tabla siguiente se presentan los valores medios del hierro (Fe), el magnesio (Mg), el calcio (Ca), el sodio (Na) y el potasio (K) encontrados en los tres tipos diferentes de muestra.

Muestra	Fe	Mg	Ca	Na	K
	(mg/Kg)				
Vaca	31,04	246,3	69,34	921,8	2692,5
Pollo	4,996	364,8	38,91	499,9	2946,3
Leche	1,329	123,5	402,2	402,2	1284,3

Residuos

Definición

Plaguicidas

1. La designación de plaguicida se aplica a cualquier sustancia o mezcla de sustancias previstas para evitar, destruir o controlar cualquier especie de planta o animal no deseada que pueda causar daño durante, o interferir de algún modo en, la producción, el procesamiento, el almacenamiento, el transporte o la comercialización de artículos naturales. La designación incluye sustancias pensadas para ser utilizadas como reguladores del crecimiento, defoliantes o desecantes, y cualquier sustancia aplicada a las cosechas antes o después de la recolección para proteger el producto del deterioro durante su conservación y transporte.
2. Los plaguicidas suelen utilizarse en agricultura. Los plaguicidas pueden permanecer en pequeñas cantidades (llamadas residuos) en o sobre las frutas, las verduras, los cereales y otros alimentos. Para asegurar que los alimentos son seguros para el consumo, los organismos oficiales, como la Agencia Estadounidense de Protección Medioambiental (EPA), regulan la cantidad de cada plaguicida que puede permanecer en y sobre los alimentos.
3. Los plaguicidas se clasifican en cuatro productos químicos principales: herbicidas, fungicidas, insecticidas y bactericidas.

Antibióticos

1. Durante sus vidas, es posible que haya que tratar a los animales con diferentes medicinas para la prevención y la curación de enfermedades. En los animales productores de alimentos, como el ganado vacuno, los cerdos, las aves de corral y el pescado, esto puede provocar que queden residuos de las sustancias utilizadas para el tratamiento en los productos alimenticios procedentes de esos animales (carne, leche, huevos). Sin embargo, los residuos no deben ser dañinos para el consumidor. Para garantizar un elevado grado de protección al consumidor, la legislación exige la evaluación de la toxicidad de los posibles residuos antes de autorizar la utilización de una medicina en animales productores de alimentos. Si se considera necesario, se establecen límites máximos de residuos (LMR) y, en algunos casos, se prohíbe el uso de la sustancia correspondiente.

Otras lecturas sobre residuos de plaguicidas y antibióticos:

<http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/Pesticides/default.htm>

<http://www.epa.gov/pesticides/index.htm>

<http://www.agf.gov.bc.ca/pesticides/>

http://ec.europa.eu/food/food/index_en.htm

http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm

http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm

<http://en.wikipedia.org/wiki/Pesticide>

Plaguicidas

Los plaguicidas son sustancias biológicas (como virus, bacterias, antimicrobianos o desinfectantes) o químicas o una mezcla de sustancias pensadas para evitar, destruir, repeler o mitigar cualquier plaga. Los plaguicidas van dirigidos contra insectos, fitopatógenos, malas hierbas, moluscos, aves, mamíferos, peces, nemátodos y microorganismos que destruyen las propiedades, causan molestias, propagan enfermedades o son vectores de enfermedades.

En la actualidad, la Unión Europea menciona límites máximos de residuos para 507 plaguicidas. Muchos de ellos son difíciles de analizar utilizando métodos tradicionales. Por ejemplo, el cloromequat y el mepiquat son dos plaguicidas muy hidrófilos que se utilizan mucho como reguladores del crecimiento vegetal. Actúan inhibiendo el crecimiento vegetativo y promoviendo la floración en una amplia variedad de frutas, verduras, cereales y algodón. Se eliminan en el suelo mediante procesos microbiológicos y su producto final es el dióxido de carbono, pero pueden acumularse en plantas, animales y humanos. Estos compuestos figuran en la Agencia Estadounidense de Protección Medioambiental (US-EPA); por tanto, exige que se midan.



En compilaciones de aplicación anteriores pueden encontrarse otros métodos para cribado de residuos.

Determinación de plaguicidas

EN 15662:2009

Éste es un método para el análisis de restos de plaguicidas en alimentos de origen vegetal, como frutas (incluidos los frutos secos), verduras, cereales y productos procesados a partir de ellos. El método permite analizar 300 componentes al mismo tiempo, utilizando el método de extracción o partición en fase sólida por dispersión (SPE) con acetonitrilo para limpieza (QuEChERS) seguido de GC-MS o LC-MS/MS. En este ejemplo, sólo se determinaron 10 componentes.

Reactivos:

(utilizar sólo grados analíticos reconocidos, salvo que se especifique otra cosa)

Agua (1.15333)
Acetonitrilo (1.00029)
Metanol, grado LC-MS
Formiato de amonio, grado LC-MS
Ácido fórmico (1.00264.1000)
Sulfato de magnesio anhidro (1.06067)
Cloruro de sodio (1.06404)
Bondesil PSA, 40 µm, 100 g
Absorbente carbono a granel para SPE, frasco de 25 g

Patrones de plaguicidas

Azoxistrobina
Buprofezin
Fenpiroximato
Hexitiazox
Miclobutanil
Penconazol
Tetraconazol
Tolilfluanida
Trifloxistrobina
Triflumizol

Determinación de plaguicidas

EN 15662:2009

Preparación de la muestra (tomates)

1. Tomar una muestra representativa (10 g) y colocarla en un recipiente adecuado.
2. Añadir 10 ml de ácido fórmico:acetonitrilo (1:1 volumen/volumen-%) y homogeneizar
3. Añadir mezcla tampón-sal, homogeneizar
 - Sulfato de magnesio (4 g)
 - Cloruro sódico (1 g)
 - Centrifugar a 4200 rpm, 2,5 min
4. Tomar la mayor cantidad posible de la fase superior (4 ml)
5. Añadir la mezcla salina de absorción a esta fase, homogeneizar
 - Absorbente carbono a granel para SPE (35,0 mg)
 - Bondesil-PSA (113,0 mg)
 - Sulfato de magnesio (652,0 mg)
 - Centrifugar a 4200 rpm, 2,5 min
6. Llenar un vial con 1 ml de la fase superior

Análisis LC-MS/MS (usar un sistema de UHPLC apropiado)

Detector de MS-MS: sistema de MS/MS Q Trap o similar

Columna de HPLC: C18, núcleo fundido (10 cm x 3,0 mm, 2,7 µm)

Precolumna : C18, núcleo fundido (0,5 cm x 3,0 mm, 2,7 µm)

Sistema eluyente: A: Formiato de amonio 1 mmol/l con ácido fórmico al 0,1 % en agua

B: Metanol

Caudal: 500 µl/min

Inyección: 20 µl

Temperatura: 40 °C

Perfil de gradiente:

Tiempo (min)	A (%)	B (%)
0	95	5
2,0	65	35
8,5	5	95
15,0	5	95
16,0	95	5
20,0	95	5

Determinación de plaguicidas

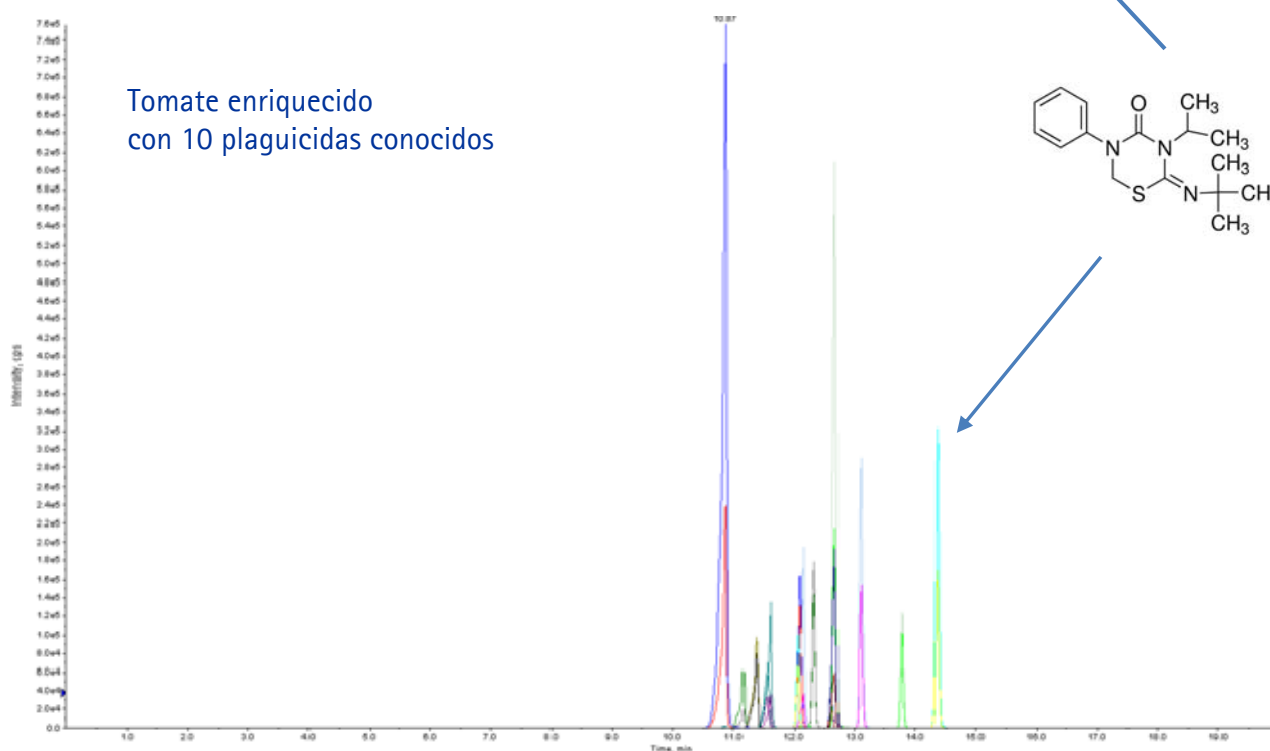
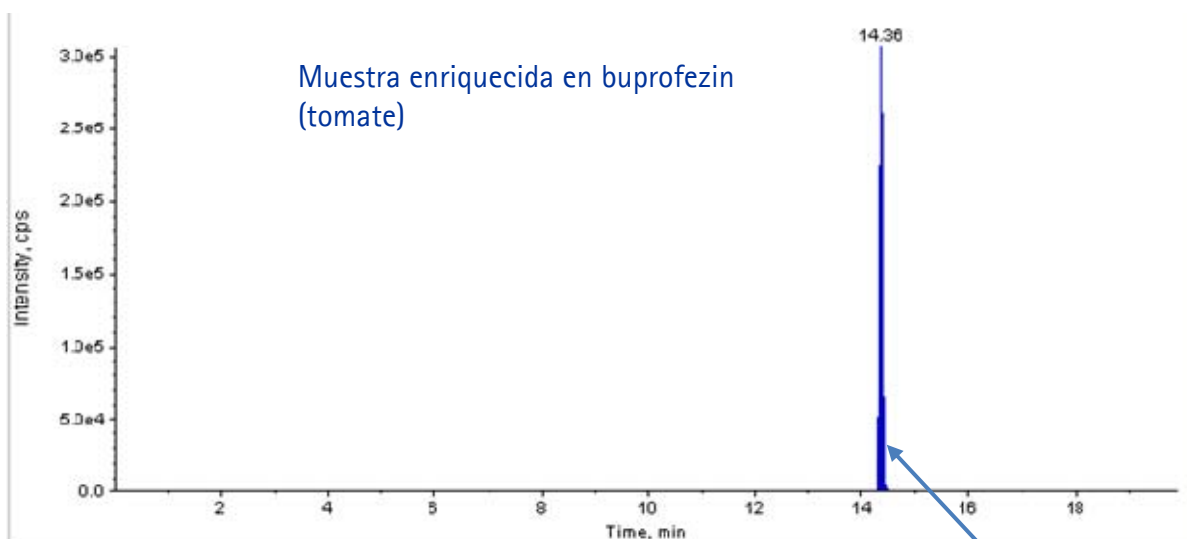
EN 15662:2009

Parámetros MS-MS	
Polaridad	+
CUR (gas cortina)	40 psi
CAD (gas colisión)	Elevado
IS	5500 V
Temp	400 °C
GS1	35 psi
GS2	45 psi

	Q1	Q3	DP-(V)	EP- (V)	CE- (V)	CXP-(V)	TR (min)
Azoxistrobina 1	404,1	372,3	31	6,5	19	6	11,04
Azoxistrobina 2	404,1	344,2	31	6,5	25	6	11,04
Buprofezin 1	306,1	201,3	50	4	17	4	13,34
Buprofezin 2	306,1	106,0	50	4	31	4	13,34
Fenpiroximato 1	422,3	366,3	46	6	21	4	14,62
Fenpiroximato 2	422,3	135,2	46	6	45	4	14,62
Hexitiazox 1	353,3	228,0	41	6,5	19	4	14,02
Hexitiazox 2	353,3	168,3	41	6,5	31	4	14,02
Miclobutanil 1	289,1	70,2	41	5,5	31	4	11,56
Miclobutanil 2	289,1	125,1	41	5,5	39	4	11,56
Penconazol 1	284,2	159,1	36	5,5	35	4	12,28
Penconazol 2	284,2	70,2	36	5,5	29	4	12,28
Tetraconazol 1	372,1	159,0	46	4	39	4	11,79
Tetraconazol 2	372,1	70,1	46	4	39	4	11,79
Tolilfluanida 1	347,2	137,2	41	5,5	37	4	12,23
Tolilfluanida 2	347,2	238,0	41	5,5	15	4	12,23
Trifloxistrobina 1	409,3	186,1	41	4	23	4	12,85
Trifloxistrobina 2	409,3	206,3	41	4	19	4	12,85
Triflumizol 1	346,2	278,3	36	4	15	4	12,89
Triflumizol 2	346,2	73,1	36	4	23	4	12,89

Determinación de plaguicidas

EN 15662:2009



Técnicas instrumentales

utilizadas en los métodos mencionados en las normas

En esta compilación, se comentan diversos parámetros que debe comprobar la industria alimentaria y se proporcionan ejemplos utilizando métodos de las normas, definidos por organizaciones mundiales o autoridades locales, para la determinación de los diferentes parámetros.

