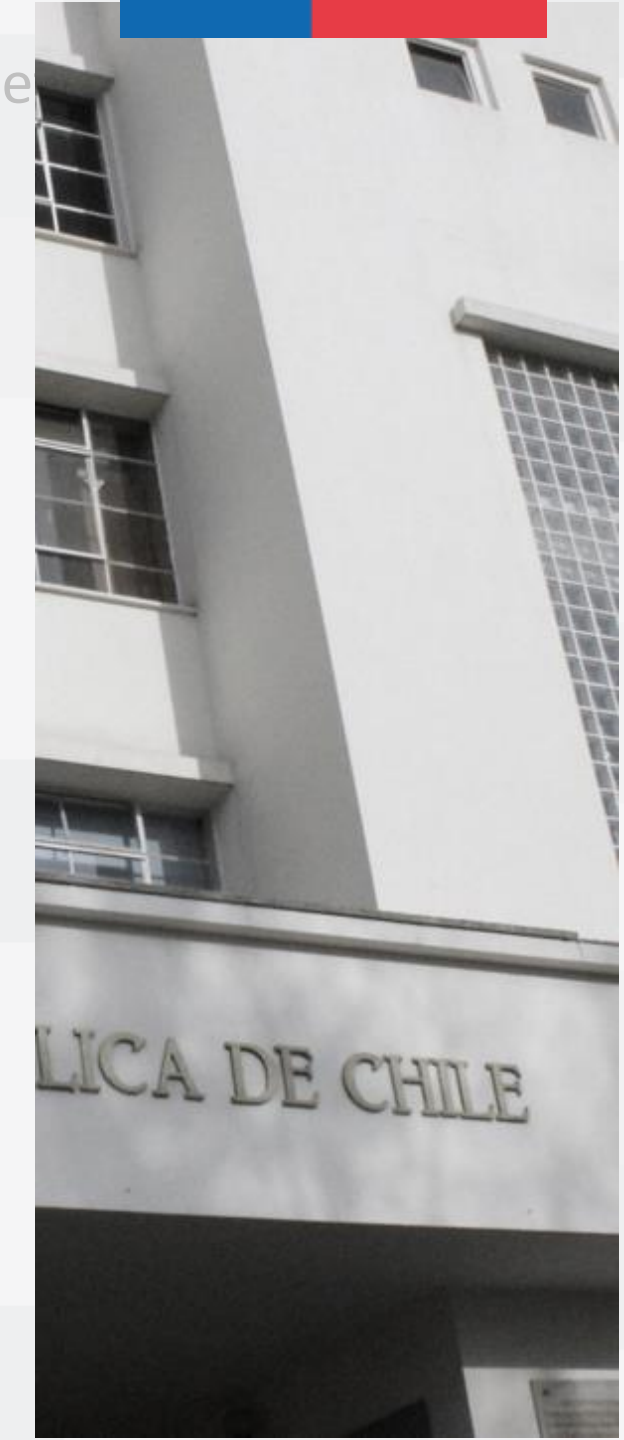
Instituto de Salud Pública
Ministerio de Salud
Gobierno de Chile

DEPARTAMENTO SALUD AMBIENTAL

Métodos aplicados análisis Ley 20606 Etiquetado Nutricional

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE
SUBDEPARTAMENTO ALIMENTOS Y NUTRICIÓN
ING. EMILIA RAYMOND G.
ABRIL 2016

Imagen Re



INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

Es la institución de Referencia Nacional encargada de la Normalización, Fiscalización, Vigilancia y Calidad de los laboratorios de salud pública, clínicos, ambientales, medicamentos, alimentos y demás productos sujetos a control sanitario.

El ISPCH es el laboratorio Nacional de Referencia del Ministerio de Salud

El ministerio de Economía, Fomento y Turismo a través del Decreto N° 116 (04-10-2012) Nombra Laboratorio Designado en el ámbito de microbiología y Química de alimentos.

El ISP , a través del Departamento Salud Ambiental integra la red Nacional de Metrología, la cual es coordinada por el INN

Las entidades de Referencia asociadas con las entidades reguladoras de alimentos están concebidas para velar por la seguridad de la salud humana al hacer reducir los factores de riesgo en los alimentos entre otros , asegurando la validez de sus resultados con valores analíticos confiables y precisos.

APRUEBA NUEVOS MÉTODOS DE ANÁLISIS Y DEJA SIN EFECTO LOS MANUALES QUE INDICA

El Instituto de Salud Pública en la actualidad tiene oficializado sus métodos analíticos con fecha 22 de marzo de 2013.

