

ESTUDIO COMPARATIVO DEL ANÁLISIS DE AZÚCARES EN MUESTRAS DE CONSUMO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS CON DETECCIÓN POR ÍNDICE DE REFRACCIÓN Y CROMATOGRAFÍA IÓNICA CON DETECCIÓN POR AMPEROMETRÍA DE PULSOS

Estefanía Valencia Vera⁽¹⁾, Lidia Fernández Paredes⁽¹⁾, Ignacio García Lombardero⁽¹⁾, Ana María Rodríguez Rubio⁽¹⁾, Inés Sastre Marcos⁽¹⁾, Pilar Morillo Gómez⁽¹⁾

⁽¹⁾ Centro de Investigación y Control de la Calidad (Ministerio de Consumo)
Avda. Cantabria, 52.28042 MADRID
⁽¹⁾ evalenciav@consumo.gob.es

RESUMEN:

La Organización Mundial de la Salud recomienda limitar la ingesta de azúcares libres o añadidos de la dieta y los consumidores están cada vez más sensibilizados en reducir el consumo de azúcares de su alimentación. La legislación europea regula algunas declaraciones nutricionales como la alegación "sin azúcares". Con el fin de proteger a los consumidores, es importante desarrollar métodos analíticos que cuantifiquen los azúcares presentes en los alimentos. El objetivo del presente estudio es comparar dos métodos para la determinación de fructosa, glucosa y sacarosa mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) acoplada a un detector de índice de refracción y cromatografía iónica asociada a un detector amperométrico de pulsos.

1. INTRODUCCIÓN

Los consumidores cada vez están más sensibilizados en reducir el consumo de azúcares de su alimentación [1]. El Reglamento (CE) N° 1924/2006 regula alegaciones como "sin azúcares" en los alimentos, es decir, se permite un máximo de 0,5 g de mono o disacáridos por cada 100 g o 100 ml [2]. Existen otras declaraciones nutricionales no recogidas en el Reglamento, como la alegación "sin lactosa" para aquellos que acrediten ausencia de lactosa (inferior al 0,01%) [3].

En el Centro de Investigación y Control de la Calidad (CICC) se analizan los azúcares mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia (HPLC), con detector de índice de refracción y mediante Cromatografía Iónica (CI) con detector amperométrico de pulsos.

El objetivo del presente estudio es comparar ambos métodos y determinar la compatibilidad de los resultados obtenidos.

2. DESARROLLO/DESCRIPCIÓN

La **Tabla 1** resume las características de ambos métodos.

	HPLC con DETECTOR de ÍNDICE DE REFRACCIÓN	CI con DETECTOR AMPEROMÉTRICO de PULSOS
Cromatógrafo	HPLC (Agilent 1100 Series)	Cromatografía iónica (Metrohm 945 Professional)
L. Cuantificación	0,05%	0,0001%
Dilución	1/1; 1/10; 1/20; 1/50	1/2, 1/100, 1/2500, 1/5000
Procesamiento	Dilución, filtrado	Pesado, dilución, centrifugación y filtrado
Columna	Lichrosorb-NH ₂ 5 µm; 250 mm x 4 mm	Metrosep Carb 2; 150 mm x 4 mm
Fase móvil	Acetonitrilo: Agua (80:20)	Solución NaOH 0,3 M
Detector	Índice de Refracción	Detector amperométrico de pulsos

La comparación de ambos métodos se realiza mediante los gráficos de Bland-Altman y el cálculo del índice de compatibilidad ($IC_{95\%}$) (Ecuación 1).

$$IC_{95\%} = \frac{|X - Y|}{\sqrt{u_x^2 + u_y^2}} \leq 2$$

Ecuación 1. Ecuación para el cálculo IC.

X: Media de los resultados obtenidos por HPLC con detector de IR
Y: Media de los resultados obtenidos por CI con detector amperométrico de pulsos
 u_x : incertidumbre del método X
 u_y : incertidumbre del método Y

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los dos métodos proporcionan resultados similares al presentar índices de compatibilidad inferior a dos en más del 90% de las comparaciones. La compatibilidad es mayor en el caso de la sacarosa (100,00%) en comparación con los resultados obtenidos para la glucosa (96,15%) y fructosa (92,31%). Estas diferencias pueden deberse a que las muestras estudiadas tienen más concentración de sacarosa que del resto de azúcares.