Pero, ¿cómo se han seleccionado estos métodos? y ¿hay alguna otra alternativa?

Las normas van apareciendo tras el desarrollo de las técnicas analíticas pero, por su naturaleza, lo hacen con lentitud. Una nueva técnica tiene que ser ensayada y comprobada para su solidez y facilidad de uso.

Otro factor importante es que la lista de parámetros fundamentales y de intervalos de concentración de algunos componentes van cambiando con el tiempo en las normas. El número de moléculas que se ha demostrado que son dañinas está aumentando. El incremento procede de las nuevas tecnologías y los nuevos materiales fabricados por el ser humano, pero también del continuo desarrollo de nuestro conocimiento sobre las enfermedades. Esto significa que tenemos que desarrollar técnicas de medición para los nuevos materiales, pero también para las nuevas matrices o para intervalos de concentración muy bajos.

Antes de empezar un determinación cuantitativa, tenemos que asegurarnos de que la molécula o el elemento específico están en forma medible, que no habrá enlaces físicos ni químicos que puedan afectar a nuestro resultado y que el resultado medido procede únicamente del compuesto que queremos medir. En el caso de los alimentos, esto puede ser a menudo un proceso bastante difícil. Por este motivo, siempre que es posible, en la industria alimentaria se prefieren métodos menos sensibles para los contaminantes y métodos que requieren una preparación sencilla de la muestra.

En los siguientes capítulos, encontrará una visión global y una breve introducción a las técnicas mencionadas en la compilación. Le proporcionamos una descripción aproximada con algunas referencias a los aspectos que se acaban de mencionar.

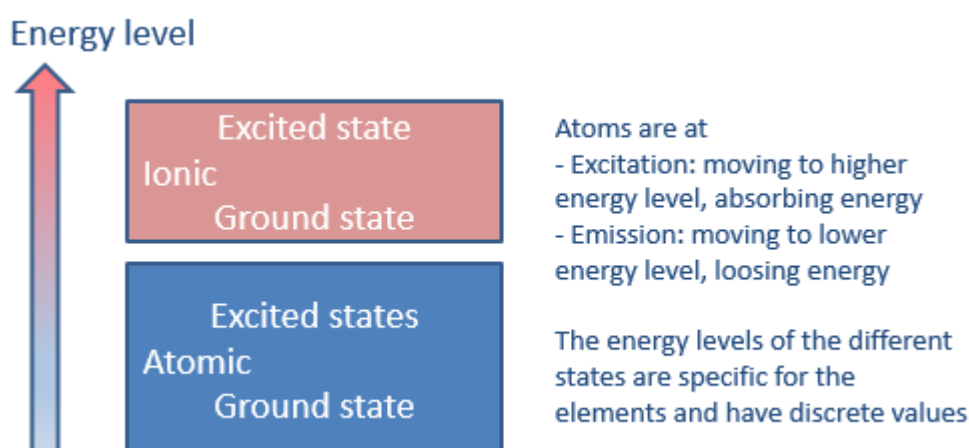
Técnicas instrumentales

Espectroscopia atómica

En la espectroscopia atómica podemos realizar la determinación cualitativa y cuantitativa de los elementos en función de sus características a nivel atómico. Pueden ser:

- Absorción: AAS
- Emisión: ICP

En ambos casos, tenemos que transformar el elemento que queremos estudiar en su forma atómica para realizar la medición.



La espectroscopia óptica nació con Newton en el siglo XVII, pero hubo de transcurrir un largo periodo hasta que se percibiera que las líneas de los espectros de emisión y absorción eran de origen atómico y se desarrollara su utilización en una técnica de medición analítica.

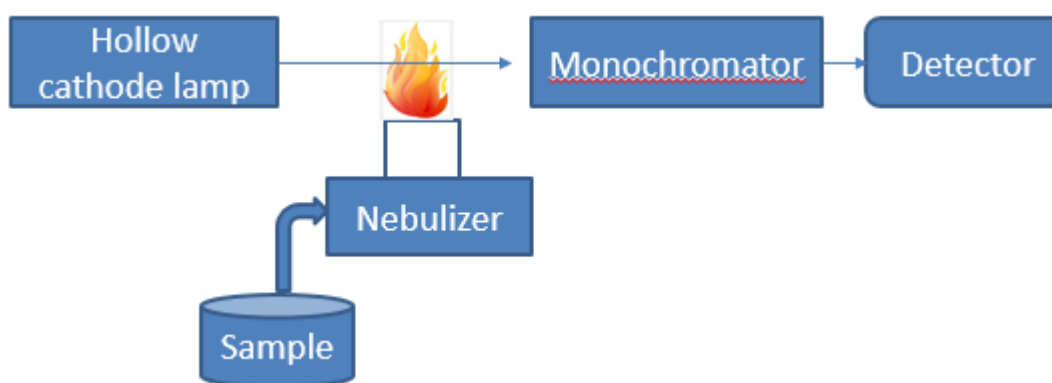
Los primeros pasos se dieron en la espectroscopia de emisión atómica, permitiendo el descubrimiento de diversos elementos nuevos, como el cesio, el rubidio, el talio, el indio o el galio.

En la actualidad, en la mayoría de los casos, la AAS o la ICP se utilizan para la determinación de las composiciones de los elementos.

Técnicas instrumentales

Espectroscopia de absorción atómica (AAS)

La absorción atómica cuantifica la absorción de los átomos en estado fundamental, en estado gaseoso. Para hacer una transición al nivel de energía superior, los átomos absorben luz del espectro visible o del UV. Puede determinarse la concentración en función de la absorción utilizando una curva de calibración.



Diferenciamos entre instrumentos de haz simple y de doble haz. En los instrumentos de doble haz, la luz procedente de la lámpara se divide en haz de "muestra" y haz de "referencia". La fuente de luz que suele utilizarse es una lámpara de cátodo hueco (HCL) o una lámpara de descarga sin electrodo (EDL).

La atomización es la separación de las partículas, en estos casos al nivel atómico. Esto se hace exponiendo el analito a temperaturas elevadas. Distinguimos entre sistemas con:

- Llama
- Tubo de grafito
- Generador de hidruros

Estos atomizadores aspiran la muestra en la trayectoria de la luz, donde es iluminada por la lámpara. La lámpara es específica de cada elemento y emite a su longitud de onda característica. Para el análisis cuantitativo se necesita un blanco y una curva de calibración.

El método es adecuado para unos 70 elementos. La limitación es la longitud de onda: en general, podemos trabajar a una longitud de onda por encima de 200 nm, pero el hidrógeno y algunos otros elementos tienen su línea de resonancia por debajo de los 200 nm.

Técnicas instrumentales

Espectroscopia de absorción atómica (AAS)

- Atomizador de llama

Necesitamos una mezcla de gas combustible y oxidante para la llama (como aire-acetileno, con una temperatura típica en torno a 2.200 °C o N₂O-acetileno con aprox. 2.700 °C).

Como promedio, el 5 - 15 % de la muestra nebulizada alcanzará la llama.

El volumen de muestra tiene que ser de alrededor de 0,5 - 1,0 ml.

- Horno de grafito

Se utiliza un horno recubierto de grafito para vaporizar, calentando el tubo con la muestra, utilizando una fuente de alimentación de alto voltaje. Sin necesidad de preparación de la muestra; es posible un pequeño tamaño de la muestra y el análisis directo de los sólidos. El sistema puede atomizar la muestra entera y retener la muestra atomizada en la trayectoria de la luz durante un periodo prolongado, aumentando la sensibilidad de la técnica. Sólo es posible la determinación de unos 40 elementos, pero con volúmenes de muestra en microlitros y con límites de detección normalmente 100-1000 veces mejores que los de los sistemas con atomizador de llama.

- Generador de vapor

Para separar el analito de la muestra matriz podemos utilizar el método de generación de vapor químico, mediante el que se genera una especie gaseosa como consecuencia de una reacción química. Distinguimos entre:

1. Método de vapor frío (CVAAS) para la determinación del mercurio (Hg) y
2. Método de generación de hidruros (HGAAS) para elementos que forman hidruros covalentes gaseosos (As, Bi, Ge, In, Pb, Sb, Se, Sn o Te).

En las aplicaciones pueden producirse interferencias, como interferencias de ionización, de matriz, químicas o la interferencia de fondo, que pueden aumentar o reducir el tamaño de nuestra señal. Como pueden influir de manera significativa en nuestros resultados, hay que considerarlas en el desarrollo del método.

Un buen ejemplo lo constituyen el Cd (228.802 nm) y el As (228.812 nm). En tales casos, ha de cambiarse la longitud de onda o quitarse o uno de los dos elementos tiene que ser eliminado.

Técnicas instrumentales

Plasma Acoplado Inductivamente

El plasma (en griego, "cualquier cosa formada") es uno de los cuatro estados fundamentales de la materia; los otros son: sólido, líquido y gaseoso. Un plasma tiene propiedades diferentes de las de los otros estados y puede crearse calentando un gas o sometiéndolo a un campo electromagnético fuerte.

Un plasma acoplado inductivamente (ICP) es un tipo de fuente de plasma en la cual la energía es suministrada por corrientes eléctricas que se producen mediante inducción electromagnética, es decir, mediante campos magnéticos variables en el tiempo.*

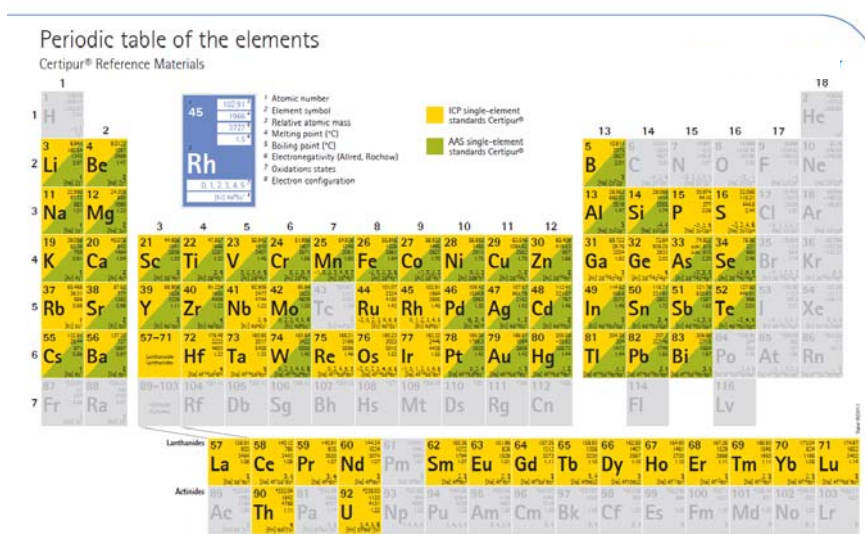
*[A. Montaser and D. W. Golightly, eds. (1992). *Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry*. VCH Publishers, Inc., Nueva York]

La espectrometría de emisión de plasma acoplado inductivamente (ICP-ES) se basa en la emisión de energía característica de los átomos y los iones de los elementos de la muestra que pasan del estado excitado al fundamental.

Para este proceso, se utiliza un plasma a alta temperatura (en un plasma de argón pueden alcanzarse 10.000 K). Para la detección de la luz emitida, se colocan físicamente un tubo o tubos fotomultiplicadores para detectar las longitudes de onda específicas o, en las unidades más modernas, la detección se realiza mediante fotodetectores semiconductores (dispositivos de carga acoplada, CCD).

Las intensidades medidas se comparan con las intensidades de patrones de concentración conocida para calcular las concentraciones elementales de la muestra desconocida. Además en esta técnica, una combinación especial de elementos puede producir interferencias. En la mayoría de los casos, esto puede corregirse mediante programas informáticos especiales del instrumento.

Periodic table of the elements
Certipur® Reference Materials



Legend:

- Yellow: ICP single-element standards Certipur®
- Green: AAS single-element standards Certipur®

Key elements highlighted in yellow (ICP standards): H, He, Li, Be, B, C, N, O, F, Ne, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, Ar, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Br, Kr, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Tc, Ru, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr.