Dado el contexto actual se hace necesario la modificación de dicha Oficialización.

Diario Oficial 22 de marzo de 2012

Tercero: Que, este Instituto debe ejercer de manera continua la función de laboratorio nacional y de referencia previamente mencionada, por lo que se hace necesario señalar los manuales, técnicas o métodos que reemplazarán a los mencionados manuales.

Cuarto: Que, el Departamento de Salud Ambiental como referencias internacionales, ha indicado los siguientes métodos: Official Methods of Analysis of AOAC International, y el Standard methods for the Examination of Water-Waste Water APHA AWWA; y

Teniendo presente: lo dispuesto en la Ley 19.880; en el Código Sanitario; en los artículos 59 letra b), 60 y 61 letra b) del decreto con fuerza de ley N° 1, de 2005, que fija el texto refundido, coordinado y sistematizado del decreto ley N° 2.763, de 1979 y de las leyes N° 18.933 y N° 18.469; y 4° letra b), 10° letra b) y 52° del decreto supremo N° 1.222, de 1996, de la misma Secretaría de Estado; y en uso de las facultades que me otorga el decreto supremo Núm. 377, de 12 de mayo de 2011, del Ministerio de Salud; así como lo establecido en la resolución Núm. 1.600, de 2008, de la Contraloría General de la República; dicto la siguiente:

Resolución:

1.- Apruébanse como nuevos métodos de análisis los siguientes:

a) Official Methods of Analysis of AOAC International.

b) Standard methods for the Examination of Water-Waste Water APHA AWWA.

2.- Déjanse sin efecto desde la total tramitación de este acto administrativo los siguientes manuales:

a) Manual de métodos de análisis físico-químicos de alimentos, aguas y suelos, del año 1998.

b) Manual de técnicas microbiológicas para alimentos y aguas, del año 1998.

Anótese, comuníquese y publíquese en el Diario Oficial de la República y en la página web institucional.- Rubén Verdugo Castillo, Director (S).

Entidades oficiales internacionales

AOAC
Codex
USP
AACC
ISO
ICUMSA

http://aesan.msssi.gob.es/AESAN/docs/img/home/logo_msps.gif

JUSTIFICACION

- El contar con metodologías oficializadas para la comparación y verificación de la rotulación en el etiquetado de alimentos, herramienta necesaria tanto para la industria como el fiscalizador, y laboratorios de prestación de servicios a terceros.

- Contar con datos reales y/o aproximados declarados, en beneficio del comercio nacional como internacional y principalmente del consumidor o población expuesta al consumo de alimentos.

- Las metodologías son muy variadas y se van actualizando acorde a las necesidades emergentes.

- Los Laboratorios de Análisis de Alimentos deben contar con las condiciones adecuadas para el alcance y propósitos analíticos.

- El personal que realiza análisis debe contar con las competencias en el conocimiento de la composición de cada alimentos.

- El laboratorio debe realizar una selección de aquellas técnicas más acorde y relevantes al propósito.

Comisión Métodos

2.1 OBJETIVO GENERAL

-Oficializar metodologías de análisis para alimentos de consumo humano.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

-Contar con las metodologías necesarias para la verificación de la composición de Etiquetado nutricional Ley 20606,. "Articulo 120 bis

-Armonizar y revisar las metodologías que utiliza la red de laboratorios y evaluar la factibilidad de estandarizar estas para su aplicación en la verificación de la rotulación.

- Generar instancias de apoyo para el propósito. ej. base de datos on line de las metodologías oficiales en la Pág WEB del ISP y otro.

LEY 20606

"Artículo 120 bis: Cuando a un alimento o producto alimenticio se le haya adicionado sodio, azúcares o grasas saturadas, y su contenido supere el valor establecido en la Tabla No 1 del presente artículo, deberá rotular la o las características nutricionales relativas al nutriente adicionado. En el caso de la energía, se deberá rotular su contenido cuando se le haya adicionado azúcares, miel, jarabes, o grasas saturadas, y se supere el valor establecido en la referida tabla.

Tabla Nº1: Límites de contenido de energía, sodio, azúcares totales y grasas saturadas en alimentos.

