

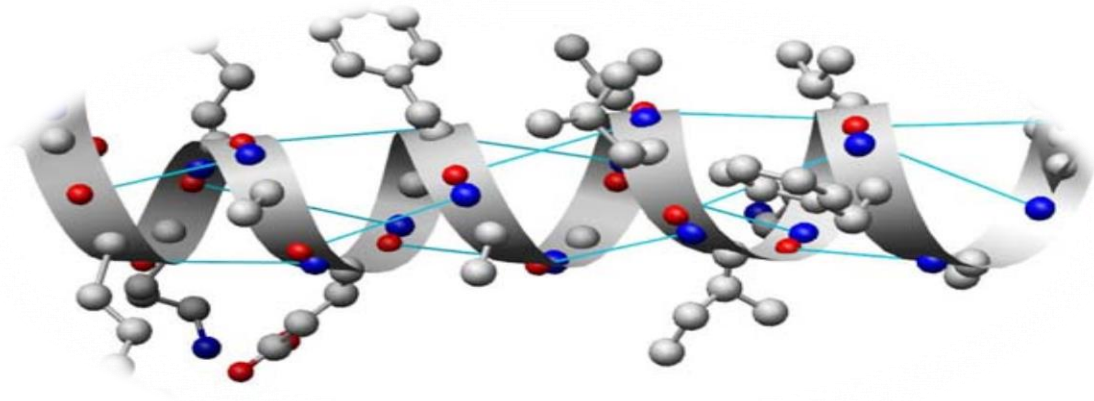
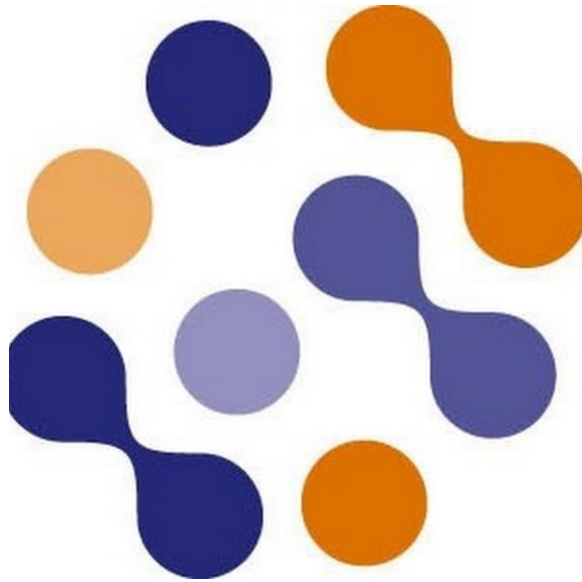
SEMINARIO: “METODOLOGIAS ANALITICAS APLICABLES AL ETIQUETADO NUTRICIONAL .

**MÉTODOS PARA ANALISIS DE
PROTEINA (Ley 20606)
Marcela Torres- Eurofins**



CONTENIDOS

1. Importancia de la determinación de proteína para el Etiquetado Nutricional Obligatorio – Ley 20606
2. Métodos disponibles utilizados con frecuencia/ ventajas y desventajas .
3. Interferencias por ingredientes.
4. Factores de conversión.
5. Conclusiones