Key elements highlighted in green (AAS standards): Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Te, I, Xe, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Pm, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Fr, Ra, Ac, Th, Pa, U, Np, Pu, Am, Cm, Bk, Cf, Es, Fm, Md, No, Lr.

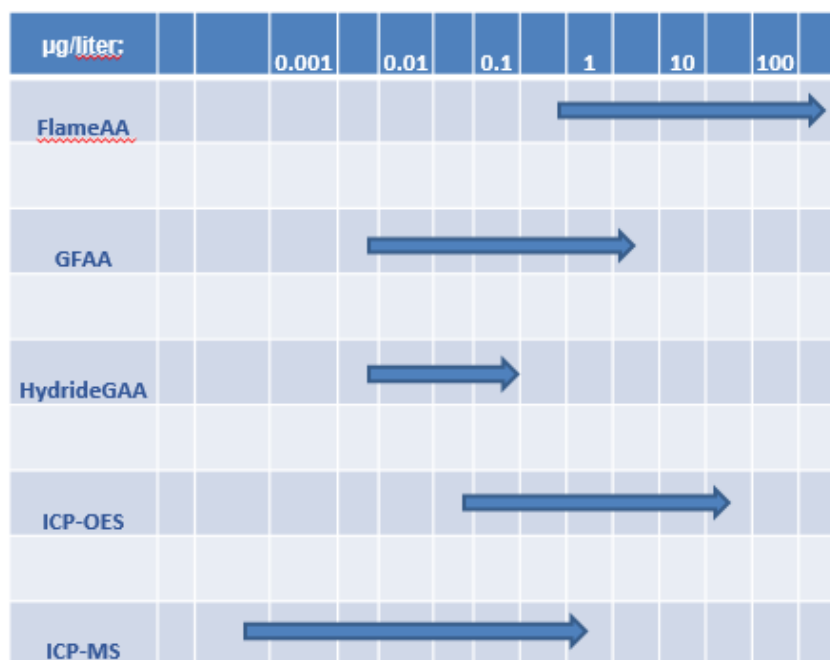
Técnicas instrumentales

Plasma inductivamente acoplado con detección de masa (ICP-MS)

Una forma especial de ICP es su combinación con la detección de masas (ICP-MS), en la que se combina la fuente de ICP a temperatura elevada con un espectrómetro de masas. Los elementos de la muestra son convertidos en iones por la ICP y son separados y detectados por el espectrómetro de masas. Esto ofrece varias ventajas:

- pueden manejarse matrices simples y complejas con bajos niveles de interferencia de matriz debido a la elevada temperatura de la fuente de ICP
- los límites de detección suelen ser iguales o mejores que los obtenidos mediante espectroscopia de absorción atómica en horno de grafito (GFAAS)
- muy buena capacidad de detección en comparación con la ICP-AES con el mismo rendimiento de la muestra
- puede obtenerse un rendimiento superior al obtenido con GFAAS
- es posible la información isotópica

En la tabla pueden verse los intervalos de detección típicos de las diferentes técnicas de espectroscopia atómica:



Técnicas instrumentales

pH

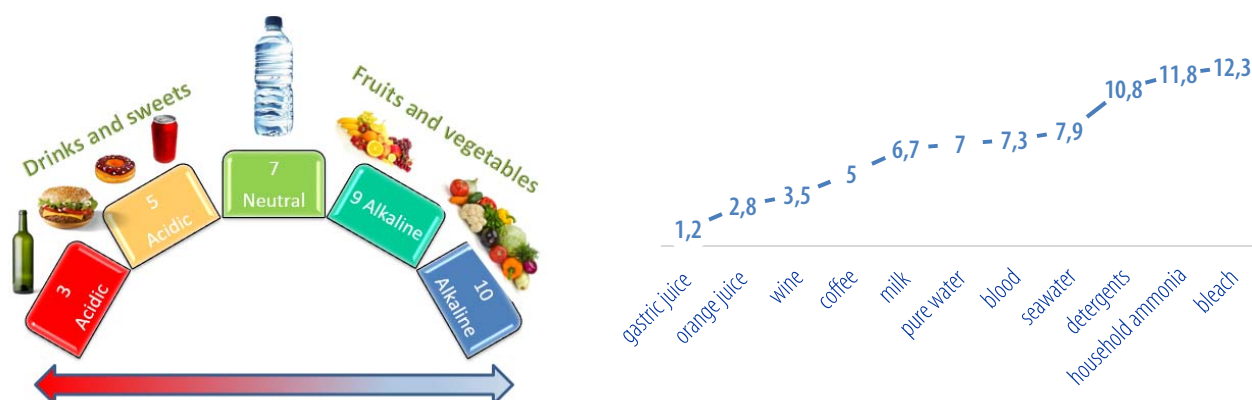
El pH es un parámetro que se puede medir rápido para obtener la primera información sobre la calidad de diferentes tipos de alimentos crudos y procesados.

Si tomamos la leche como ejemplo, el pH de la leche es de en torno a 6,8, y se comprueba cuando se recoge y en el punto final de distribución. En varios procesos, como la esterilización, el pH se comprueba con regularidad ya que un valor inferior ayuda a acelerar el proceso. Sin embargo, por ejemplo, valores más bajos de pH pueden indicar también que el ganado tiene infección leucocitaria.

Otro ejemplo es la carne. El pH de las reses en canal (carcasas o cadáveres) constituye una importante prueba inicial para determinar la condición del animal antes de la sacrificio. El valor típico de pH, que oscila entre 5,4 y 7,0, puede proporcionar también una indicación de si la carne fresca se conservó adecuadamente, ya que el pH varía en las diferentes partes del animal en función de la masa muscular (por ejemplo, el lomo tiene un menor valor de pH).

Valores de pH muy elevados indican una pérdida de aroma y una carne visiblemente más oscura, lo que tiene como consecuencia un menor valor de mercado. Además de la carne cruda, a menudo se refrigeran los ingredientes utilizados en la producción de jamón y de salchichas. Simplemente comprobando el pH en la entrada del licuador y en los puntos de drenaje, puede determinarse si se ha filtrado algo de amoníaco.

Algunos ejemplos típicos de valores de pH en el alimento:



Técnicas instrumentales

pH

El concepto de pH lo introdujo por primera vez el químico danés Søren Peder Lauritz Sørensen en el Carlsberg Laboratory en 1909, y se revisó al concepto moderno de pH en 1924. El significado exacto de la "p" de "pH" es controvertido. Según la Carlsberg Foundation, pH significa "potencia de hidrógeno". Otra sugerencia es que "p" representa las expresiones latinas pondus hydrogenii (cantidad de hidrógeno), potentia hydrogenii (capacidad de hidrógeno) o potencial de hidrógeno.

En el uso actual en química, p corresponde a "cologaritmo decimal de", igual que en el término pKa, que se utiliza para las constantes de disociación ácida. Por definición, el pH es la medida de la acidez o la alcalinidad de una solución acuosa. La acidez o la alcalinidad de una solución acuosa se determina mediante el número relativo de iones hidrógeno (H^+) o iones hidroxilo (OH^-) presentes.

Normalmente se acepta que el pH es el logaritmo negativo de la concentración del ion hidrógeno.
 $pH = -\log_{10} [H^+]$.

Concentración de H^+ (mol/l)	Concentración de OH^- (mol/l)	pH
1	0,000000000000001	0
0,1	0,00000000000001	1
0,01	0,0000000000001	2
0,001	0,000000000001	3
0,0001	0,00000000001	4
0,00001	0,0000000001	5
0,000001	0,000000001	6
0,0000001	0,00000001	7
0,00000001	0,0000001	8
0,000000001	0,00001	9
0,0000000001	0,0001	10
0,00000000001	0,001	11
0,000000000001	0,01	12
0,0000000000001	0,1	13
0,00000000000001	1	14

De esta forma se ha creado una sencilla escala de 0 a 14: la escala de pH.
 La escala de pH es logarítmica y, por tanto, el pH es una cantidad que carece de dimensiones.

Técnicas instrumentales

pH

En la actualidad hablamos, con más precisión, sobre la actividad del hidrógeno (H^+). Una medición de pH determina sólo la concentración de iones hidrógeno activos en una solución, y no la concentración total de iones hidrógeno. Sólo en las soluciones diluidas todos son aniones y cationes, hasta tal punto que la concentración del ion H^+ y la actividad del ion H^+ son idénticas.

Ésta es la razón del cambio de pH observado con la temperatura en el agua purificada. Si la temperatura aumenta en el agua purificada, aumenta la disociación de los iones hidrógeno e hidroxilo. Dado que el pH está relacionado sólo con la concentración de iones hidrógeno disociados, el valor de pH disminuye aunque el agua siga siendo neutra.

Según la ecuación de Nernst:

$$E = E^0 + \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+}) = E^0 - \frac{2.303RT}{F} pH$$

E es un potencial medido,
 E^0 es el potencial estándar de electrodo,
 R es la constante de los gases,
 T es la temperatura en grados Kelvin,
 F es la constante de Faraday.

Para el H^+ el número de electrones transferidos es igual a uno.

Esto significa que el potencial de electrodo es proporcional al pH, cuando el pH se define en términos de actividad y el pH de una muestra dada cambia con la temperatura de la muestra.

El pH suele determinarse mediante tiras indicadoras o medirse con instrumentos, utilizando un electrodo de vidrio sensible al pH, un electrodo de referencia y un sensor de temperatura, que pueden formar parte de un electrodo de vidrio combinado.

En el electrodo de pH se utiliza un vidrio sensible al pH, especialmente formulado, en contacto con la solución, que desarrolla un potencial (es decir, voltaje) proporcional al pH de la solución. El electrodo de referencia está diseñado para mantener un potencial constante a cualquier temperatura dada.

Técnicas instrumentales

pH

En el proceso de medición, la calibración del electrodo es muy importante: el potencial es proporcional al pH, pero para saber el valor absoluto tenemos que utilizar soluciones de calibración, en el caso óptimo en el intervalo o cerca del intervalo de pH de nuestra muestra.

La mayoría de los instrumentos ofrecen el cálculo automático de la curva de calibración basado en la calibración de tampónes en 2 o 3 puntos de pH.

El pH parece fácil de medir, pero hay diversos factores de posible error:

- Calidad del tampón de calibración
- Cualquier problema con el proceso de la calibración
- Tiempo de re-calibración correcto
- Errores procedentes de la función del electrodo a pH alto o bajo (error alcalino, error ácido)
- La corrección de la compensación de la temperatura
- El envejecimiento del electrodo



Certipur® Standard reference materials and buffers

Not all reference materials
are the same ...



Merck Millipore is a division of  MERCK

Técnicas instrumentales

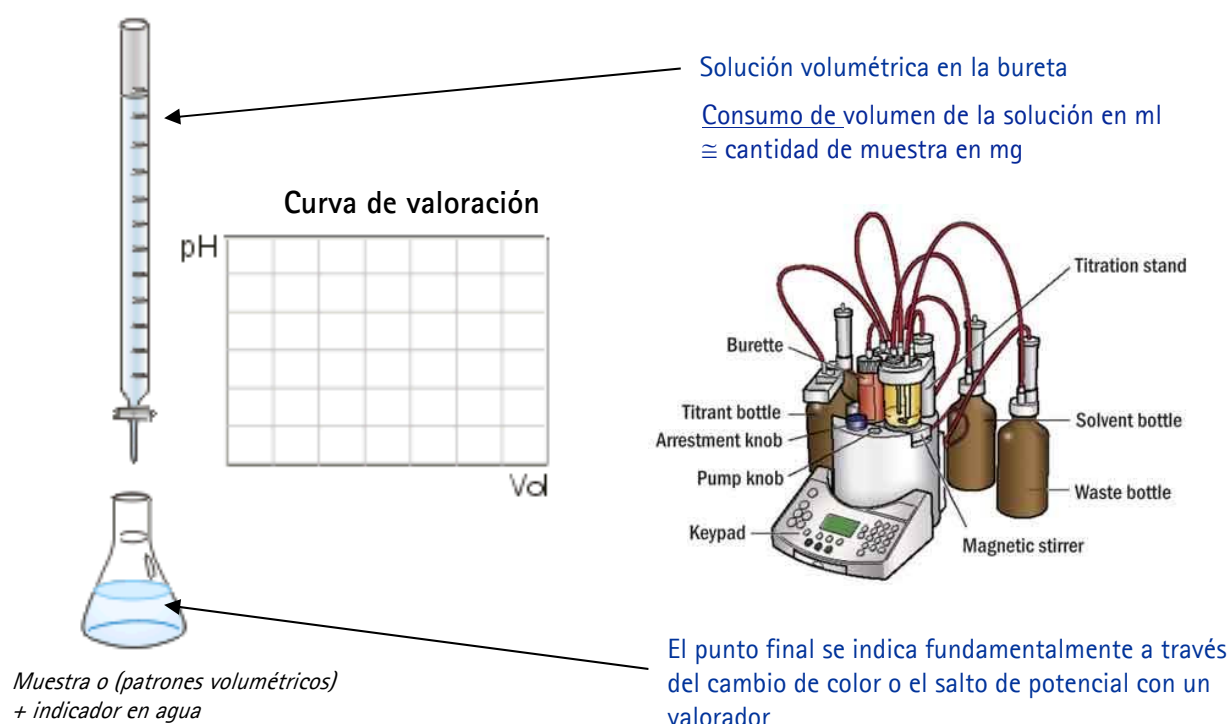
Valoración

Para las muestras alimentarias, la valoración es un método ampliamente utilizado para la determinación de los diferentes ingredientes.