	Energía kcal/100 g	Sodio mg/100 g	Azúcares totales g/100 g	Grasas saturadas g/ 100 g
Límites en Alimentos sólidos. Valores mayores o iguales a:	350/ JUNIO 2016 300/ JUNIO 2018 275/ JUNIO 2019	800 500 400	22,5 15 5	6 5 4
	Energía kcal/100 ml	Sodio mg/100 ml	Azúcares totales g/100 ml	Grasas saturadas g/ 100 ml
Límites en alimentos líquidos. Valores mayores o iguales a:	100 / junio 2016 80 / junio 2018 70 /junio 2019	100 100 100	6 5 5	3 3 3

Tipos Métodos de Análisis Codex

TIPO I
Métodos de Definición

TIPO II
Métodos de Referencia

TIPO IIII
Métodos Alternativos aprobados

TIPO IV
Métodos Provisionales

PARAMETRO A EVALUAR	CARACTERISTICA (S)	METODO CUALITATIVO	METODO CUANTITATIVO		
			NORMALIZADO	MODIFICADO	NUEVO
SELECTIVIDAD	Identificación analito Interferencia de matriz	Sí	No	Sí	Sí
LINEALIDAD	Rango lineal	No	Sí	Sí	Sí
SENSIBILIDAD	Pendiente	No	Sí o No	Sí	Sí
LIMITES	Crítico (LC) Detección (LOD) Cuantificación (LOQ)	Sí	Sí o No	Sí	Sí
PRECISION	Repetibilidad Reproducibilidad	No	Sí	Sí	Sí
VERACIDAD	Sesgo (s) Recuperación (R)	No	Sí o No	Sí o No	Sí
ROBUSTEZ	Test de Youden y Steiner	No	No	Sí o No	Sí
APLICABILIDAD	----------	Sí	Sí	Sí	Sí

Criterios generales para la selección de los métodos de análisis

- Se dará preferencia a los métodos oficiales de análisis elaborados por organizaciones internacionales que se ocupan de un alimento o grupo de alimentos, cuya seguridad haya sido establecida en relación con los criterios, seleccionados según proceda:

- Especificidad/Selectividad
- Exactitud
- Precisión [repetibilidad/ intralaboratorio (en el mismo laboratorio), reproducibilidad interlaboratorios (en el mismo laboratorio y en otros laboratorios)]
- Límite de detección/ cuantificación
- Sensibilidad
- Recuperación
- Linealidad
- Practicabilidad
- Aplicabilidad

Los métodos de análisis que pueden aplicarse uniformemente a varios grupos de productos se preferirán a los métodos que sólo son válidos para determinados productos

Recuperación (R)

Concentración	Razón	Unidad	Recuperación (%)
100	1	100 % (100 g/100g)	98 – 102
≥10	10^{-1}	≥ 10 % (10 g/100g)	98 – 102
≥1	10^{-2}	≥ 1 % (1 g/100g)	97 – 103
≥0,1	10^{-3}	≥ 0,1 % (1 mg/g)	95 – 105
0,01	10^{-4}	100 mg/kg	90 – 107
0,001	10^{-5}	10 mg/kg	80 – 110
0,0001	10^{-6}	1 mg/kg	80 – 110
0,00001	10^{-7}	100 µg/kg	80 – 110
0,000001	10^{-8}	10 µg/kg	60 – 115
0,0000001	10^{-9}	1 µg/kg	40 – 120

Existen otras directrices relativas a los intervalos previstos de recuperación en áreas específicas de análisis. En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, podrán aplicarse otros requisitos especificados.

Conformidad

Para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado.

ANALISIS- METODOLOGIAS

1.- Análisis Químicos

1.1.- Proximal:

- Humedad
- Cenizas Totales
- Proteínas
- Lípidos Totales.
- Fibra Dietaría
- **HIDRATOS DE CARBONO DISPONIBLES**
- **ENERGÍA EN KILOCALORIAS (ENERGÍA/KCAL)**
- **PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS.**
- **SODIO.**

HUMEDAD

Matriz	Identificación	Método
Maiz-Granos	ISO 6540:1980 (confirmado 1994)	Gravimétrico
Proteína de soya, vegetales	AOAC 925.09	Gravimétrico (estufa al vacío)
Chocolate y productos de chocolate	AOAC 931.04	Gravimétrico
Cacao en polvo y mezclas de cacao seco con azúcar	AOAC 977.10	Karl Fischer (Gravimétrico)
Semolina Harina de trigo	ICC Method Nº 110/1 (1986) ISO 712:1998	Gravimétrico
Varios Alimentos Especiales; Formulas Infantiles	AOAC-INN-ACC http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos	Gravimétrico