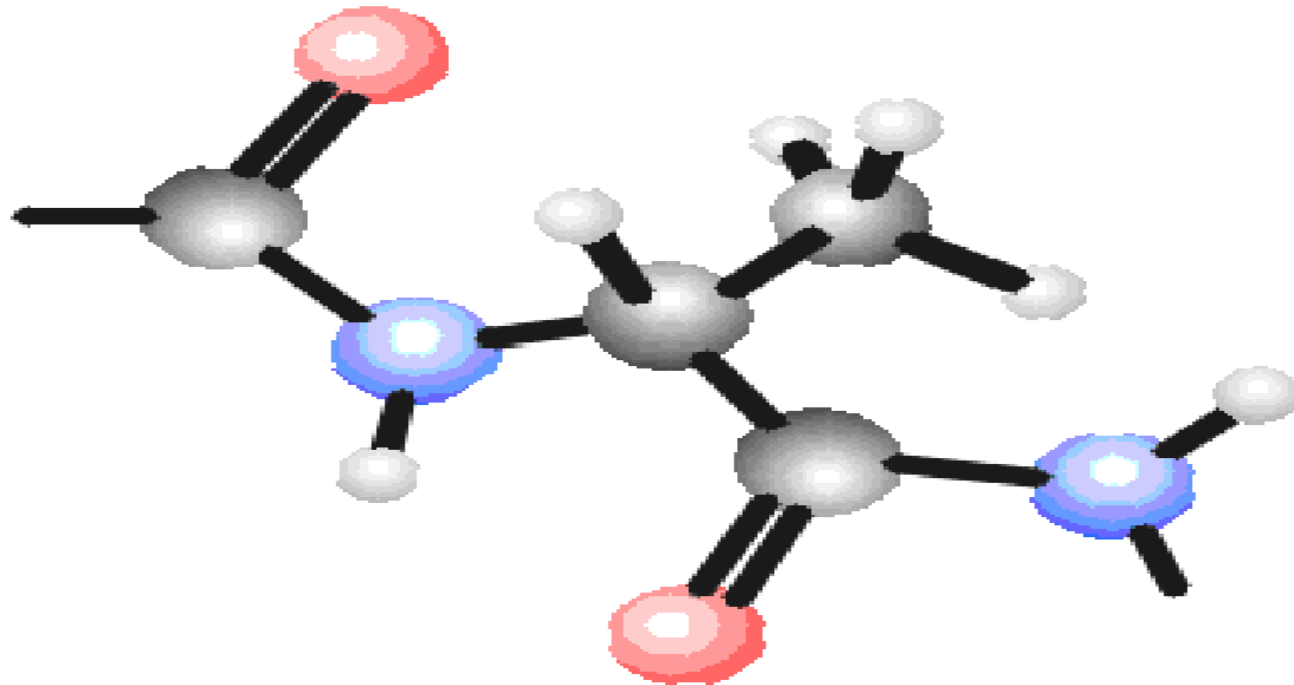


Introducción Determinación de Proteína (Ley 20606)

Proteína Generalidades

Toda alimentación debe contar con elementos necesarios para otorgar los nutrientes que el organismo necesita para funcionar correctamente .

Las proteínas (Proteios: Primario) aportan así al cuerpo todos aquellos elementos complejos que el organismo del ser humano no puede generar por si mismo.

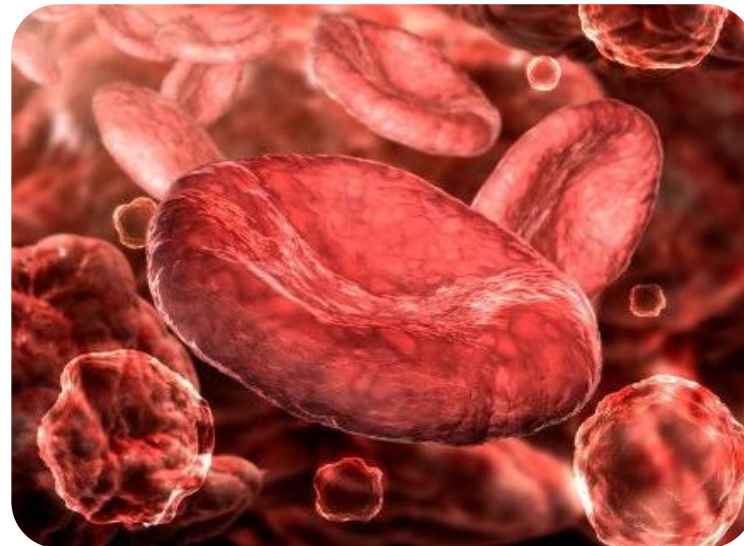


Proteína Generalidades

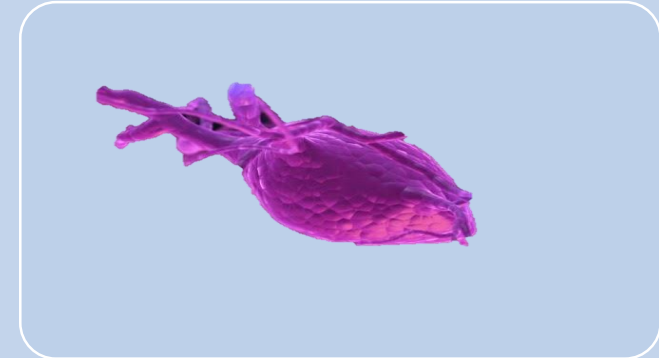
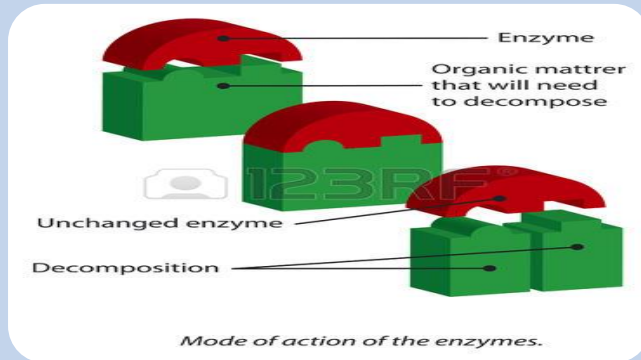
Las proteínas son un componente complejo constituidas principalmente de carbono, nitrógeno y oxígeno, formadas por cadenas de aminoácidos.