La valoración puede realizarse manualmente o con instrumentos. Puede ajustarse fácilmente a la necesidad de la empresa, dependiendo del número y la diversidad de las muestras, del tiempo, el presupuesto y la capacidad de personal disponible en el laboratorio.

Principio:

La valoración es una técnica analítica que permite la determinación cuantitativa de una sustancia específica (analito) disuelto en una muestra.

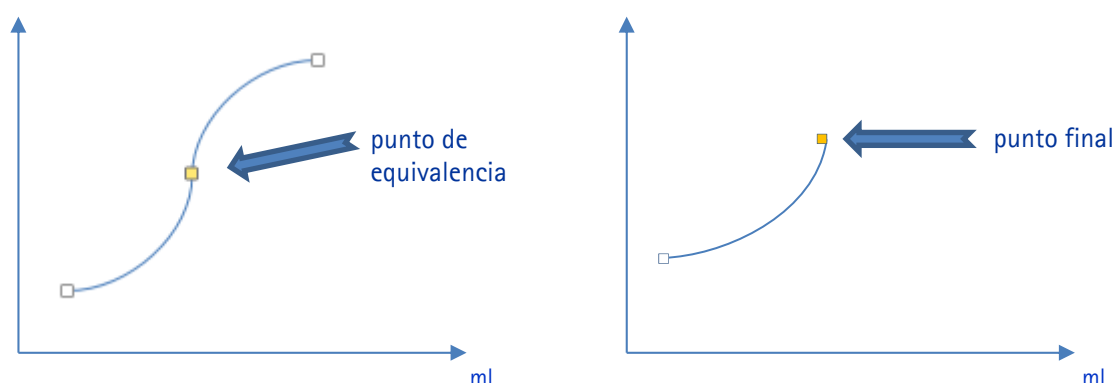


La valoración volumétrica se basa en una reacción química completa entre el analito y un reactivo (valorante) de concentración conocida que se añade a la muestra.

Técnicas instrumentales

Valoración

Podemos distinguir valoraciones basadas en el tipo de reacción, basadas en el método de detección o basadas en el tipo curva de valoración (punto de equivalencia o punto final).



Las valoraciones clásicas se realizaban utilizando un indicador con cambio de color (véanse ejemplos de valoración ácido/base en la tabla).

En la actualidad es más común utilizar un electrodo para la detección también en las valoraciones manuales.

Indicador	Color en el lado ácido	Intervalo de cambio de color	Color en el lado básico
Violeta de metilo	Amarillo	0,0–1,6	Violeta
Azul de bromofenol	Amarillo	3,0–4,6	Azul
Naranja de metilo	Rojo	3,1–4,4	Amarillo
Rojo de metilo	Rojo	4,4–6,3	Amarillo
Rojo tornasol	Rojo	5,0–8,0	Azul
Azul de bromotimol	Amarillo	6,0–7,6	Azul
Fenolftaleína	Incoloro	8,3–10,0	Rosa
Amarillo de alizarina	Amarillo	10,1–12,0	Rojo

Técnicas instrumentales

Valoración

Algunos ejemplos de valoraciones típicas en muestras alimentarias son:

- Ácido/base valor de saponificación, utilizando un electrodo de vidrio de pH
- Rédox contenido de vitamina C, utilizando un electrodo rédox de platino
- Complexométrica contenido de calcio, utilizando un sensor fotométrico o ion-selectivo
- Termométrica contenido de sal como sodio, utilizando un sensor de temperatura
- Precipitación contenido de sal como cloruro, utilizando un electrodo de anillo de plata

Valorante:

Entenderemos la importancia de la concentración exacta del valorante (el denominado título), si consideramos que nuestro resultado se calcula a partir de él.

La estabilidad de un valorante con el tiempo tiene que tenerse en cuenta caso por caso.

Pueden haber diferentes factores que conduzcan a una desviación del título:

- Preparación incorrecta del valorante
- Pureza del valorante utilizado
- Cambios debidos a inestabilidad

Titripur®
The Measure of all Things
Titration Guide for
Titer Determination



Merck Millipore is a division of MERCK

Un ejemplo de esto último son los valorantes básicos, como los hidróxidos.

Captan dióxido de carbono del aire con el tiempo y cambia su molaridad. Otro ejemplo es la bien conocida valoración de Karl Fischer, en la que es básicamente inevitable que la humedad del entorno llegue al valorante.

El factor para la concentración eficaz se determina mediante una determinación del título, es decir, la valoración de una sustancia de concentración conocida con exactitud, normalmente un patrón primario.

Técnicas instrumentales

Trazabilidad de las soluciones volumétricas y los patrones volumétricos respecto al patrón de referencia (SRM) del NIST

Método volumétrico	Patrones de referencia (SRM)	Solución volumétrica	Patrones volumétricos Oferta de productos
Acidimetría	Tris(hidroximetil)-aminometano (NIST)	HCl	Patrón volumétrico tris(hidroximetil)aminometano, material de referencia secundario para acidimetría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. USP 1.02408.0080
		HCl	Patrón volumétrico carbonato de sodio, material de referencia secundario para acidimetría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. Farm. Eur. 1.02405.0080
Alcalimetría	Hidrogenoftalato de potasio (NIST)	NaOH	Patrón volumétrico carbonato de sodio, material de referencia secundario para acidimetría, conforme al SRM del NIST Certipur® Reac. Farm. Eur. 1.02405.0080
	Ácido benzoico (NIST)	NaOH	Patrón volumétrico, hidrogenoftalato de potasio, material de referencia secundario para alcalimetría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. Farm. Eur., Reac. USP 1.02400.0080
Argentometría	Cloruro potásico (NIST)	Solución de AgNO ₃	Patrón volumétrico ácido benzoico, material de referencia secundario para alcalimetría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. Farm. Eur., Reac. USP 1.02401.0060
Reductometría	Diclorato de potasio (NIST)	Solución de tiosulfato de sodio	Patrón volumétrico cloruro sódico, material de referencia secundario para argentometría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. Farm. Eur. 1.02406.0080
		Solución de tiosulfato de sodio	Patrón volumétrico dicromato de potasio, material de referencia secundario para valoración rédox, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. USP 1.02403.0100
Oxidometría	Oxalato disódico (NIST)	Solución de permanganato de potasio	Patrón volumétrico sulfato etilenodiamonio hierro (II), material de referencia secundario para valoración rédox, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® 1.02402.0080
		Solución de permanganato de potasio	Patrón volumétrico oxalato di-sodio, material de referencia secundario para valoración rédox, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. USP 1.02407.0060
Complexometría	Cinc (NIST)	EDTA (solución Titriplex III)	Patrón volumétrico cinc, material de referencia secundario para complejometría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. Ph Eur 1.02409.0100
		EDTA (solución Titriplex III)	Patrón volumétrico carbonato de calcio, material de referencia secundario para complejometría, conforme al patrón de referencia (SRM) del NIST Certipur® Reac. USP 1.02410.0100

Técnicas instrumentales

Valoración

Otros posibles factores de error:

Sensor:

- al realizar una valoración con la detección del punto final de pH, hay que tener cuidado respecto a todos los factores mencionados en el capítulo de pH
- En general, hay que tener cuidado con respecto al mantenimiento del electrodo, para que tenga el nivel exigido de sensibilidad y tiempo de respuesta

Temperatura:

- al realizar una valoración con la detección del punto final de pH, hay que tener cuidado respecto a los factores mencionados en el capítulo de pH
- En general, cualquier valoración volumétrica se ve influida por los cambios de la densidad con la temperatura y el consiguiente cambio de concentración (a modo de ejemplo, si en el verano se realiza una determinación del título por la mañana a 22°C y, la temperatura del laboratorio aumenta a 32 °C por la tarde, habrá un cambio significativo del título)

Acondicionamiento de las herramientas y el equipo:

Hay que tener la certeza de utilizar el material de vidrio apropiado y no olvidar el mantenimiento regular

Manipulación de la muestra:

Para estar seguro de que los resultados son fiables, hay que evaluar la secuencia de valoración completa, incluidos el muestreo, la manipulación y el almacenamiento de la muestra, el peso (incluyendo la evaluación de la balanza).



Técnicas instrumentales

Valoración de Karl Fischer

Un tipo especial de valoración es la denominada valoración de Karl Fischer para la determinación del contenido de agua.

El contenido de agua tiene un papel importante en la calidad y la estabilidad de la mayoría de los productos alimenticios. Pero, ¿cómo podemos determinar específicamente el contenido de agua, en todas sus formas, sin ningún otro producto de descomposición? Esto puede hacerse o bien con una instrumentación grande y cara (por ejemplo, GC, NMR, etc.) o bien mediante la valoración KF específica del agua.

La reacción:



Donde el agua y el yodo se consumen en cantidades equimolares en la reacción; esto significa que si se conoce la cantidad de I_2 consumido, se conoce la cantidad de agua que había en la muestra.

El punto final se detecta casi siempre mediante un método bipotenciométrico.

Distinguimos entre el método volumétrico y coulombimétrico.

	Volumetría	Coulombimétrico
Adecuada para muestras con:	Contenido elevado de humedad	Contenido de agua en el intervalo de ppm
Valoración	Bipotenciométrico	Bipotenciométrico
Generación de yodo	Incluido con los reactivos	Generado en un electrodo

Regla general:

Muestras con > del 1 % de agua = método volumétrico

Muestras con < del 1 % de agua = método coulombimétrico

Técnicas instrumentales

Valoración de Karl Fischer

En la mayoría de los casos, la única preparación de la muestra que se precisa es una homogeneización. Puede hacerse utilizando un homogeneizador directamente en un recipiente de valoración.

En general, en la valoración KF hay que tener cuidado con respecto a varias reacciones secundarias con aldehídos y cetonas, pero en las muestras de alimentos la concentración de estos compuestos suele ser muy baja, y no se verá significativamente influido el resultado relativo al contenido de agua.

En la valoración habrá que tener en cuenta algunos aspectos importantes:

- en la muestra puede haber agua en diferentes formas (en la superficie, en el interior de agujeros, en forma de complejos), de forma que hay que estar seguros de saber lo que se mide
- elegir el método adecuado que se ajuste a su contenido de agua
- comprobar si el título sigue siendo correcto
- el pH y la temperatura pueden influir en sus resultados



Apura[®]
For highest standards.

Water determination according to Karl Fischer



Merck Millipore is a division of  MERCK

Técnicas instrumentales

Cromatografía

Cromatografía es un término colectivo para diferentes técnicas que se utilizan para separar mezclas. Un transportador/vehículo, que se denomina fase móvil, lleva la mezcla de muestra a través de una estructura permanente con o sin material químicamente modificado, denominado fase estacionaria. Los diversos constituyentes de la mezcla en la muestra viajan a diferentes velocidades e interaccionan de manera indiferente con la fase estacionaria, lo que hace que se separen. El proceso de separación se basa en la partición diferencial entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Tenemos diferencias en la elección de:

- el portador de la fase estacionaria o material de base
- la composición de la fase móvil
- los parámetros físicos (como la temperatura, la presión, los diferentes tamaños de longitud y el diámetro)

Podemos distinguir entre las técnicas basadas en la fase móvil y las basados en la fase estacionaria.

- Cromatografía de gases (GC): gas + columna
- Cromatografía líquida (LC): líquido + columna
- Cromatografía de capa fina (TLC): líquido + placa

Si se tiene un gran número de muestras con una matriz compleja y se desea utilizar una mínima preparación de la muestra, puede aplicarse la cromatografía de capa fina. Si se está interesado en los compuestos volátiles, la técnica preferida es la cromatografía de gases. Si se desea comprobar contaminantes en baja concentración, una alternativa viable es la cromatografía de líquidos de ultra/alta resolución HPLC/UHPLC ya que proporciona una eficiencia de separación muy elevada y las moléculas de interés eluirán en picos agudos que permiten una detección sensible.

Después de las etapas cromatográficas tiene que haber una herramienta para la detección y la determinación cuantitativa de los compuestos. Diferentes tipos de moléculas y diferentes intervalos de concentración requieren diferentes técnicas de detección.

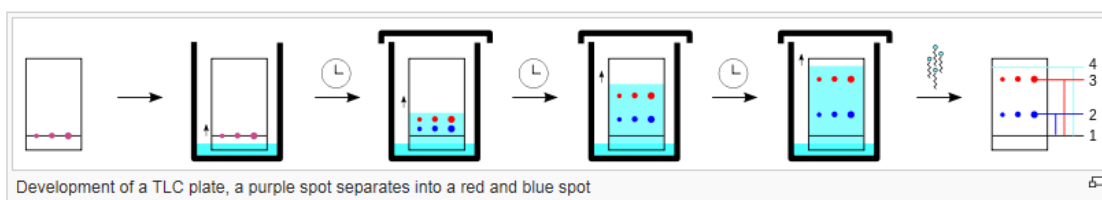
Para seleccionar el modo de detección más apropiado, deben tenerse en consideración cuatro parámetros importantes: la naturaleza química de los analitos, las posibles interferencias, el límite de detección (LdD) y el límite de cuantificación (LdC) requeridos, el intervalo de linealidad, la disponibilidad y el coste del detector.

