

¿Está hecho de azúcar?

Stephanie Kappes; Dra. Gabriele Zierfels.

Los carbohidratos constituyen la mayor parte de la biomasa sobre la Tierra: son producto de la fotosíntesis y forman parte de todas las plantas y de todos los materiales de origen vegetal. La cantidad y la composición de los carbohidratos contenidos en una muestra ofrecen, según el contexto, gran cantidad de información sobre ésta. Por esta razón, son objeto principal de análisis en diferentes áreas de trabajo.

Los carbohidratos están en todas partes

En la industria de la alimentación, el contenido de azúcares y carbohidratos son factores principales en la determinación del valor nutricional de alimentos y bebidas. En el análisis ambiental –por mencionar un ejemplo– el azúcar anhidro levoglucosano, producido por la pirólisis de celulosa, es analizado en aerosoles, actuando así como marcador para detectar combustión de biomasa. Estos son tan solo dos ejemplos acerca de las muchas aplicaciones en el análisis de carbohidratos.

Los carbohidratos están formados por una o varias unidades de monosacáridos, los cuales contienen un grupo carbonilo (grupo aldehído o cetona) y varios grupos hidroxilo [1]. Debido a que los mono-, di- y oligosacáridos son solubles

en agua, la cromatografía iónica es una técnica especialmente adecuada para su análisis, ya que opera principalmente en fase acuosa. De esta forma no se requiere una extracción de los analitos en fase orgánica, además, la determinación puede realizarse directamente.

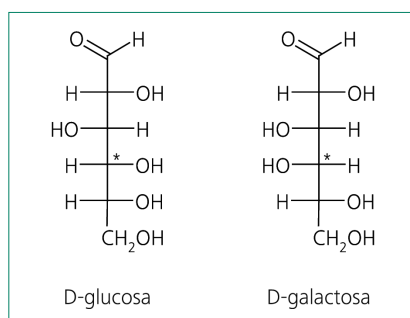


Figura 1. Fórmula estructural de glucosa y galactosa. Las moléculas se diferencian solo por la posición de los grupos OH ligados al átomo C4 (marcado con asterisco).

Se precisa de una columna cromatográfica de intercambio aniónico de alta capacidad, porque los azúcares son moléculas relativamente grandes, y en muchos casos presentan estructuras muy similares (por ejemplo, glucosa, y galactosa, véase Figura 1). Por esta razón, Metrohm ofrece la nueva columna Metrosep Carb 2.

Azúcares en alimentos

A partir de diciembre de 2016 la Unión Europea requiere la declaración del valor nutricional en la etiqueta de todos los productos alimenticios, con excepción de productos no procesados y los vendidos a granel (Decreto No. 1924/2006). Con ello será requerido lo que hoy en día ya se practica habitualmente, es decir la información sobre el valor calórico y el contenido de algunos componentes nutricionales, entre ellos azúcares

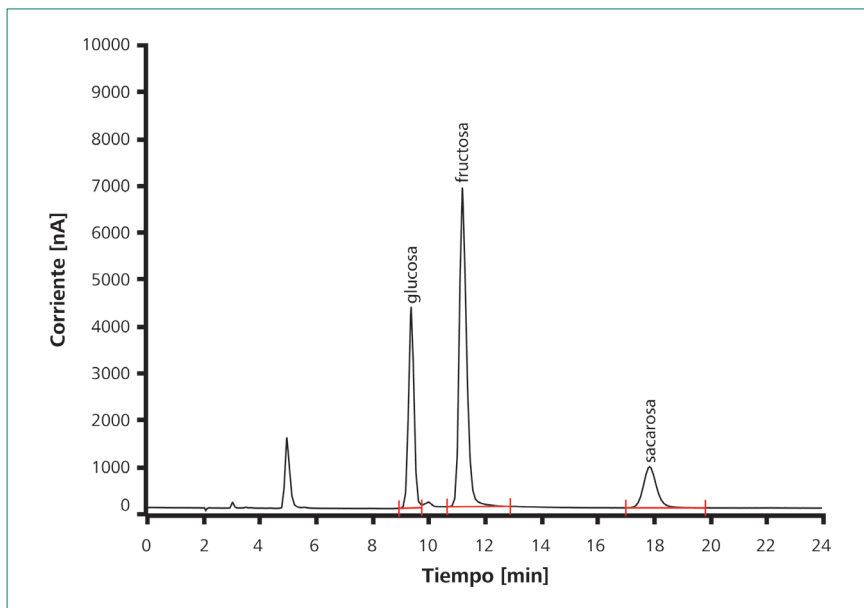


Figura 2. Determinación de glucosa, fructosa y sacarosa en zumo de manzana. Aparte de una simple dilución, no es necesaria una preparación adicional de la muestra.