El componente más distintivo de las proteínas es el nitrógeno , el cual se estima entre un entre 13-19%.

Importantes para las funciones biológicas o estructura celular



Importancia de la proteína



Función enzimática

Las proteínas con función enzimática son las más numerosas y especializadas, actúan como biocatalizadores de las reacciones químicas del metabolismo celular. Una de sus tantas funciones es convertir los alimentos en energía.

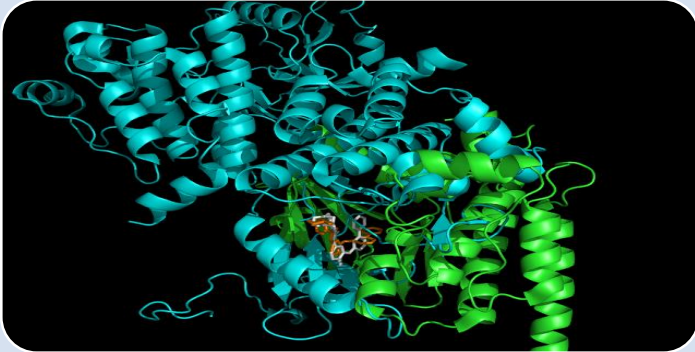
Propiedades estructurales

Constituyen estructuras como las membranas de las células, otras como el colágeno, la elastina, permiten la elasticidad y la resistencia en órganos y tejidos.

Función Hormonal

Hormonas son de naturaleza proteica como la insulina y el glucagón que regula los niveles de la glucosa en la sangre o las hormonas segregadas por la hipófisis como la del crecimiento.

Importancia de la proteína



Función reguladora

Son materia prima para la formación de los jugos digestivos, hormonas, proteínas plasmáticas, hemoglobina, vitaminas y enzimas que llevan a cabo las reacciones químicas que se realizan en el organismo



Propiedades de reserva

La ovoalbúmina de la clara de huevo, la lacto albúmina de la leche, la gliadina del grano de trigo y la hordeína de la cebada, constituyen una reserva de aminoácidos para el futuro desarrollo del embrión.

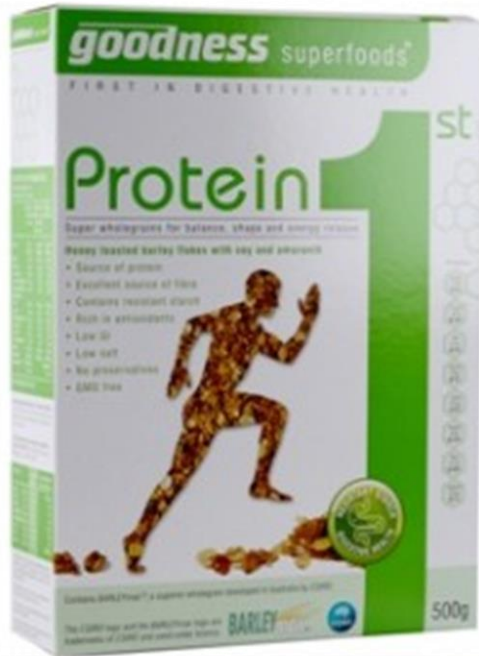


Función Movimiento

Todas las funciones de motilidad de los seres vivos están relacionadas con las proteínas. Así, la **contracción del músculo** resulta de la interacción entre dos proteínas, **lactina** y la **miosina**.

Proteína y Etiquetado Nutricional Obligatorio ENOA

- ENOA : Proteína debe cumplir con al menos el 80% del valor declarado en el Rotulo.
- Cuando se declaran propiedades nutricionales o mensajes saludables , con al menos el valor declarado en el Rotulo.



Proteína y Ley 20606

- El Valor de Proteína se utiliza para la determinación de carbohidratos disponibles que se obtienen por calculo.
- El valor de proteína se utiliza para el calculo de Energía , factor de ATWATER.
- Cualquier variabilidad del análisis fuera de los rangos aceptables, indirectamente afectaran la información nutricional obtenida por calculo.
- El análisis de proteína se debe realizar considerando , la aplicabilidad del método seleccionado, su sensibilidad , las interferencias de acuerdo a la composición del alimento, su robustez , precisión y exactitud.