Técnicas instrumentales

Cromatografía de capa fina (TLC)

La cromatografía de capa fina (TLC) es una técnica en la que los compuestos se separan en una capa fina de material adsorbente, normalmente un recubrimiento de gel de sílice en una placa de vidrio, un papel de aluminio o una lámina de plástico.

La TLC es una técnica directa y extremadamente rentable al permitir la preparación de la muestra y la separación cromatográfica en un paso debido a su elevada tolerancia a la matriz de la muestra.



Se aplica a la placa una pequeña gota de la solución que contiene la muestra. Se vierte una pequeña cantidad de un solvente apropiado (eluyente) en una cámara de separación. La placa de TLC se coloca luego en la cámara de forma que las manchas de la muestra no toquen la superficie del eluyente de la cámara, y se cierra la tapa. El solvente asciende por la placa por capilaridad, se topa encuentra con la mezcla de muestra y la transporta hacia arriba de la placa.

Los compuestos se separan por sus diferentes atracciones por la fase estacionaria y por sus diferentes solubilidades en el solvente. En algunos casos, si se tienen compuestos coloreados, pueden detectarse visualmente los diferentes compuestos en la placa. Las opciones utilizadas con más frecuencia son:

1. la utilización de una solución especial, que da una reacción de color con el analito (como el yodo)
2. luz UV (365 nm para ver algunos compuestos orgánicos fluorescentes o 254 nm utilizando una placa con una capa de adsorbente fluorescente a esa longitud de onda, en la que las manchas del analito extinguen esa fluorescencia) otro item después de la elución de la mancha; puede utilizarse cualquier otra técnica de análisis conocida para identificar el compuesto (como la MS).
3. después de la elución de la mancha; puede utilizarse cualquier otra técnica de análisis conocida para identificar el compuesto (como la MS).

La TCL suele utilizarse como una técnica manual, pero hay diferentes posibilidades para automatizar la aplicación, la detección o la evaluación y la documentación.

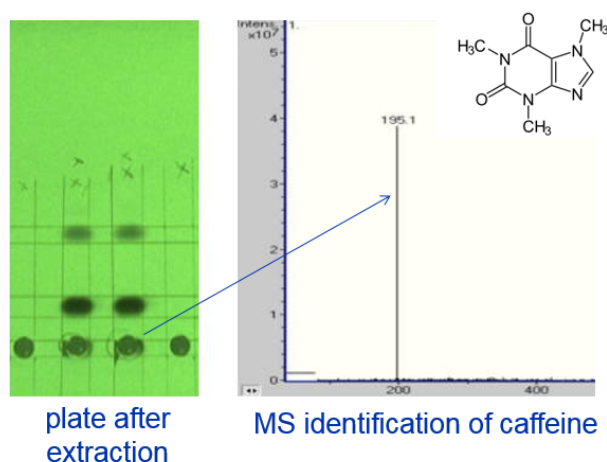
Técnicas instrumentales

Cromatografía de capa fina con detección de masas (TLC-MS)

En los últimos años han aparecido diversas técnicas de acoplamiento para espectrometría de masas con el fin de ampliar el alcance del análisis TLC-MS y permitir la identificación inequívoca de las sustancias.

La técnica más utilizada para el acoplamiento de la TLC a la MS es el muestreo basado en la elución. Es un sistema semi-automático para extraer los analitos de la placa de TLC y transferirlos en línea al espectrómetro de masas. Es adecuado para todos los materiales de capa fina y todos los eluyentes que sean compatibles con LC-MS. La interfaz puede conectarse fácilmente a cualquier clase de espectrómetro de masas acoplado a LC. Por consiguiente, los campos de aplicación son bastante amplios.

Quizá la característica más sólida del acoplamiento basado en la elución es su completa independencia del espectrómetro de masas: en principio, puede utilizarse cualquier sistema de MS. Además, es posible la extracción sin conexión en viales si se requieren más análisis (por ejemplo, con NMR). En el modo TLC-MS en línea, la interfaz se encuentra entre la bomba de HPLC y el sistema MS, y es prácticamente de instalación automática. Puede decirse que dichos sistemas ofrecen las menores barreras de entrada en TLC-MS y que pueden utilizarse con casi cualquier tipo de placa.



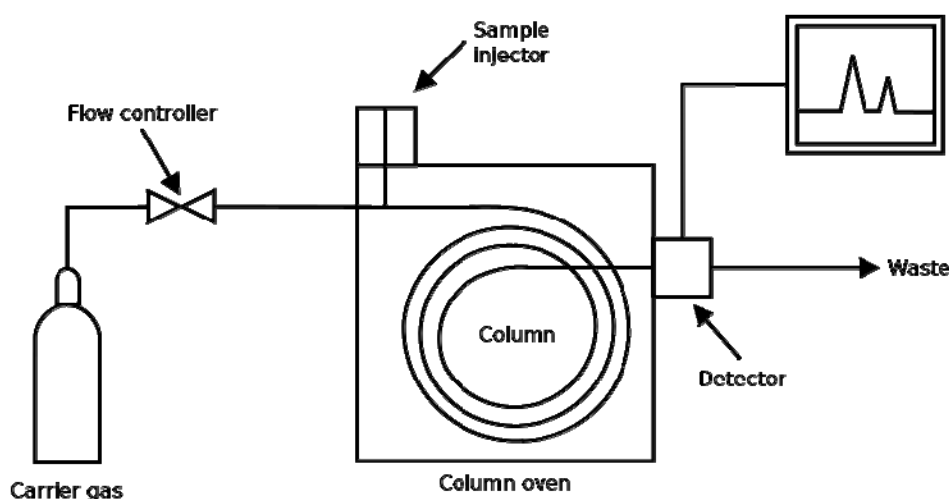
Técnicas instrumentales

Cromatografía de gases (GC)

La cromatografía de gases (GC) es una técnica para la separación de compuestos volátiles, térmicamente estables. Es sencilla, fácil de usar y puede ser altamente automatizada.

En la cromatografía de gases, se utiliza un gas para transportar una mezcla a través de un lecho de material, utilizando como fuerza la presión. Por consiguiente, como parte del sistema, se tiene una fuente de gas (tanque o generador de gas) con reguladores para controlar su flujo. Los gases portadores utilizados con más frecuencia son el helio, hidrógeno y nitrógeno.

También se necesita un horno, un inyector para la entrada de la muestra, la columna y un detector. La inyección tiene que hacerse bajo presión. La fase estacionaria es una columna capilar con diferentes modificaciones de la superficie interna.



Los detectores utilizados más a menudo son el detector de ionización de llama (FID) y el detector de conductividad térmica (TCD).

Los TCD son esencialmente universales y pueden utilizarse para detectar cualquier componente distinto del gas portador (siempre que sus conductividades térmicas sean diferentes de la del gas portador, a la temperatura del detector), los FID son principalmente sensibles a los hidrocarburos.

En los últimos años, cada vez son más comunes los espectrómetros de masas (MS) en conexión con la GC. Son muy eficaces y sensibles, incluso en una cantidad de muestra pequeña.

Técnicas instrumentales

Cromatografía líquida (LC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica de separación en la que se selecciona el modo más adecuado de separación, dependiendo de la solubilidad de la muestra y de cómo los analitos de interés difieren de otros compuestos o matriz de la muestra. En el modo de fase inversa (RP), la fase móvil es polar y la fase estacionaria es no polar. La principal distinción entre analitos es su hidrofobicidad, por lo cual las muestras deben ser solubles en agua o en un solvente orgánico polar.

En la fase normal (NP), la fase móvil es no polar, mientras que la fase estacionaria es más polar, y la principal distinción entre analitos no es su hidrofobicidad, las muestras deben ser solubles en un solvente hidrofóbico como el hexano y la fase móvil es un solvente de débil a moderado para la muestra.

En el modo HILIC, las fases móviles son igual que en la fase inversa, pero con la fuerza de elución opuesta. La principal distinción entre analitos es su hidrofobicidad y la muestra debe ser soluble en un solvente orgánico polar o en mezclas de solventes orgánicos y agua. En el enfoque tradicional para los compuestos polares e hidrofílicos se utilizaba la separación en fase inversa con mecanismo de par iónico y se aplicaba para analitos iónicos o potencialmente iónicos. En esa situación, la fase móvil contiene un tampón, un reactivo de par iónico y un solvente orgánico polar. Los reactivos de par iónico típicos son los sulfonatos de alquilo (ácido heptano sulfónico, ácido octano sulfónico), que se utilizan para las bases, y las aminas cuaternarias (cloruro de tetra-butilamonio), que se utilizan para los ácidos.

Elección de la columna adecuada para HPLC

La resolución cromatográfica se ve afectada principalmente por la selectividad (α). La modificación de la composición de la fase móvil o de la fase estacionaria es la forma más potente de optimizar la selectividad, mientras que el tamaño de partícula, el tamaño de poro, la longitud de la columna, la temperatura y la fuerza de la fase móvil tienen mucho menos efecto. Por consiguiente, si no se obtienen resultados satisfactorios o no se consigue retención, es mejor cambiar a otra selectividad utilizando un tipo diferente de columna o de fase móvil.

La resolución (R_s o R) puede expresarse en función de tres parámetros (k , α y N) que están directamente relacionados con las condiciones experimentales. k es el factor de retención promedio para las dos bandas, N es el número de platos de la columna y α es el factor de separación (o factor de selectividad). Los parámetros k y α se determinan por las condiciones experimentales (composición de la fase móvil, química y temperatura de la fase estacionaria) y N se ve afectado por la longitud de la columna, el tamaño de la partícula y el tamaño del poro.

Técnicas instrumentales

Cromatografía líquida (LC)

Elección del formiato adecuado de columna

Encuentre la mejor configuración de la columna para el mínimo tiempo de análisis, con gran eficiencia y resolución. Agrupe los objetivos del método para asegurarse de que el formiato elegido tiene la capacidad de producir la resolución que se ajusta al propósito de la aplicación, por ejemplo, elija la longitud de la columna, el diámetro interno de la columna, el tamaño de partícula y el tamaño de poro adecuados. Si se necesita una elevada cargabilidad, se recomienda una columna más grande (en longitud y diámetro) ya que puede alojar más masa. Si se trabaja con detectores tradicionales, como UV, RI, FL, etc., las columnas de 4,6 o 3,0 mm de d.i. son adecuadas, pero para MS en general se recomienda una columna de 2 mm de d.i. o menor.

Si hay suficiente resolución, es posible acelerar la separación aumentando el caudal o acortando la longitud de la columna. Los materiales que contienen sílice son físicamente fuertes y no se encogerán ni se hincharán, siendo compatibles con una amplia gama de solventes polares y no polares; siendo por lo tanto, a menudo, la elección inicial. La mayoría de las columnas de sílice son estables entre pH 2 y pH 7,5; históricamente los materiales de relleno poliméricos proporcionaban una mejor estabilidad de la columna a pH extremos. Un material de relleno del tipo polímero es compresible y puede encogerse o hincharse con ciertos solventes. Por tanto, debe tenerse cuidado cuando se utilice una columna polimérica; por otro lado, el límite superior de contrapresión es inferior al de las fases estacionarias de sílice. Las fases que contienen sílice de gran pureza más recientes, como Purospher STAR, son estables en el intervalo de pH 1,5–10,5, con los grupos funcionales de superficie ligados a la partícula de sílice base en múltiples puntos de unión a través de modificación polimérica.

Tamaño de partícula

Tamaños de partículas más pequeños proporcionan una mayor eficiencia de separación y una mayor resolución cromatográfica que los tamaños de partícula mayores. Sin embargo, tamaños de partícula mayores ofrecen caudales más rápidos a menor contrapresión de la columna, y son menos propensos a la obstrucción y, por consiguiente, más tolerantes a los efectos de la matriz. Los tamaños de partícula típicos oscilan entre 3 y 20 μm , pero se disponen de nuevos tamaños de partícula de 2 μm para maximizar la resolución en las columnas Purospher STAR cortas. Un tamaño de partícula de 5 μm representa el mejor compromiso entre eficiencia y contrapresión para la mayoría de las aplicaciones que no requieran gran resolución.

Carga de carbono

Para los materiales de relleno de fase inversa compuestos por sílice, la carga de carbono indica la cantidad de fase ligada funcional unida al material base. Las fases con menores cargas de carbono son más débilmente hidrófobas, lo que puede reducir de manera significativa los tiempos de retención en comparación con las fases con mayores cargas de carbono. Sin embargo, una mayor carga de carbono dará mayor capacidad y a menudo mayor resolución, en especial para compuestos con hidrofobicidad similar. La carga de carbono no es un parámetro importante para las columnas utilizadas en fase normal o en modo HILIC.