CENIZAS TOTALES

Matriz	Identificación	Método
Maiz-Granos-Semolina-Harina de Trigo-Proteína de soya, vegetales	AOAC 923.03	Gravimétrico
Proteína de soya, vegetales	ISO 2171:1993	Gravimétrico
Maiz en grano Harina de trigo	ICC METHOD Nª 104/1 (1990)	Gravimétrico
Alimentos con bajo % de agua	http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos	Karl Fischer
Semolina Harina de trigo	AOAC 923.03	Gravimétrico
Varios Alimentos Especiales; Formulas Infantiles	AOAC 942.05	Gravimétrico

Grasa total

Matriz	Identificación	Método
Maiz-Granos	AOAC 945.38F; 920.30C	Gravimetrico (previa extracción Soxhlet)
Chocolates y productos con cacao	ISO 2171:1993 AOAC 925.07	Gravimetrico (Extracción Soxhlet)
Leche y productos lácteos	NCh 11742. Of 1998 AOAC 2000.18	Röse Gottlieb Gerber butirometro
Productos de proteína de Soya y vegetales	CAC/RM 55-1976	Gravimetrico (previa extracción Soxhlet)
Varios Alimentos Especiales; Formulas Infantiles	CAC/RM 55-1976	Gravimetrico (Extracción Soxhlet)

FIBRA DIETARIA TOTAL

Matriz	Identificación	Método
Alimentos , harinas, pan y cereales no enriquecidos con fibra soluble	AOAC 985. 29 http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos	Digestión enzimática Gravimétrico
Alimentos especiales –Formulas infantiles	AOAC 991.43	digestión enzimático Gravimétrico
Productos de granos de cereales, cereales, vegetales y frutas	AOAC 2011.25	Enzimático- Gravimétrico HPLC

AMG	: Amilo- glucosidasa.
DP	: Grado de polimerización
FOS	: Fructo - Oligosacaridos.
GOS	: Galacto- Oligosacáridos.
HMWSDF	: Fibra Dietaria Soluble de Alto Peso Molecular
IDF	: Fibra dietética insoluble.
INTDF	: Procedimiento de fibra dietética total integrada.
LMWSDF	: Fibra Dietaria Soluble de Bajo Peso Molecular
NDO	: Oligosacáridos no digeribles.
RMD	: Maltodextrinas resistentes.
RS	: Almidón resistente.
SDF	: Fibra dietética soluble.
SDFP	: Fibra dietética soluble en agua, pero que precipita en etanol acuoso al 78 %.
SDFS	: Fibra dietética soluble en agua y no precipita en etanol acuoso al 78 %.
TDF	: Fibra Dietaria Total

SODIO

Matriz	Identificación	Método
Frutas y Néctares	EN 1134 (1994); IFU Method No 33 (1984)	Absorción Atómica
Alimentos para dietas especiales	AOAC 976.25	Ion Selectivo
Fórmula Infantil, Productos Enterales, Alimento mascotas	AOAC 985.35	Vía Seca-Absorción Atómica
Aguas	EPA 2731	Absorción Atómica
Alimentos Especiales	ISO 8070:1987; IDF Standard 119A:1987	Espectrofotometría de emisión de llama
Alimentos Especiales; Formulas Infantiles	AOAC 984.27 http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos	Espectrometría de emisión ICP

PROTEÍNAS

Matriz	Identificación	Método
Fermentados lácticos	AOAC 991.20 ISO 8988-1 IDF 20:1 2001	Digestión Kjeldahl - Tritrimetríco
Semolina, maíz en grano	ICC N° 105/1	Digestión Kjeldahl - Tritrimetríco (N x 5,7)
Harina de trigo	ICC N° 105/1 105/2 1986	Digestión Kjeldahl - Tritrimetríco (N x 5,7)
Alimentos en general	AOAC N° 928.08 http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos	Método Kjeldhal – equipo automático

Factores para la conversión de los valores de nitrógeno en proteínas (por g de N) (FAO/OMS, 1973)

Fuente: Green Field & Southgate, 2003.

Productos animales	Productos vegetales
Carnes y pescados - 6,25	Trigo entero - 5,83
Gelatina - 5,55	Trigo salvado - 6,31
Leche y derivados - 6,38	Trigo germen - 5,80
Caseína - 6,40	Trigo endospermo - 5,70
Leche humana - 6,37	Arroz y harina de arroz - 5,95
Huevo: entero - 6,25	Centeno y harina de centeno - 5,83
albúmina - 6,32	Cebada y harina de cebada - 5,83
vitelina - 6,12	Avena - 5,83
	Maíz - 6,25
	Frijoles - 6,25
	Soya - 5,71
	Nueces: Brasil - 5,46; almendras - 5,18; maníes - 5,46; otras - 5,30