Consideraciones Para cumplir con la ley / verificación y fiscalización



Toma de muestras



Variabilidad de la muestra

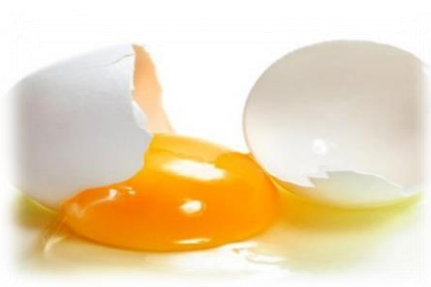


Metodologías de análisis

Homogeneización - Análisis

Limitaciones

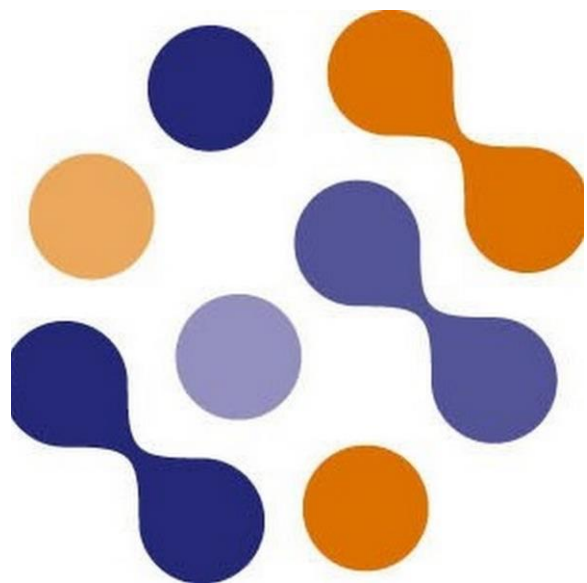
- Dificultad para disponer de métodos que cuantifiquen sólo Proteína debido a los altos costos .
- La especificidad de algunos métodos , aplicables solo a matrices determinadas.
- La baja cantidad de muestra utilizada en algunos métodos , que debe ser representativa de un lote de producción.
- La falta de acuerdos para el uso de factores de conversión a nivel nacional e internacional.



Limitaciones de los métodos

- La toxicidad de algunos métodos ampliamente utilizados.
- La cantidad de pasos de las metodologías tradicionales.
- La representatividad de la muestra con múltiples ingredientes. Ausencia de disposiciones para la homogeneización de la muestra.
- Las interferencias no conocidas de algunos alimentos formulados.
- Falta de información respecto de los ingredientes – Fabricante.