Técnicas instrumentales

Cromatografía líquida (LC)

Tamaño de poro

Elija un poro lo suficientemente grande como para encerrar por completo la molécula que se desea analizar. Si la molécula es más grande que el poro, se observarán efectos de exclusión por tamaño y será difícil o imposible retenerla. En general, los materiales de relleno con un tamaño de poro más pequeño tienen superficies y capacidades mayores que los materiales de relleno con tamaños de poro más grandes. Una superficie más grande indica normalmente un número mayor de poros y, por tanto, una mayor capacidad global. Las superficies más pequeñas se equilibran más rápido, lo que es importante para los análisis de elución en gradiente. Los poros más grandes son mejores para la interacción con compuestos grandes, como las proteínas.

Protección

Los materiales de relleno de fase inversa compuesta por sílice tienen grupos silano libres que interaccionarán con los compuestos polares. La protección de la fase ligada reduce al mínimo esas interacciones secundarias. Elija fases protegidas si no quiere interacciones con los compuestos polares. Elija fases no protegidas si se quiere una mayor selectividad polar, para retención más fuerte de los compuestos orgánicos polares.

Selección de la fase móvil – solventes y tampónes

La fuerza del solvente de fase móvil es una medida de su capacidad para eluir analitos de la columna. Generalmente está controlada por la concentración del solvente con la mayor fuerza; por ejemplo, en la HPLC de fase inversa con fases móviles acuosas, el solvente fuerte sería el modificador orgánico; en la fase normal y la HILIC, sería el más polar. Merece la pena destacar que es más fácil trabajar con las fases ciano-ligadas que con las de sílice solo para las separaciones de fase normal. El objetivo es encontrar la concentración correcta del solvente fuerte. Con muchas muestras, habrá una gama de fuerzas de solvente que puedan utilizarse dentro de los límites de capacidad antes mencionados. Otros factores (como el pH) pueden afectar también a la retención global de los analitos.

Detección

Para el análisis de trazas pueden utilizarse detectores de fluorescencia, electroquímicos y de masa. Los detectores UV se utilizan más a menudo ya que se trata de una técnica de detección consistente, barata y versátil. La mayoría de los compuestos absorben luz, en especial a longitudes de onda UV bajas. Es posible utilizar un detector de diodos alineados (DAD) y permitir el control de múltiples longitudes de onda a la vez. El inconveniente es que los detectores UV no son específicos de los analitos y requieren que el analito absorba más luz que la matriz de la muestra a la longitud de onda especificada.

Puede encontrarse más información en el Chrombook.

Técnicas instrumentales

Espectrometría de masas (MS)

La espectrometría de masas se considera hoy como una técnica de detección sistemática establecida. Los detectores de MS pueden acoplarse a diversas técnicas de separación, como la cromatografía de líquidos (LC), la cromatografía de capa fina (TLC) o la cromatografía de gases (GC); la unión con la LC es por lejos la configuración más frecuente. Al contrario que los detectores más sencillos (UV, RI, FL, etc.), la MS genera datos sobre masas moleculares y sobre parámetros estructurales detallados, y por tanto ofrece la posibilidad de discriminar entre los picos que eluyen juntos en el modo de control de iones seleccionados. Esto último reduce el requisito de retención y resolución cromatográficas antes de la detección, aunque siempre es mejor tener picos retenidos y completamente resueltos para evitar los efectos de supresión iónica o de potenciación iónica.

Los analizadores de masas pueden ser cuadrupolo, sector magnético, de tiempo de vuelo, de trampa de iones o resonancia ciclotrónica de iones. Un analizador de masas cuadrupolar consiste en cuatro varillas paralelas a las que se aplican potenciales de CC fijos y de RF alternos. El sistema de HPLC maneja los analitos disueltos a presión ambiente (760 Torr) y libera la muestra al MS, donde se realiza la detección de las muestras gaseosas ionizadas en condiciones de vacío elevado (10^{-5} - 10^{-6} Torr). La transferencia de la solución de analito del LC al MS se lleva a cabo a través de una interfaz. La interfaz convierte paulatinamente la muestra en un aerosol, la ioniza y elimina el solvente. A continuación los iones se enfocan y se hacen pasar a lo largo del centro de los cuadrupolos. Su movimiento dependerá de los campos eléctricos de modo que sólo los iones de una proporción masa a carga (m/z) concreta tendrán una trayectoria estable hasta el detector. La RF se modifica para enfocar iones de diferente m/z en el detector y, por tanto, generar un espectro de masas.

Dependiendo de las propiedades físicas y la masa molecular de las moléculas, se utilizan tipos diferentes de interfaces, que varían unas de otras en cómo ionizan las moléculas y en la presión aplicada durante este proceso. En la actualidad, todas las técnicas de ionización habituales funcionan a presión ambiente: ionización por electro-nebulización (ESO), ionización química a presión atmosférica (APCI), desorción/ionización por láser asistida por matriz (MALDI) y la menos importante fotoionización mediante presión atmosférica (APPI). La ESI y la APCI son con gran diferencia las más utilizadas en el acoplamiento LC-MS. Las técnicas más esotéricas, ionización electrónica (EI) e ionización química (CI), funcionan en condiciones de vacío elevado con la ventaja de ser adecuadas para el acoplamiento GC-MS. Los espectrómetros de masas de cuadrupolo suelen tener dos configuraciones cuando se utilizan con la cromatografía de líquidos, o bien como un sistema de cuadrupolo único simple o bien colocados en tándem. El último principio, el espectrómetro de masas de cuadrupolo triple, permite la realización de estudios de fragmentación iónica (espectrometría de masas en tándem o MS/MS).

Técnicas instrumentales

Espectrometría de masas (MS)

Ionización por electronebulización (ESI)

En el modo ESI, soluciones líquidas de sustancias cargadas o polares, procedentes de un sistema de HPLC, se pulverizan en el MS utilizando un capilar de metal ("aguja de nebulización") y un gas nebulizador (nitrógeno). Las gotitas resultantes se secan (desolvatación) y los iones del analito volatilizado aislado son transferidos al detector. El estrés térmico es muy bajo por lo que las moléculas de analito no se descomponen. La ESI es casi ilimitada en lo que respecta al tamaño de molécula y adecuada para moléculas de polaridad media a fuerte, por ejemplo, aminas, ácidos carboxílicos, compuestos heteroaromáticos y ácidos sulfónicos. La ESI se aplica cuando no se quieren fragmentaciones y tienen que determinarse masas moleculares de biomoléculas. La ESI-MS es idónea para el acoplamiento con LC y, siempre que los caudales no superen el máximo de 1-2 ml/min, la sensibilidad alcanzable es muy elevada. Sin embargo, son más habituales los caudales comprendidos entre 1 y 500 µl/min.

En solución líquida, las moléculas o bien ya están ionizadas o son protonadas o desprotonadas por los aditivos de la solución de la muestra y la fase móvil. Para alcanzar la mayor sensibilidad, las fases móviles utilizadas deben ajustarse a un valor de pH en el que los analitos estén ionizados; una regla general es utilizar un pH de neutro a básico (7 - 9) para los ácidos, mientras que es aconsejable un pH más ácido (3 - 4) para los compuestos básicos. Si los analitos de interés tienen múltiples valores de pKa y pueden cambiar su estado de ionización, otros valores de pH pueden ser más ventajosos tanto en lo que se refiere a la ionización del analito como en lo concerniente al comportamiento de la columna. Por tanto, dependiendo del solvente y los aditivos elegidos, puede utilizarse modo de ESI positivo o negativo. Normalmente el modo positivo se aplica en combinación con las moléculas más básicas, mientras que los compuestos ácidos se analizan en modo negativo. En el modo ESI positivo suele añadirse ácido fórmico al 0,1 % a la fase móvil para bajar el pH (3) y protonar el/los analito(s). En esas condiciones, los analitos ácidos se neutralizarán, por lo que se prefiere el modo ESI negativo y se recomienda un pH más elevado de la fase móvil. Los amortiguadores volátiles como el acetato de amonio o el formiato de amonio se utilizan en el intervalo de pH comprendido entre 4,5 y 7 para desprotonar el/los analito(s); para un pH elevado es posible utilizar carbonato de amonio o hidróxido de amonio (amoníaco acuoso).

Para la ESI negativa y positiva es un requisito previo que todos los solventes y aditivos sean volátiles para evitar la contaminación del espectrómetro de masas y que la fuerza iónica total de la fase móvil sea adecuada (generalmente 2-25 mM) para evitar un tiempo de parada innecesario para la limpieza del detector. Los ácidos fuertes, como el ácido clorhídrico o el ácido nítrico, no son adecuados por dos razones: forman pares iónicos con las moléculas del analito (supresión de la señal del analito) y exhiben fuertes propiedades oxidantes. El ácido trifluoroacético (TFA) es un caso especial: se utiliza mucho como reactivo de par iónico para mejorar la separación de péptidos o proteínas en cromatografía de líquidos. Por otro lado, el TFA puede causar una fuerte supresión iónica en la espectrometría de masas (principalmente en el modo ESI negativo) y también contamina el sistema de LC-MS.

Técnicas instrumentales

Espectrometría de masas (MS)

Por desgracia, no es posible una estimación cuantitativa de esos efectos ni es posible dar recomendaciones generales, ya que su intensidad depende en gran medida del sistema de MS utilizado. La trietilamina como aditivo alternativo se comporta de una manera similar. Si el uso de TFA es inevitable, puede añadirse al eluyente un ácido débil (como el ácido propanoico) o isopropanol para reducir el efecto de supresión de la señal.

Los amortiguadores no sólo ajustan el pH del eluyente e inducen la ionización de la molécula de interés, pueden también formar aductos con el analito. Los aductos $[M + \text{amortiguador}]$, por ejemplo, con amonio, álcali, halógenos, formiato o acetato, inducirán la detección de un pico añadido en el espectro de MS; es posible incluso una supresión completa de la señal del analito cuando disminuye de manera significativa la presión de vapor del aducto resultante (principalmente un álcali). Por esta razón y para mantener limpia la fuente de ESI, se recomiendan tampónes volátiles. Las sales no volátiles, como los fosfatos, los boratos, los sulfatos o los citratos, precipitarán en la fuente de MS, la bloquearán y causarán tediosos procedimientos de limpieza.

Ionización química a presión atmosférica (APCI)

Esta técnica es complementaria a la ESI y también útil para el acoplamiento LC-MS. No requiere una fase móvil con propiedades conductoras por lo cual pueden utilizarse como solventes la acetona o los ésteres del ácido acético y, por tanto, permite el acoplamiento de la APCI con la cromatografía en fase normal. En el modo APCI, la solución de analito se vaporiza antes de la ionización. A continuación, las moléculas del solvente (acuoso-orgánico, por ejemplo, metanol, propanol, acetonitrilo, acetona, etc., combinado con 2 - 20 mM de un tampón orgánico volátil como el ácido fórmico o el ácido acético, el acetato de amonio, el formiato de amonio o la trietilamina) se ionizan con una aguja corona y se transfiere entonces su carga a las moléculas de analito mediante transferencia o abstracción protónica. La APCI es adecuada para el análisis de sustancias débilmente ionizables, menos polares, con peso molecular pequeño o intermedio (analitos sin grupos funcionales ácidos o básicos, por ejemplo, hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres) y, por consiguiente, es complementaria a la ESI siempre que la muestra sea térmicamente estable y vaporizable. Con la APCI se observan generalmente fragmentaciones. La mayor sensibilidad se consigue con el acetonitrilo, el metanol o el agua como solventes, y el grado de ionización del analito puede optimizarse a través del pH del eluyente. Como para la ESI, pueden tolerarse caudales máximos de 1-2 ml/minuto.

Normativa en el análisis de los alimentos

El análisis químico del alimento es un requisito previo para garantizar un correcto etiquetado de los alimentos y proteger a los consumidores contra la adulteración y mal etiquetado del alimento. Por supuesto, todo ello solo puede conseguirse junto con una legislación alimentaria adecuada, mayores controles por las autoridades alimentarias, estudios continuos de los organismos de seguridad de los alimentos y universidades para mejorar el conocimiento sobre (el procesamiento de) los alimentos y una mayor responsabilidad de la industria alimentaria. Esto último está respaldado por sistemas de gestión de la calidad del alimento como el HACCP para evitar y controlar los riesgos químicos, microbiológicos y físicos dentro de la cadena de suministro de alimentos. Esos procedimientos de aseguramiento de la calidad requieren el análisis químico durante toda la cadena de procesamiento de los alimentos, empezando en las materias primas y acabando en el producto alimentario final, etiquetado [1]. Para asegurar que el alimento cumple un cierto nivel mínimo, muy a menudo se aplican normas de calidad obligatorias que definen los ingredientes y lo que el alimento debe contener como mínimo, incluida la composición nutricional [2, 3, 4]. A veces, esas normas incluyen también los procedimientos analíticos que deben utilizarse. Ejemplos de dichas normas de calidad son las normas de identidad de EE.UU. o las normas del Codex Alimentarius [2, 3].

Los datos nutricionales de los alimentos envasados son necesarios para ayudar a los consumidores a elegir el alimento de acuerdo con sus necesidades alimenticias individuales y para reducir las enfermedades relacionadas con la dieta [6, 7, 8, 34]. Por consiguiente, los reglamentos sobre el etiquetado describen con detalle los requisitos de etiquetado nutricional (nutrientes, cantidades y valores calóricos) en los envases de los alimentos [5, 6]. Para asegurar una declaración uniforme de los nutrientes, el fabricante de los alimentos tiene que realizar otros ensayos para nutrientes como azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes de azúcar, grasas y ácidos grasos, proteínas y el sodio, así como para las vitaminas y minerales [5].