CARBOHIDRATOS- HIDRATOS DE CARBONO

MÉTODOS DE ANALISIS

1. Método por cálculo
2. Método Químico Munson y Walker*
3. Métodos ópticos
4. Método enzimáticos
5. Métodos Cromatográficos
   - cromatografía plana
   - cromatografía de gases
   - cromatografía líquida HPLC

http://www.ispch.cl/centrodedocumentacion/documentostecnicos*

Imagen Referencial

CARBOHIDRATOS-HIDRATOS DE CARBONO-GLUCIDOS

- **Monosacáridos**
  - Cetosas
  - Aldosas
- **Oligosacáridos**
  - Disacáridos
    - Reductores
    - No-reductores
  - Octasacáridos
- **Polisacáridos**
  - Homoglicanos: un tipo de monosacárido
  - Heteroglicanos: dos o más tipos de monosacáridos

Azúcares Simples

son azucares de rápida absorción y son energía rápida.

Se encuentran en azúcar, miel, mermeladas, jaleas, golosinas, leche, hortalizas y frutas etc.

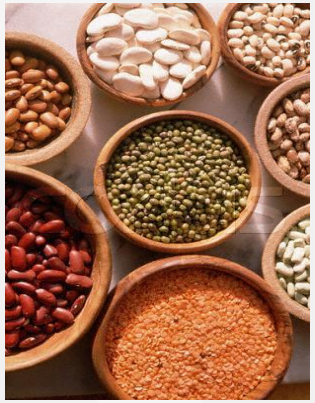
Monosacáridos: glucosa, fructosa
Disacáridos: sacarosa, lactosa, maltosa

Azúcares Complejos ó polisacáridos

- Su absorción es más lenta y actúan como energía de reserva.
- Se encuentra en cereales, legumbres, harinas, pan, pastas.

Digeribles

No Digeribles



Hidratos de carbono Método de Fehling: Método gravimétrico de Munson y Walker

Fehling A: sulfato de cobre
Fehling B: tartrato de Na y K en medio alcalino

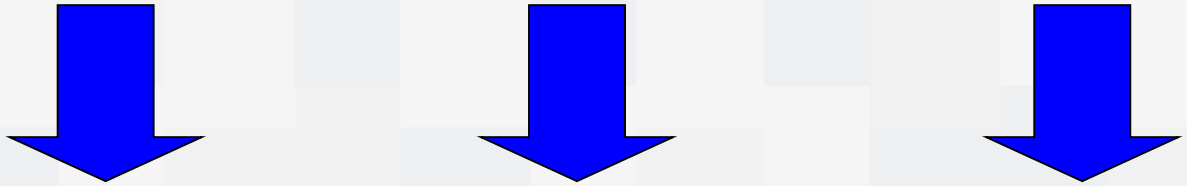
AZUCAR (álcalis) ⟶ ENEDIOL (especie reductora)

El tartrato compleja el Cu^{+2} , el cual es reducido por el enediol a Cu^{+1}, que en presencia de OH- forma CuOH y por calentamiento Precipita el CU_2O, el cual se pesa y se determina gravimétricamente

$$R\text{-}CHO + CuSO_4 + NaOH \longrightarrow Cu_2O + 2RCOOH + 2Na_2SO_4 + H_2O$$

Imagen Referencial

Azúcares Totales = DReductor + No reductores



Se obtienen por hidrólisis

Se obtienen directamente

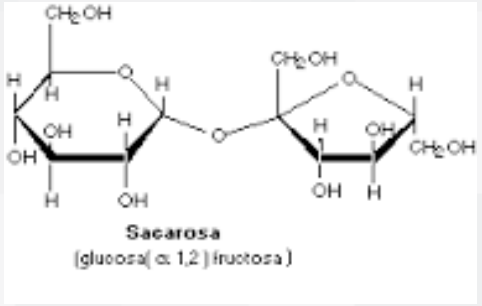
Se obtienen por diferencia

Agentes clarificantes

Propósito

*Remover las sustancias interferentes, sin absorber ni modificar los azúcares

*El precipitado debe ser pequeño y el procedimiento de precipitación relativamente simple.



Hidrólisis de sacarosa

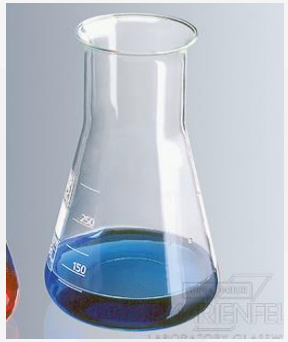
- Inversión :Por acción de medio ácido o por acción enzimática
- $C_{12}H_{22}O_{11} + HCl \rightarrow C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$

SACAROSA

glucosa fructosa

Azúcar invertido

Azúcares directamente reductores



.