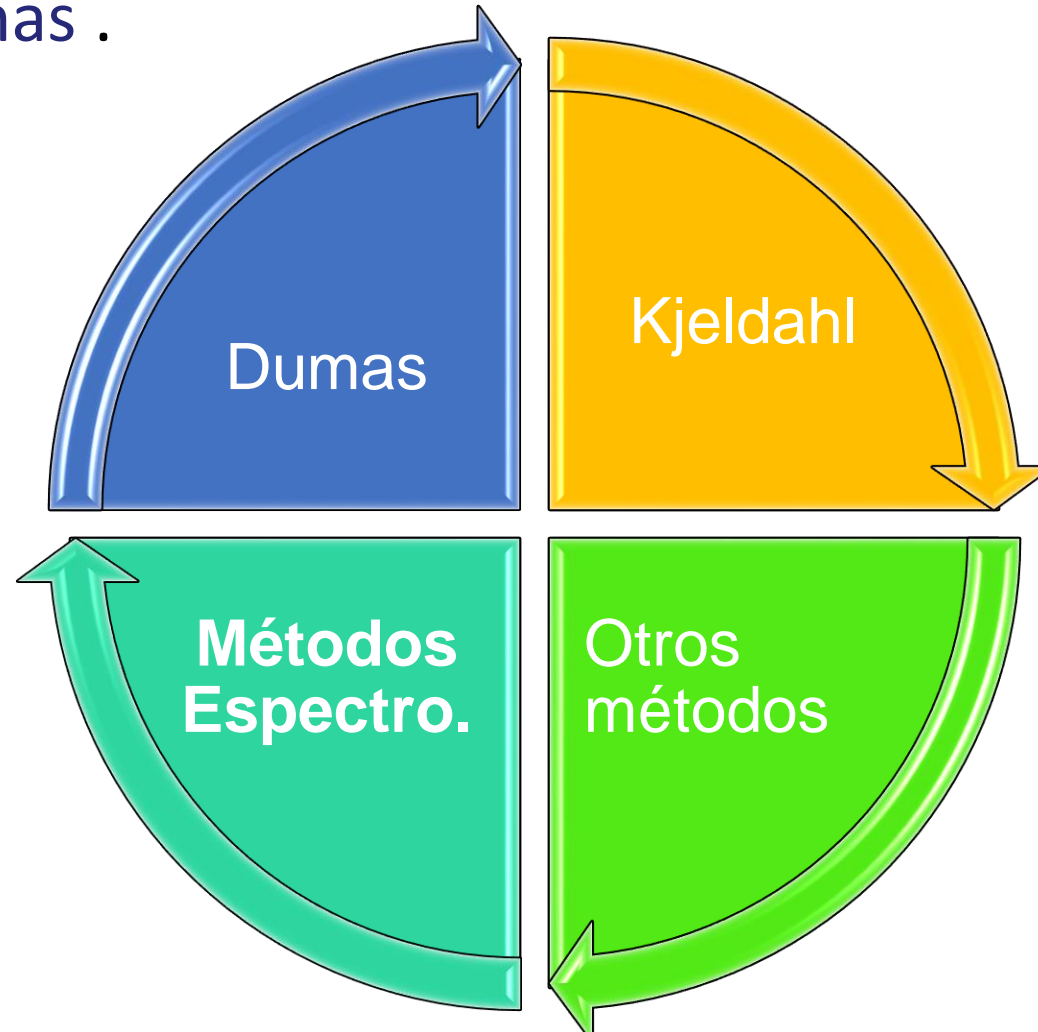




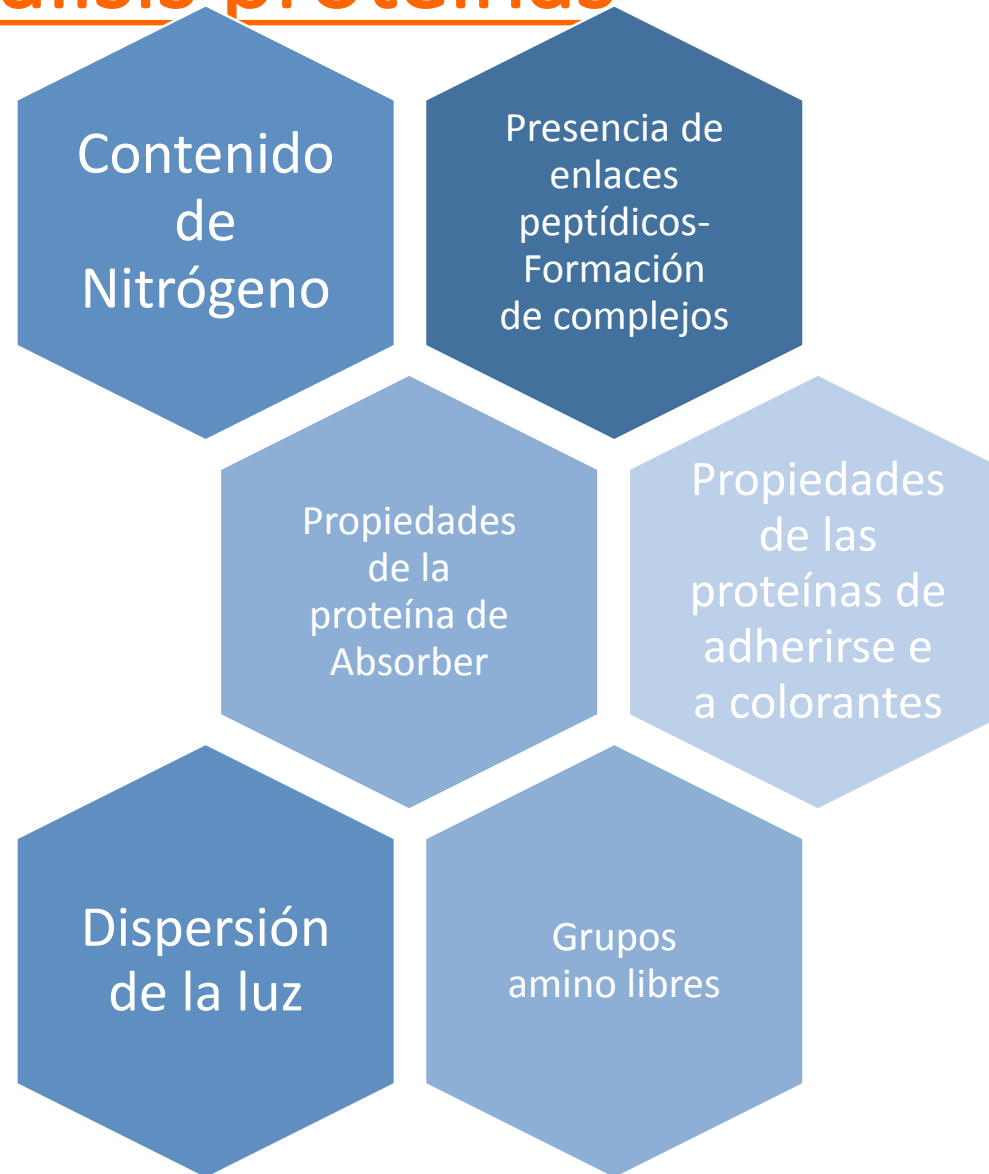
Revisión de Métodos para Análisis de Proteínas (Ley 20606)