Todas estas medidas que se acaban de describir para garantizar la inocuidad de los alimentos proporcionar alimentos saludables y la protección de los consumidores contra la adulteración y el etiquetado que no consigne el contenido real del alimento requieren datos fiables obtenidos mediante análisis químico del alimento. Resultados analíticos fiables son también esenciales para facilitar el comercio internacional de alimentos.

Cláusula de descargo de responsabilidad:

"Merck ofrece información y soporte a nuestros clientes sobre las tecnologías de aplicaciones y temas normativos según nuestro conocimiento y experiencia, pero sin obligación o responsabilidad alguna. Nuestros clientes deben respetar en todos los casos las normativas y leyes vigentes. Esto también aplica a todo derecho de terceros. Nuestra información y asesoramiento no exime a nuestros clientes de su responsabilidad de comprobar la idoneidad de nuestros productos para el propósito contemplado."

Uso de sistemas de gestión de calidad en los laboratorios y acreditación de los laboratorios

La fiabilidad de los datos químicos depende significativamente de cómo se han medido esos datos. La implementación de un sistema de gestión de calidad para los laboratorios es una medida aprobada para garantizar que el equipo técnico y los métodos analíticos son idóneos para el propósito específico y son reproducibles, [9] y que el personal está adecuadamente calificado y experimentado para sus tareas.

Por consiguiente, la acreditación de los laboratorios de acuerdo con un sistema internacional reconocido es una condición previa para la elaboración de datos analíticos fiables y aceptados internacionalmente [9].

La norma más importante para los laboratorios es la norma DIN ISO 17025 internacional "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración," [9, 10] que es también una de las normas más importantes para la globalización mundial del comercio. Aborda la competencia técnica de los laboratorios para llevar a cabo ensayos específicos y es utilizada en todo el mundo por los organismos de acreditación de laboratorios como requisito fundamental [9, 10]. La norma DIN ISO 17025 consta de cinco elementos que son "Objetivo y campo de aplicación", "Referencias de la normativa", "Términos y definiciones", "Requisitos relativos a la gestión" y "Requisitos técnicos" [9]. En la sección de "Requisitos técnicos" se incluyen factores que determinan la corrección y fiabilidad de los ensayos y calibraciones realizadas en el laboratorio, como factores humanos, instalaciones y condiciones ambientales, métodos de ensayo y calibración, validación de los métodos, equipo, trazabilidad de las mediciones, muestreo y manipulación de los ítems de ensayo y de calibración [9].

UE – Reglamento 882/2004 – Consecuencias para la acreditación de los laboratorios de análisis de los alimentos

Dentro de la Unión Europea, los laboratorios oficiales (es decir, los laboratorios que llevan a cabo los análisis de las muestras tomadas durante los controles oficiales por las autoridades alimentarias competentes de cada estado miembro) deben estar acreditados según la norma DIN ISO 17025 según exige el Reglamento 882/2004 de la UE [11]. La acreditación, sin embargo, puede ser para ensayos individuales o para un grupo de ensayos.

Los laboratorios contratados independientes deben estar acreditados según esta norma sólo si los resultados obtenidos por esos laboratorios son datos legalmente defendibles, es decir, que esos datos se utilizan o están pensados para ser utilizados en casos contenciosos entre las autoridades alimentarias competentes y un operador o fabricante de alimentos. Sin embargo, como consecuencia indirecta de este reglamento, el mercado alimentario europeo ya no acepta para el análisis de los alimentos laboratorios contratados que no estén acreditados [10].

Acreditación en los EE.UU. de Norteamérica según exigencia de la ley de modernización de la inocuidad de los alimentos

En 2011, se promulgó la Ley estadounidense de modernización de la inocuidad de los alimentos [Food Safety Modernization Act (FSMA)]. Es un enorme programa de reformas para mejorar la seguridad alimentaria y para evitar la adulteración intencional y no intencional de los alimentos dentro de toda la cadena de suministro, incluidos también los laboratorios de análisis de los alimentos. La FSMA se divide en cuatro partes principales. La parte 2 de la FSMA ("Mejorar la capacidad para detectar problemas de seguridad alimentaria") aborda la detección de problemas de seguridad alimentaria a lo largo de toda la cadena de suministro de alimentos. En la Sección 202 se incluyen reglas para asegurar que los laboratorios de análisis de alimentos (que abarcan los laboratorios privados independientes, los laboratorios extranjeros y los laboratorios dependientes de los organismos gubernativos federales, estatales y locales) cumplen las normas de calidad prescritas.

La FDA debe establecer criterios para la acreditación de los laboratorios y elaborar normas que los laboratorios deben cumplir para estar acreditados. La FDA incumplió el plazo legal de 2013, pero funcionarios de la FDA han indicado que un grupo de trabajo está elaborando un anteproyecto de propuesta y que a principios de 2016 debe publicarse una propuesta de norma.

Como consecuencia, la FDA debe establecer organismos de acreditación para la acreditación de los laboratorios [12]. La FDA también elaborará un registro público de organismos de acreditación [12]. Según la Sección 202 de la FSMA, las normas de la FDA que deben cumplir los laboratorios acreditados incluirán, entre otras cosas, que

- se están utilizando las técnicas de muestreo apropiadas,
- los procedimientos analíticos son los idóneos para la finalidad prevista,
- deben certificarse los informes de los análisis,
- debe establecerse y mantenerse un sistema de calidad interno,
- deben existir procedimientos de evaluación y de respuesta de las reclamaciones, y
- los técnicos estén calificados mediante formación y experiencia.

Estos requisitos corresponden más o menos a las exigencias descritas en la norma DIN ISO 17025 para la acreditación de los laboratorios y, por consiguiente, son ya bastante habituales en muchos laboratorios de todo el mundo. Se prevé que los fabricantes u operadores alimentarios deban utilizar los laboratorios acreditados por la FDA como mínimo para

- cualquier requisito analítico legal o normativo específico cuando aborden un problema de salubridad de los alimentos identificado o sospechado;
- cualquier análisis exigido por la FDA para abordar un problema de salubridad de los alimentos identificado o sospechado;
- cualquier análisis para respaldar la admisión de un alimento importado, y
- cualquier análisis de una alerta de importación que requiera pruebas consecutivos satisfactorias.

Un requisito clave de la sección 202 es que los laboratorios acreditados deben proporcionar los resultados de esos análisis directamente a la FDA [12]. Las razones para este requisito pueden ser que, debido a las otras provisiones de la FSMA, el número de muestras de alimentos necesarias aumentarán de forma significativa. Por otro lado, la FDA no tiene los recursos necesarios para afrontar un aumento súbito de muestras alimentarias para analizar. Por consiguiente, la FDA hace que el fabricante u operador de los alimentos sea el responsable de conseguir que las muestras sean analizadas y "externalizadas" a terceras partes, como laboratorios de análisis contratados [14].

El uso de métodos oficiales en el análisis de los alimentos

En el análisis de los alimentos, es especialmente la complejidad de la matriz alimentaria la que tiene el mayor impacto en el rendimiento y la fiabilidad de los métodos y los procedimientos analíticos utilizados [5]. La matriz alimentaria consta fundamentalmente de compuestos químicos, como proteínas, carbohidratos y lípidos, que afectan de manera significativa al rendimiento de los métodos analíticos. Por ejemplo, los alimentos ricos en grasas o en azúcares pueden causar diferentes tipos de interferencias en comparación con los alimentos pobres en grasas o azúcares [5]. No obstante, la aplicación de etapas de extracción y de procedimientos de digestión, siendo una condición previa para conseguir resultados analíticos exactos, a menudo no sólo ocupa mucho tiempo, sino que a veces también acarrea el riesgo de formación de artefactos [15]. Por consiguiente, en los métodos analíticos para el análisis de alimentos hay que tener siempre en cuenta las características y la composición de la matriz específica del alimento.

Diversas organizaciones (científicas) sin ánimo de lucro, como la Asociación de las Comunidades Analíticas (AOAC), elaboran, normalizan y aprueban métodos oficiales para el análisis de alimentos. Dichos métodos oficiales desempeñan un papel importante en el análisis de los productos alimenticios, para asegurar que el alimento cumple los requisitos legales. Como consecuencia, hay ejemplos en las provisiones legales estadounidenses que exigen el uso de un método analítico específico [16]. Además, dichos métodos oficiales permiten la comparabilidad de resultados entre diferentes laboratorios que siguen el mismo procedimiento y la evaluación de los resultados obtenidos utilizando procedimientos nuevos y más rápidos [5].

Métodos oficiales de la OMS y la FAO, y Codex Alimentarius

La Comisión del Codex Alimentarius, establecida en 1962 por la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), elabora normas internacionales y práctica de seguridad para los alimentos y los productos agrícolas (el denominado Codex Alimentarius).

El Codex Alimentarius incluye requisitos generales, códigos de prácticas y normas [17].

Las normas del Codex para productos incluyen métodos para el análisis del producto correspondiente. El volumen 13 del Codex incluye una lista de métodos oficiales para el análisis y muestreo. Los métodos se clasifican en función del producto específico para el que pueden aplicarse (por ejemplo, cereales, grasas y aceites, leches artificiales para alimentación infantil, etc.). Hay también algunos métodos que pueden utilizarse para todo tipo de alimentos, lo que está ejemplificado por el método para la detección y cuantificación del edulcorante Ciclamato [18].

El Codex recomienda el uso de los métodos indicados en aplicación de la DIN ISO 17025 [18].

Los métodos del Codex son elaborados por organizaciones internacionales que se ocupan de un alimento o un grupo de alimentos y son seleccionadas por la Comisión del Codex para realizar los análisis [19]. Dentro de esta selección se da preferencia a los métodos analíticos que cumplen los criterios de la Comisión del Codex para el análisis de la exactitud, precisión, selectividad, límite de detección, sensibilidad, etc. En la selección de los métodos se tiene también en cuenta la practicabilidad y aplicabilidad en las condiciones normales de laboratorio. Por consiguiente, también se dará preferencia a los métodos que tengan aplicabilidad para el uso sistemático y que sean uniformemente aplicables a varios grupos de productos. [19]. Debe mencionarse que la mayoría de los métodos analíticos citados en las normas del Codex son las de la AOAC [22]. Esto se debe al hecho que la AOAC ha tenido el estatus de observador oficial en el Codex Alimentarios desde su fundación y que ha colaborado con sugerencias en la elaboración de las normas del Codex [22].

El Comité mixto de expertos FAO/OMS en aditivos alimentarios (JECFA) establece las normas para la pureza de los aditivos alimentarios. Proporciona un compendio de especificaciones sobre aditivos alimentarios compuesto por cuatro volúmenes [20]. Los tres primeros volúmenes contienen las especificaciones de los aditivos alimentarios en orden alfabético mientras que el último volumen incluye los métodos analíticos revisados y actualizados, procedimientos de ensayo y soluciones de laboratorio utilizadas por, y mencionadas en, las especificaciones. Las especificaciones del JECFA incluyen orientación sobre los métodos analíticos que deben utilizarse para los análisis de acuerdo con la especificación del JECFA. Siempre que es posible, se hace referencia al cuarto volumen del compendio, que incluye los métodos analíticos revisados y actualizados [20]. De lo contrario, se describen los detalles de los procedimientos analíticos en las monografías de cada especificación.

Como las especificaciones del JECFA se han elaborado para un uso mundial, los métodos de referencia requieren el uso de aparatos y equipo que estén disponibles en la mayoría de los laboratorios [20]. Según el JECFA, métodos que implican técnicas o equipos de desarrollo más reciente normalmente no se citan hasta que tales técnicas sean aceptados a nivel internacional y estén generalmente disponibles a un costo razonable. Teniendo en cuenta los avances en química analítica, el JECFA revisa de vez en cuando los métodos analíticos. En principio, es posible desviarse de los métodos del JECFA siempre que el uso del otro método o la modificación de un método JECFA dé resultados de precisión y especificidad equivalentes a los mencionados en la especificación del JECFA respectiva [20].

Métodos oficiales para el análisis de los alimentos en los EE.UU.

La FDA ha establecido definiciones y normas alimentarias que están publicadas en el título 21, secciones 100-169 del CFR (Código de Reglamentos Federales) [2, 21], entre las normas de identidad y calidad. Las normas de identidad se han especificado para una amplia variedad de productos alimenticios, estableciendo de manera específica los ingredientes que un alimento debe contener en concentraciones mínimas para los ingredientes caros, así como las concentraciones máximas para los ingredientes baratos (como el agua). Esas normas especifican fundamentalmente métodos analíticos oficiales que deben utilizarse para los análisis. Esos métodos han sido elaborados por organizaciones científicas internacionales como la AOAC o por organizaciones norteamericanas como la AACC (American Association of Cereal Chemists/Asociación Americana de Químicos de Cereales) o la AOCS (American Oil Chemists Society/Sociedad Americana de Químicos de Aceites).