25-50 ml filtrado con los azúcares
25 ml fehling A
25 ml fehling B
50 ml agua
Calentar sobre rejilla, ebullición comienza a los 4 min.
de calentamiento + 2min

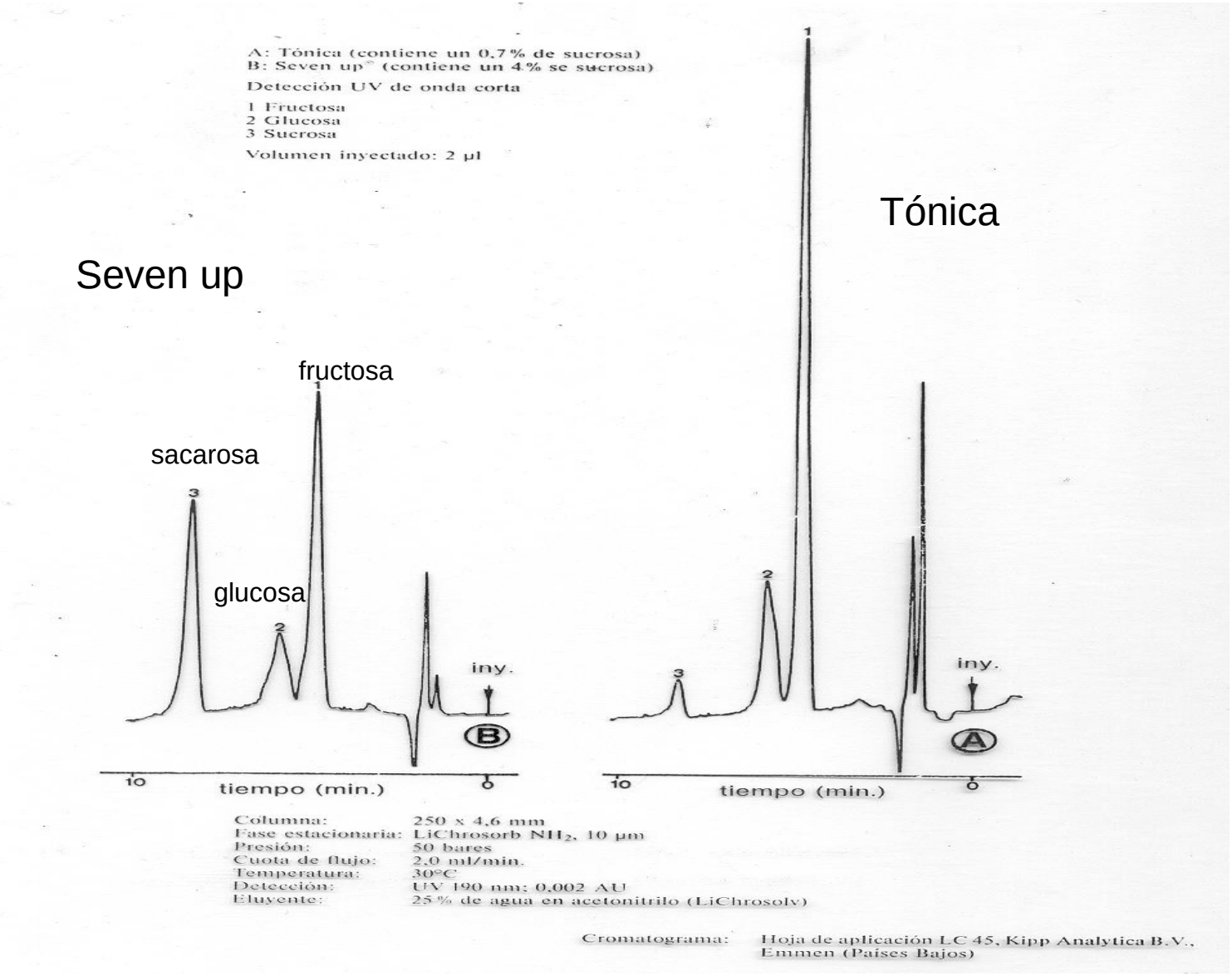
Filtrar por succión la solución caliente Lavar pp secar

Cu_2O ⟶ Tabla ⟶ Glucosa

x 0,95= **sacarosa**
x 0,9= **almidón**

Desventaja del método
Está basado en reacciones no estequiométricas

Determinación por HPLC.