Proteína y Ley 20606

- Existe gran variedad de métodos de análisis para proteínas, algunos cuantifican a través del contenido de nitrógeno y otros a través del contenido de proteínas .



Métodos para análisis proteínas



Métodos para análisis proteínas

- **Método Kjeldahl**
- **Método Dumas**
- Método NIR-IR
- Método Sorensen
- Adsorción de colorantes

METODOS NO
EXTRACTIVOS



- Método de Biuret
- Método de Lowry
- Método de Bradford

METODOS
EXTRACTIVOS
QUIMICOS



- Absorbancia a 280 nm (UV)
- Turbidimetría
- Fluorimetría

METODOS
EXTRACTIVOS
FISICOS




Método Kjeldahl

Método	Aplicación	Principio	Fundamento	Limitaciones /interferencias	Ventajas
<i>Kjeldahl</i>	Todos los alimentos	<i>Titrimétrico</i>	Determinación de nitrógeno	<i>Interferencia nitrógeno no proteico Método más largo Utiliza reactivos corrosivos Falta de estandarización del factor Pérdidas de nitrógeno durante la digestión Digestión incompleta o durante la destilación. No tan sensible</i>	<i>Ampliamente utilizado Robusto De fácil aplicación . Método Oficial</i>

Método Dumas

Método	Aplicación	Principio	Fundamento	Limitaciones /interferencias	Ventajas
Dumas - Automatizado	Todos los alimentos	Combustión de muestra Determinación por conductancia	Determinación de nitrógeno	Ligeramente nitrógeno inorgánico Variabilidad del NNP Utilización de factor conversión. Dificultades en la aplicación en matrices alimentos heterogéneas y de alta humedad .	Combustión con oxígeno puro, sin reactivos metálicos como oxidantes adicionales Gran flexibilidad en tipos de muestra. Rápido.



The image shows a Leco FP628 automated Dumas nitrogen analyzer. It consists of a large grey cabinet with the Leco logo on the left side and a smaller, cylindrical unit on the right. A computer monitor is connected to the system, displaying a software interface with a red bell-shaped curve representing a nitrogen distribution. The monitor also shows the text 'Nitrogen %' and the value '0.5777'. A keyboard and mouse are visible in front of the monitor.

Método Biuret

Método	Aplicación	Principio	Fundamento	Limitaciones /interferencias	Ventajas
Biuret	<i>Concentrados líquidos y biológicos Algunas aplicaciones en carnes</i>	Colorimétrico- Formación de complejo entre iones cúpricos y los péptidos	Determinación de Proteínas	Especificidad Aplicación en baja cantidad de alimentos , debido a interferencia de azucares. Interfieren las concentraciones altas de sales de amonio. Se debe estandarizar con cantidades conocidas de proteína. Interfieren cantidades altas de lípidos o CHO ocasionando turbidez. Baja sensibilidad 1000-10000	Costos más bajos que método Kjeldahl Leve mayor precisión. No detecta Nitrógeno de fuentes no proteicas



Método Lowry

Método	Aplicación	Principio	Fundamento	Limitaciones /interferencias	Ventajas
Lowry	Lácteos	Colorimétrico- 1.- Reacción de biuret 2.- Tratamiento con reactivo de fenoles – Folin / Ciocalteu	Determinación de Proteínas	Especificidad Alta sensibilidad Variabilidad del color según tipo de proteína ya que depende del contenido de aminoácidos aromáticos <i>Scaraosa, lipidos , buffer fosfatos , monosacaridos y hexoaminas interfieren</i>	Costos más bajos que método Kjeldahl Muy sensible Simple Menos afectado por la turbidez



The image shows a Thermo GENESYS 10S UV-VIS spectrophotometer on the left, which is a laboratory instrument used for measuring the absorbance of light. To its right is a test tube containing a blue liquid, which is the result of the Lowry protein assay.