El compendio de métodos oficiales de análisis de la AOAC Internacional contiene más de 3.000 métodos adoptados por la AOAC apropiados para una amplia variedad de productos alimenticios y otros materiales [2, 22]. El título 21, sección 2.19 del CFR define los métodos de la AOAC como "métodos oficiales" que serán utilizados por la FDA en caso de que no haya método analítico descrito en la normativa [22, 23]. Por consiguiente, la FDA y el Servicio de Inspección y Seguridad Alimentarias (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de Norteamérica (USDA) están utilizando los métodos de la AOAC para comprobar si el alimento cumple los requisitos legales específicos, como la información nutricional aparecida en la etiqueta de los alimentos, la presencia o ausencia de residuos no deseados o las concentraciones de los residuos [21]. La AOAC revisa, selecciona y también desarrolla métodos. Una vez que la AOAC ha seleccionado un método, se somete el método a validación en un laboratorio y a un completo estudio colaborativo en el que intervienen de 8 a 10 laboratorios [22]. Después de completado satisfactoriamente el estudio y de su aprobación por el AOAC Official Methods Board, junta de Métodos Oficiales de la AOAC en el compendio y la revista de la AOAC [22].

El codex de sustancias químicas de los alimentos (FCC) es un compendio que contiene normas para la identificación y pureza de aditivos y compuestos químicos alimentarios conocidos (incluida la provisión de los métodos analíticos respectivos) utilizados en los productos alimentarios en los Estados Unidos o internacionalmente. Las normas del FCC se han elaborado en cooperación con la FDA y la industria de los Estados Unidos y otros lugares, pero el FCC no proporciona información sobre el estado normativo de los aditivos y compuestos químicos de un alimento [24]. Sin embargo, algunos países distintos de los EE.UU. (Australia, Canadá, Nueva Zelanda) reconocen las normas del FCC como requisitos legales para los aditivos alimentarios [24]. Las monografías del FCC contienen información general sobre el uso del aditivo alimentario concreto, datos químicos, normas mínimas para identidad, pureza y calidad del aditivo alimentario y métodos analíticos validados para verificar la pureza y la calidad del aditivo alimentario citado.

Métodos oficiales para el análisis de los alimentos en la UE

Los métodos oficiales existentes dentro de la UE pueden encontrarse, por ejemplo, en la recopilación oficial alemana de los métodos de análisis de los alimentos de acuerdo con el artículo 64 de la Ley alemana de alimentos y piensos (la denominada Recopilación oficial de métodos conforme al artículo 64 del código LFGB), que incluye más de 1.300 procedimientos analíticos para el análisis de alimentos [25, 26]. Expertos en control de los alimentos, científicos y la industria alimentaria desarrollan procedimientos analíticos y evalúan el rendimiento, la fiabilidad y la comparabilidad de dichos métodos. Ellos deciden para qué campo de aplicación los métodos se van a utilizar. Antes de incluir un método en la Recopilación oficial, los métodos se analizan estadísticamente en una serie de laboratorios mediante una comparación entre los laboratorios y se normalizan [26].

En Alemania, puede aplicarse la Recopilación oficial de métodos según el artículo 64 del LFGB sin más justificación [25, 26]. Sin embargo, si un laboratorio quiere utilizar un método diferente, sí debe justificar el cambio.

En la legislación de la UE, a menudo se especifican los métodos oficiales en el caso de normativas específicas de producto para asegurar que puede mantenerse un cierto nivel de calidad alimentaria. Un ejemplo es el "Reglamento 2548/91 sobre las características del aceite de oliva y el aceite de orujo de oliva y sobre los métodos de análisis pertinentes" que contienen una serie de métodos oficiales [27].

En la legislación alimentaria de la UE, sin embargo, el enfoque tradicional del análisis de los alimentos que prevé el uso de dichos métodos oficiales o sistemáticos está siendo sustituido cada vez más por el denominado enfoque de criterios de rendimiento.

El enfoque del criterio de rendimiento dentro de la UE

Como consecuencia de los avances en química analítica, el concepto de métodos sistemáticos y métodos de referencia está siendo sustituido cada vez más por el denominado enfoque de criterios de rendimiento, en el cual se establecen criterios de rendimiento para el método y los procedimientos analíticos de validación de los métodos de detección sistemática y confirmatorios [11, 28].

Este cambio de paradigma se considera en el Reglamento 882/2004 de la UE [28]. Este reglamento describe los requisitos principales de muestreo y métodos analíticos que se llevan a cabo en los laboratorios oficiales de los estados miembros de la UE. Los laboratorios implicados en los análisis de las muestras oficiales deben trabajar de acuerdo con los procedimientos internacionalmente aprobados (DIN, CEN, ISO, IUPAC, Codex Alimentarius) o con normas de rendimiento basadas en criterios y utilizar métodos de análisis que hayan sido validados de acuerdo, por ejemplo, con las Directrices armonizadas de la IUPAC [11].

Esto se ha reflejado ya en los reglamentos 401/2006 [29], 333/2007 [30], 1882/2006 [31] de la UE para los métodos analíticos y de muestreo de contaminantes como nitratos, metales pesados, benzo(a)pireno y 3-MCPD. Si bien esos reglamentos describen con detalle los procedimientos de muestreo (requisitos del personal, número de muestras por lote, precauciones que deben tomarse, etc.), no incluyen una recomendación (importante) para los métodos analíticos. Sin embargo, se definen requisitos específicos de los criterios de rendimiento, como precisión, tasa de recuperación, incertidumbre de la medición, etc., que deben cumplir los métodos analíticos validados utilizados. También se incluyen requisitos relativos al sistema de gestión de calidad del laboratorio que debe aplicarse.

Para los residuos farmacológicamente activos de las medicinas veterinarias autorizadas y no autorizadas, por ejemplo, ciertos antibióticos (como el cloranfenicol) o sustancias con efecto anabolizante (como el clenbuterol), el laboratorio respectivo puede seleccionar los métodos analíticos, pero también deben ser validados y deben cumplir los criterios de rendimiento como se indica en la Decisión 2002/657 de la UE [32, 33]. El propio laboratorio debe cumplir las normas de calidad exigidas en el Reglamento 882/2004 de la UE. Sin embargo, los laboratorios nacionales de referencia desarrollan y validan métodos analíticos adecuados que pueden utilizarse para el análisis de restos de medicamentos veterinarios en el alimento como se describe en la legislación correspondiente de la UE [33].

Las medidas que se acaban de describir tienen como objetivo asegurar la fiabilidad de los resultados analíticos para los análisis de los alimentos. En la siguiente compilación, se describirán aplicaciones analíticas para el análisis de los alimentos que pueden contribuir a la fiabilidad de los datos analíticos simplificando los procedimientos de preparación de las muestras.

Referencia y vínculos útiles

La legislación alimentaria es una legislación muy dinámica. Por consiguiente, los reglamentos sobre los alimentos cambian, o son modificados, a menudo. Los vínculos aportados a la legislación alimentaria puede que no proporcionen en todos los casos la versión más actualizada del reglamento. La legislación más actualizada se encontrará en las páginas Web de los gobiernos respectivos.

- [1] "Reglamento (CE) no 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo relativo a la higiene de los productos alimenticios", Diario Oficial de la Unión Europea L 139 de 30 de abril de 2004 y enmiendas posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0852:EN:NOT>
- [2] "United States Government Regulations and Standards", Nielsen, S.S. in "Food Analysis", Springer US, USA, 4th Edition, 2010, 15-33.
- [3] Normas del Codex Alimentarius, www.codexalimentarius.org
- [4] [Deutsches Lebensmittelbuch](#),
- [5] "Introduction to food analysis" Nielsen, S.S. in: "Food Analysis, Springer US, USA, 4th Edition, 2010, 5-13.
- [6] "Reglamento (UE) N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la información alimentaria facilitada al consumidor", Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L304/18, 2011.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:EN:PDF>
- [7] "Obesidad y sobrepeso". Nota descriptiva N° 311, Organización Mundial de la Salud, 2011
- [8] "Diabetes", Nota descriptiva N° 312, Organización Mundial de la Salud, 2011.
- [9] Accreditation – ISO/IEC 17025, Kaus, R. in „Quality Assurance in Analytical Chemistry“, Springer-Verlag, Germany 2010.
- [10] „Akkreditierung von amtlichen und nichtamtlichen Prüflaboratorien im Bereich Lebensmittel und Futtermittel“, Kirchhoff, E., in „Handbuch für Lebensmittelchemiker und –Technologen“, Springer, Germany, 3rd Edition, 2010, 225-251.
- [11] "Reglamento (CE) N° 882/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales", Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L165/1, 2004, y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32004R0882:EN:NOT>
- [12] "FDA Food Safety Modernization Act", 21 USC 2201, Dec 2015.
Online: <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/PLAW-111publ353/pdf/PLAW-111publ353.pdf>
- [14] "FSMA and labs", Paez, V., Food Quality Magazine, Dec/Jan. 2012, USA, Wiley Periodicals, retrieved from <http://www.foodquality.com/view/0/issueArchiveList.html>
- [15] "Quantitative determination of beta-carotene stereoisomers in carrot juices and vitamin supplemented (ATBC) drinks" Marx, M. et al. Food Chemistry, 70, 2000, 403-408.
"United States Government Regulations and Standards", Nielsen, S.S. in "Food Analysis, Springer US, USA, 4th Edition, 2010, 15-33.
- [16] Normas de identidad
- [17] „Qué es el Codex, Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO, Roma, 3ª edición, 2006.
- [18] "Métodos recomendados de muestreo y análisis, parte A y B", Codex Standard 234-1999, Codex Alimentarius, Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO, Roma, 2011.
- [19] "Manual de procedimiento", Comisión del Codex Alimentarius, Secretaría del Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias Programa, FAO, Roma, 20 edición, 2011.
- [20] "Compendio combinado de especificaciones para aditivos alimentarios", Comité mixto de expertos FAO/OMS en aditivos alimentarios, FAO, Roma 2006.
- [21] ""Food labelling", Curtis P. and Dunlap, W. in "Guide to food laws and regulations" Blackwell Publishing, USA, 2005, 85-111.
- [22] Página de inicio de AOAC Internacional, <http://www.aoac.org/>
- [23] Code of Federal Regulations (CFR), <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm>

- [24] Food Chemicals Codex, United States Pharmacopeia, 8th edition, 2013.
- [25] § 64 Lebensmittel und Futtermittelgesetzbuch, Bundesgesetzblatt I, 1770.2012 and subsequent updates.
<http://www.gesetze-im-internet.de/lfgb/>
- [26] "Recopilación oficial de métodos de análisis", German Federal Office of Consumer Protection and Food Safety, 2013.
http://www.bvl.bund.de/EN/09_Laboratories/01_Tasks/04_official_collection_methods_analysis/official_collection_methods_analysis_node.html
- [27] Reglamento (CEE) 2548/91 del 11 de julio de 1991 sobre las características del aceite de oliva y el aceite de orujo de oliva y sobre los métodos de análisis pertinentes", Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L 248, 1991 y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991R2568:20081001:EN:PDF>
- [28] „und –Technologen“, Springer, Germany, 3rd Edition, 2010, 1–29.
- [29] Reglamento (CEEU, EG Rechtsordnung und Lebensmittelkontrolle", Gallhof, G. and Rimkus, G.G. in „Handbuch für Lebensmittelchemiker) N° 401/2006 del 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios, Diario Oficial de Las Comunidades Europeas, L70/12, 2006 y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:070:0012:0034:EN:PDF>
- [30] Reglamento (CE) N° 333/2007 de 28 de marzo de 2007 por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios, Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L88/29, 2007 y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:088:0029:0038:EN:PDF>
- [31] Reglamento (CE) N° 1882/2006 de 19 de diciembre de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de nitratos en ciertos productos alimenticios, Diario Oficial de las Comunidades Europeas L364/25, 2006 y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:32006R1882:en:NOT>
- [32] Decisión de la Comisión, de 12 de agosto de 2002, por la que se aplica la Directiva 96/23/CE del Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados, Diario Oficial de las Comunidades Europeas L221/8, 2002.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:221:0008:0036:EN:PDF>
- [33] Directiva 96/23/CE del Consejo, de 29 de abril de 1996, relativa a las medidas de control aplicables respecto de determinadas sustancias y sus residuos en los animales vivos y sus productos, Diario Oficial L 125, 1996 y actualizaciones posteriores.
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CELEX:31996L0023:EN:NOT>
- [34] Reglamento (CE) N° 1924/2006 del parlamento europeo y del consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y propiedades saludables en los alimentos
<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A02006R1924-20121129>

Unión Europea:

Eurlex:

<http://eur-lex.europa.eu>

Esta página Web le permite buscar en el Diario Oficial de la UE y tener acceso al texto de los reglamentos (también accesibles como versiones consolidadas)

Comisión Europea:

http://ec.europa.eu/food/food/index_en.htm

Agencia europea de seguridad alimentaria

http://ec.europa.eu/food/efsa_en.htm

EE.UU.:

Página principal FDA (Alimento)

<http://www.fda.gov/Food/default.htm>

Página principal del US-DA. El US-DA es responsable de la seguridad de los alimentos procedentes de la agricultura.

http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome?navid=FOOD_SAFETY

Fabricado por Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Alemania
www.merckmillipore.com/food-analysis

Distribuido por EMD Millipore Corporation, 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, EE.UU.