CALCULOS DE ENERGIA CONSIDERACIONES

Total de hidratos de carbono

Representa la suma de los gramos de azúcar, almidón y fibra dietaria en una porción de alimento, según lo explica la Organización para la Alimentación y la Agricultura, o FAO.

Según la FAO, la cantidad total de hidratos de carbono incluye "componentes que no son estrictamente hablando hidratos de carbono", tales como la fibra dietaria.

De la cantidad total de hidratos de carbono, solo los azúcares y almidones son digeribles y están disponibles para ser convertidos en glucosa ,y más tarde ser usados por el cuerpo para obtener energía.

La fibra dietaria representa el total de la fibra soluble e insoluble. La fibra no proporciona energía al cuerpo, ni eleva los niveles de azúcar en la sangre después de su consumo.

Hidratos de carbono disponibles

Debido a que la fibra dietaria no contribuye a elevar los niveles de azúcar en la sangre ni aporta energía, se puede restar de los carbohidratos totales.

El resultado de este cálculo simple proporciona la cantidad de carbohidratos disponibles, que también se llaman carbohidratos glucémicos, carbohidratos utilizables o carbohidratos netos.

La FAO considera que el contenido de carbohidratos disponibles, que representa la cantidad de hidratos de carbono proporcionados para el metabolismo, es un concepto más útil en comparación con los carbohidratos totales.

Factores de calculo de energía en formulaciones

		kcal/ g
Proteínas		4
Grasas		9
Hidratos de carbono disponibles		4
Fibra dietética soluble	Inulina	1,5
	FOS	1,6 a 2 (si no se conoce usar 2)
	Polidextrosa	1
Ácidos orgánicos (cítrico, acético, láctico, málico, etc)		3
Dextrinas digeribles		4
D-Tagatosa		1,5
Alulosa		0,2
Ca-HMB (betahidroxi beta metil butirato de calcio		2,52
Alcohol		7

Factores de calculo segun FDA / EFSA EU factores

			(EFSA)
Polioles	Sorbitol	2,6	2,4
	Xilitol	2,4	2,4
	Maltitol	2,1	2,4
	Isomalta	2,0	2,4
	Lactitol	2,0	2,4
	Manitol	1,6	2,4
	Eritritol	0,2	0

Por ejemplo, la legislación MERCOSUR (GMC 44, 46, 47/03), para proteínas, lípidos y carbohidratos, adopta los mismos factores de Atwater y se incluyen los factores para los ácidos orgánicos (3 kcal/g), polioles (2,4 kcal/g) y polidextrosa (1,0 kcal/g).

Calculo de Hidratos de carbono disponibles

HC disponibles= Azúcares totales+ almidones digeribles

Alimentos naturales:

HC disp: = 100-(Humedad + Cenizas totales + Grasa total+ Proteínas- Fibra dietaría Total)

En alimentos procesados

HC disp = 100-(H + C+ P - FDT + Dex + inulina+ alulosa+polialcoholes+ác orgánicos+otros ingredientes que sean declarados)

NOTA: El fabricante debe entregar información

Método por Calculo

- ENN = H de C totales = 100 - %H - %P - %L - %C
- H de C disponibles = H de C totales - Fibra dietética

Calculo de Energia /Kilocalorias factores de Atwater

HUMEDAD: 20%
CENIZAS TOTALES : 2 %
LÍPIDOS : 12 %
PROTEÍNAS: 8 %

100 – 42 = 58 ENN

Entonces ENN = 58 x 4 = 232
Lípidos = 12 x 9 = 108
Proteínas = 8 x 4 = 32

372 Kcalorias / 100g o 100 mL

Nota : valores sobreestimado.

CALCULO DE ENERGIA

ENERGÍA/KILOCALORIAS FORMULACIÓN DE UNA MUESTRA X

Ej:

10 g % Proteínas x 4 = 40
2 g %Grasa total x 9 = 18
40 g% H carbono x 4 = 160
1g% Fd soluble x factor= 1,5 (inulina)
2g % Polioles x factor = 2,6 (Sorbitol FDA) (2,4 EFSA)
4g % Ac orgánicos x 3 = 12 (ác láctico)
3g% Dextrinas dig x 4= 21