Método Formol

Método	Aplicación	Principio	Fundamento	Limitaciones /interferencias	Ventajas
Soressen- Titulación con formol	Lácteos	Titrimetrico: Adición de formalina a solución neutralizada – Grupo NH ₂ reacciona para formar grupo metilenoimino NCH ₂ con liberación de protón.	Determinación de aminoácidos	Especificidad solo Leches. Resultados más bajos que el método oficial.	Costos más bajos. Utilidad como método alternativo.

The image shows various pieces of laboratory glassware. On the left, there are three pipettes with different colored caps (green, yellow, and blue) and a glass burette with a red stopcock. On the right, there are two more pipettes, one blue and one white, both with digital displays.

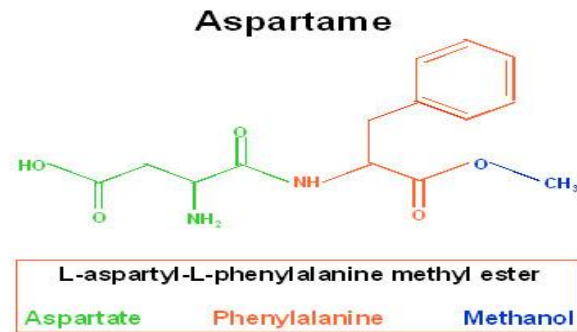
Limitaciones de los métodos

- Finalmente los métodos más ampliamente utilizados **Kjeldahl** y **Dumas**.
- El método **Kjeldahl** considerado como oficial para proteína cruda , debido a su gran aplicación y menores costos, determina no solamente nitrógeno proveniente de proteína ,el método cuantifica :

Nitrógeno de : ácidos nucleicos , urea , aminoácidos libres, compuestos amoniacales óxidos de trimetilamina , trimetilamina, creatina, amino azucres, alcaloides, ácido úrico.
- El método no determina nitrógeno nítrico, cianhídrico, hidracina , grupos azo y nitrógeno de un núcleo cíclico.
- Para el principio del método se supone una baja relación NNP/NP , la cual es constante.

Productos que pueden presentar interferencias

- Salsa de soya , Mono glutamatos, algunos edulcorantes, otros que contengan fuentes de NNP.



Interferentes

LA NACION | EL MUNDO

Escándalo en China por leche contaminada

Al menos tres niños han muerto y casi 6200 están afectados por una partida artificial contaminada con **melanina**, los afectados sufren severos cálculos renales

MIÉRCOLES 17 DE SEPTIEMBRE DE 2008 • 18:07



9



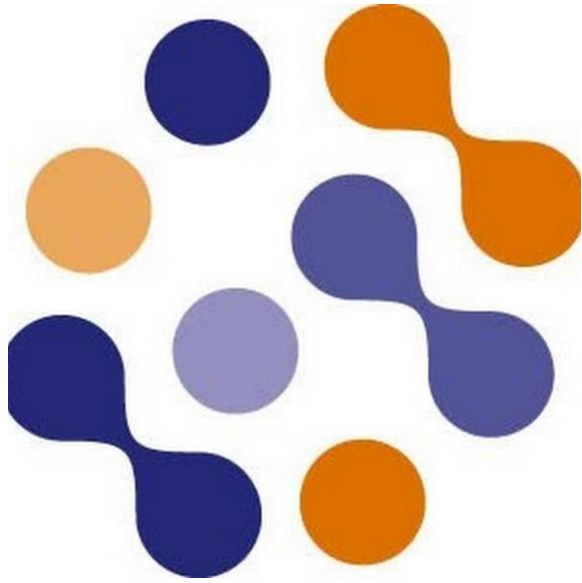
BEIJING.- El gobierno envió miles de inspectores a controlar la producción de leche después de que las autoridades locales anunciaran hoy que el número de niños chinos enfermos por consumir leche artificial contaminada con melanina ha subido a casi 6200.


Al menos tres niños han muerto y más de 1300, la mayoría recién nacidos, permanecen hospitalizados. Decenas de ellos sufren severos cálculos renales.

El ministro de salud Chen Zhu anunció que el número de bebés afectados podría aumentar a medida que más y más padres lleven a sus hijos al hospital.

El director de la Agencia de Control de Calidad de China, Li Changjiang, dijo que 5000 inspectores serán enviados por todo el país a controlar la producción después de que





NITRÓGENO  **PROTEÍNA**

Factores de conversión Proteína (Ley 20606)

Antecedentes

- El factor 6,25 se aplica en forma generalizada por el FDA , con excepción de aquellos alimentos en los que esta definido claramente un factor (Ej: lácteos).
- El factor 6,25 se basa en que el valor medio porcentual de nitrógeno en una proteína es 16% , lo que sin embargo no es tan exacto , ya que las proteínas de origen animal contienen menos nitrógeno y las de origen vegetal más.
- El Codex alimentario y FAO establecen varios factores dependiendo del origen del alimento.
- En el último tiempo se han establecido estudios que proponen otros factores , que serian más ajustables a la realidad , sin embargo no se ha llegado a consenso.
- Nacionalmente no se ha estandarizado el uso de factores, con excepción de guías que proponen el uso de 6,25.
- Con el desarrollo de productos en la actualidad no es fácil definir el factor a utilizar debido a que no siempre es conocido el componente mayoritario del producto para el laboratorio.