En los gráficos de Bland-Altman de estos azúcares (Figuras 2-4), se observa que un porcentaje elevado de los resultados son compatibles, ya que el 92,31%, 93,65%, 93,75% de los datos se encuentran dentro del intervalo de aceptación de fructosa, glucosa y sacarosa respectivamente. Los resultados obtenidos por cromatografía iónica son ligeramente superiores a los aportados por índice de refracción para los tres azúcares. Esto se puede deber a las diferentes sensibilidades de los equipos y a las distintas diluciones realizadas en los dos métodos.

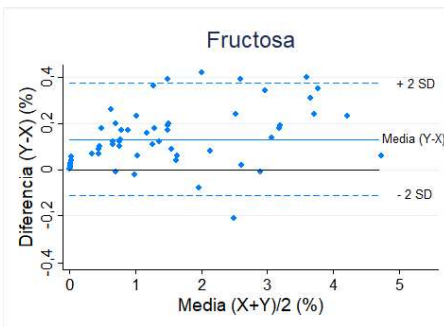


Figura 2. Comparación de los métodos de determinación de fructosa mediante gráfico de Bland-Altman. A concentraciones más bajas, las diferencias son más pequeñas, y por tanto, ambos métodos son más similares.

Y= Resultados obtenidos por cromatografía iónica. X= Resultados obtenidos por cromatografía de líquidos con detector de índice de refracción.

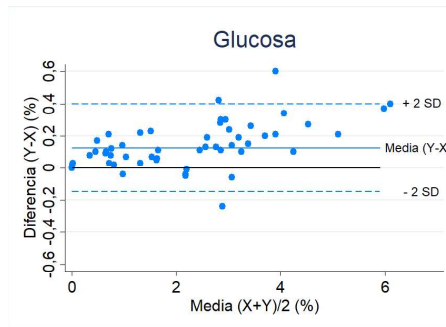


Figura 3. Comparación de los métodos de determinación de glucosa mediante gráfico de Bland-Altman. Se observa que las diferencias son proporcionales a la concentración, pues al aumentar la concentración, se incrementa la diferencia entre ambos métodos.

Y= Resultados obtenidos por cromatografía iónica. X= Resultados obtenidos por cromatografía de líquidos con detector de índice de refracción.

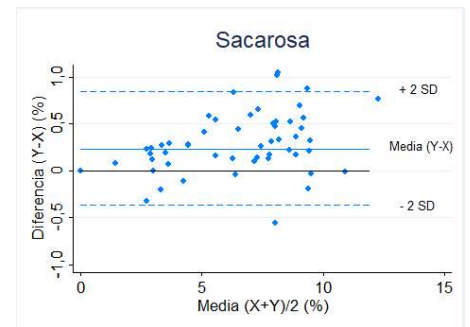


Figura 4. Comparación de los métodos de determinación de sacarosa mediante gráfico de Bland-Altman. Se observa una gran dispersión de los puntos alrededor de la media de la diferencia y una tendencia a proporcionar diferencias mayores a concentraciones superiores.

Y= Resultados obtenidos por cromatografía iónica. X= Resultados obtenidos por cromatografía de líquidos con detector de índice de refracción.

4. CONCLUSIONES

- Ambos métodos son complementarios y proporcionan resultados comparables en el rango de trabajo estudiado.
- El método basado en cromatografía iónica acoplada a detector amperométrico de pulsos tiende a proporcionar resultados de fructosa, glucosa y sacarosa ligeramente superiores a los del método basado en cromatografía de líquidos de alta resolución con detector de índice de refracción.
- El método basado en el detector amperométrico permite disminuir el límite de cuantificación, por lo que se recomienda para analizar alimentos con bajo contenido en azúcares.

5. REFERENCIAS

[1] Organización Mundial de la Salud. (2015) *Directriz: Ingesta de azúcares para adultos y niños*. https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154587/WHO_NMH_NHD_15_2_spa.pdf

[2] Reglamento (CE) N° 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos.

[3] Agencia española de seguridad alimentaria y nutrición. *Condiciones de empleo de las menciones "sin lactosa" y "bajo contenido en lactosa"* (26 de julio de 2019). https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/interpretaciones/nutricionales/sin_lactosa.pdf.