Sumatoria 264,1 Kcal/100g

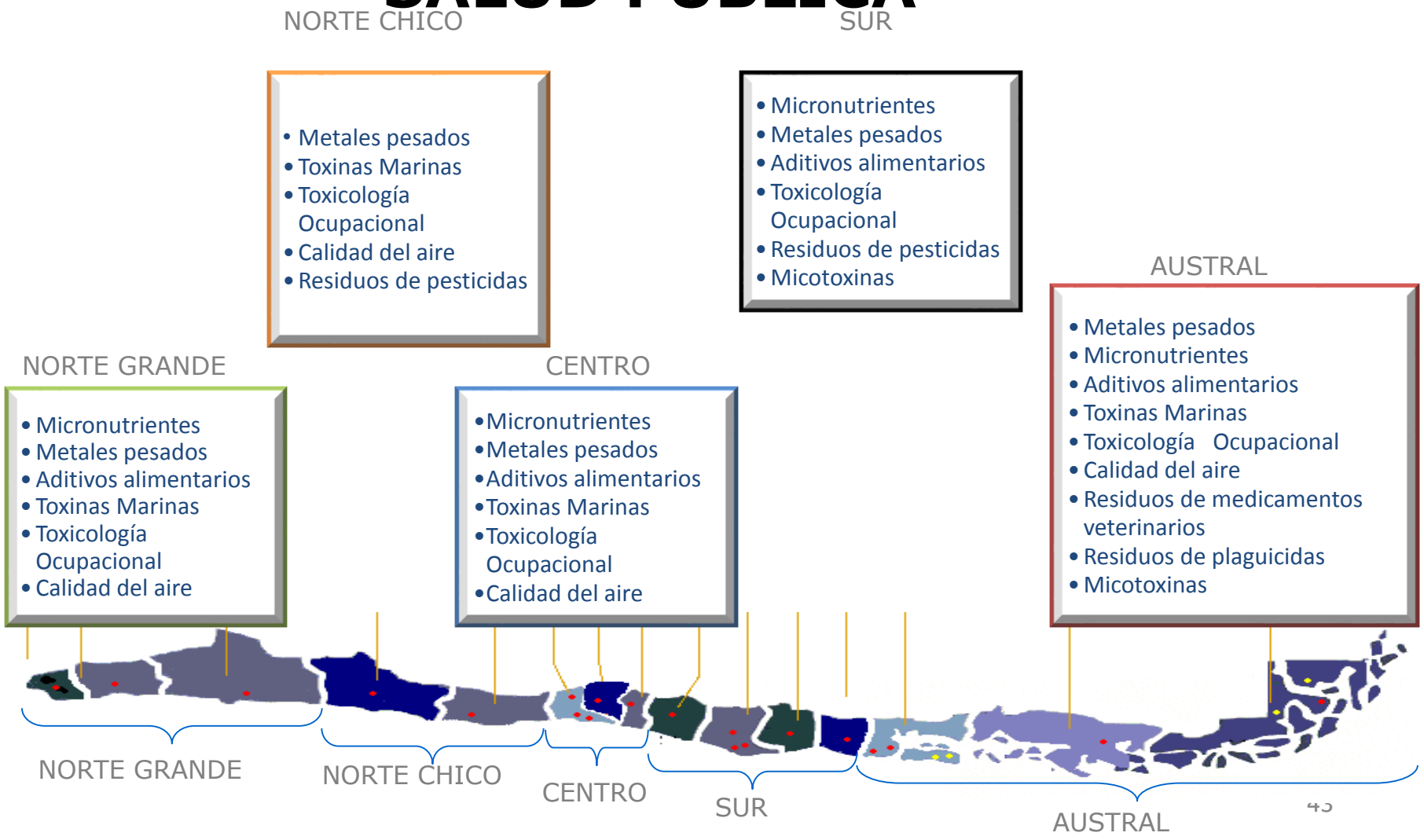
Personal Subdepartamento Alimentos y Nutrición
Año 2016

	Profesionales	Técnicos	Administrativos y auxiliares	Total
Jefatura Subdepto	1		1	2
Sección Química de Alimentos	9	6	3	18
Sección Microbiología de Alimentos	5	5	2	12
Total				32

Equipamiento Subdepartamento Alimentos y Nutrición
Año 2016

Sección Química de Alimentos	Sección Microbiología de Alimentos
LC-MSMS	PCR tiempo real
GC-MSMS y GC-MS	Extractor ADN y RNA
GC-FID, ECD, NPD	VIDAS®
HPLC-UV/DAD/FLD	Gabinetes de bioseguridad
UHPLC-I Refracción	Incubadoras
AAS-Llama, horno grafito, gen. hidruros	Hornos esterilización
ICP-MS	Autoclave
Digestor de Microondas	Otros
Otros	

RED NACIONAL DE LABORATORIOS DE SALUD PÚBLICA



Muchas gracias

eraymond@ispch.cl