Recopilación información disponible

- Codex :

3.3.2 Cálculo de proteínas

La cantidad de proteínas que ha de indicarse, deberá calcularse utilizando la fórmula siguiente:

$$\text{Proteína} = \text{contenido total de nitrógeno Kjeldahl} \times 6,25$$

a no ser que se dé un factor diferente en la norma del Codex o en el método de análisis del Codex para dicho alimento.

- FDA:

El contenido de proteína se puede calcular sobre la base del factor de 6,25 multiplicado por el contenido de nitrógeno de los alimentos, excepto cuando el procedimiento oficial para el alimento específico requiere otro factor. (*Methods of analysis for nutrition labeling AOAC 1993*)

Recopilación información disponible

- **Método ISP: ME-711.02-173**

- Factor de proteínas según tipo de muestra:

- 6,25: carne, pescado huevo, leguminosas y proteínas en general.
 - 5,70: cereales y derivados de soya.
 - 6,38: leche.
 - 5,55: gelatina.
 - 5,95: arroz.
 - 1,40: factor del Nitrógeno

- **Guías / Manuales de aplicación :**

En ausencia de factores para alimentos específicos, se aplica el factor general de 6,25. En algunas bases de datos de composición de alimentos se utiliza exclusivamente el factor general para el cálculo de todas las proteínas, y en numerosos países/regiones la reglamentación en materia de etiquetado de los alimentos exige el uso del factor general (CE, 1990)

Factores de conversión de Nitrógeno a Proteína (FAO ; 1973)

Productos alimenticios	
Productos animales	Factor
Carnes y pescado	6,25
Gelatinas	5,55
Leche y productos lácteos	6,38
caseína	6,40
Leche humana	6,37
Huevos enteros	6,25
Albumina	6,32
Vitelina	6,12

Factores de conversión de Nitrógeno a Proteína (FAO , 1973)

Productos alimenticios vegetales	
Trigo	Factor
Entero	5,83
Salvado	6,31
Embriones	5,80
Endosperma	5,70
Arroz y harina de arroz	5,95
Centeno y harina de centeno	5,83
Centeno y harina de cebada	5,83
Avena	5,83
Mijo	6,31

Productos alimenticios vegetales	
Frejoles	6,25
Soya	6,32
Nueces	
Almendras	5,18
Nueces de Brasil	5,46
Maníes	5,46
Ostras	5,73

Conclusiones

- Los métodos más ampliamente utilizados y reconocidos como oficiales corresponden a Dumas y Kjeldahl.
- Varios estudios respaldan la aplicación del método de Dumas , también se ha establecido su correlación con método Kjeldahl .Cada laboratorio de acuerdo al equipamiento disponible debe establecer la validación del método y la aplicación de acuerdo a las matrices.
- El Laboratorio debe aplicar el método considerando la matriz , el contenido de proteína esperado y todas las consideraciones necesarias para asegurar el resultado.
- Como todos los métodos aplicables al etiquetado nutricional obligatorio , el método debe contar con validación y/o comprobación de acuerdo a la familia de matrices.
- De acuerdo a los métodos disponibles Kjeldahl y Dumas , se deben tomar algunas definiciones con respecto al contenido de nitrógeno no proteico , establecer los casos en que la relación NNP/NP es alta , definir para estas excepciones el descuento de NNP.

Conclusiones

- El laboratorio debe declarar en el informe de ensayo el factor utilizado y la autoridad considerar el factor declarado cuando realice la fiscalización.
- En el caso que en el futuro se defina trabajar con determinados factores , se debe dar un tiempo apropiado y razonable para realizar las modificaciones en caso de ser necesario.
- Evaluar la estandarización o utilización de un único factor de conversión.
- Es necesario señalar que los factores relativos a la toma de muestras y la homogeneización de la misma , son factores relevantes antes de aplicar el método de ensayo.
- A nivel país se debe continuar avanzando con la finalidad de obtener métodos y criterios estandarizados para todos los nutrientes que afectan directa o indirectamente la información nutricional contenida en el envase o en los discos de nutrientes críticos para cumplir con la ley 20606.