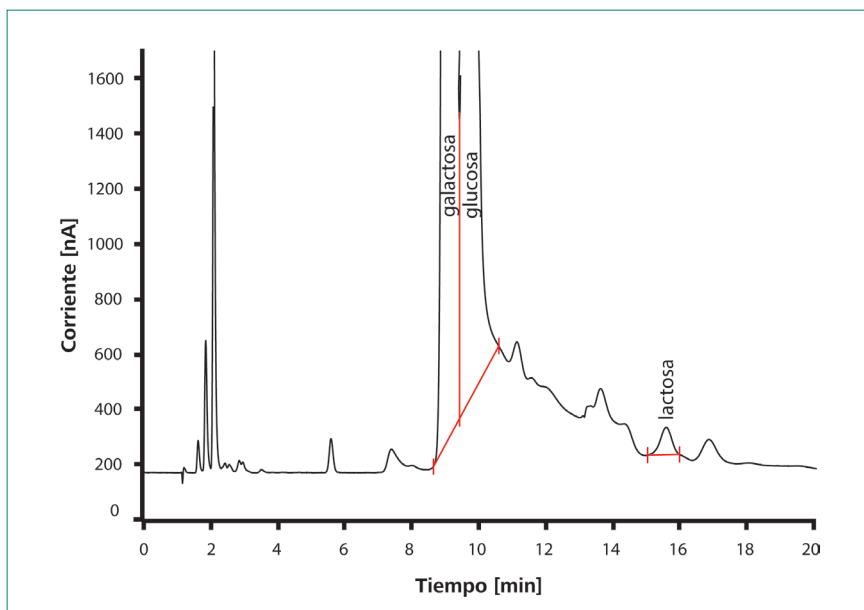


Figura 3. Determinación de lactosa residual en leche declarada como deslactosada y fortificada previamente con 100 mg/L de lactosa.

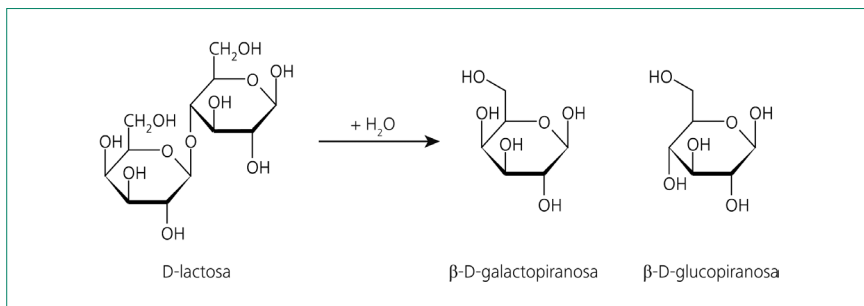


Figura 4. La lactosa está compuesta por los monosacáridos galactosa y glucosa. La hidrólisis enzimática de la lactosa aquí ilustrada es realizada por la enzima lactasa.

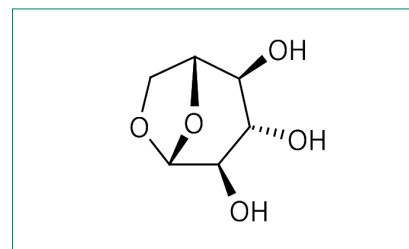


Figura 5. El levoglucosano (1,6-anhidro- β -D-glucopiranosas) se genera por la pirólisis de celulosa y por eso es utilizado como trazador para la detección de la combustión de biomasa.

y carbohidratos. Además del almidón, polímero de glucosa, los carbohidratos «disponibles», es decir los carbohidratos digeribles por los humanos, se encuentran en su mayoría en forma de azúcares. De acuerdo con la definición realizada por la UE son incluidos los mono- y disacáridos con la excepción de los alcoholes polivalentes. La mayoría de los azúcares presentes en los alimentos son los monosacáridos glucosa, fructosa y galactosa, así como los disacáridos sacarosa, lactosa y maltosa.

Análisis de zumo de manzana

El cromatograma de la Figura 2 se ha obtenido mediante el análisis de zumo de manzana, el cual ha sido diluido con agua ultrapura. No es necesaria una preparación adicional de la muestra. El eluyente alcalino utilizado (100 mmol/L hidróxido de sodio / 10 mmol/L acetato de sodio) facilita la presencia de los azúcares en su forma disociada (como aniones), pudiendo ser por tanto separados por una columna cromatográfica mediante el mecanismo de intercambio iónico.

Debido a que los carbohidratos son sustancias electroquímicamente activas, pueden ser detectados amperométricamente. Durante la detección amperométrica los analitos son oxidados en la superficie del electrodo de trabajo sobre el cual se aplica el correspondiente potencial de medida. Esta oxidación del analito proporciona una corriente directamente proporcional a su concentración.

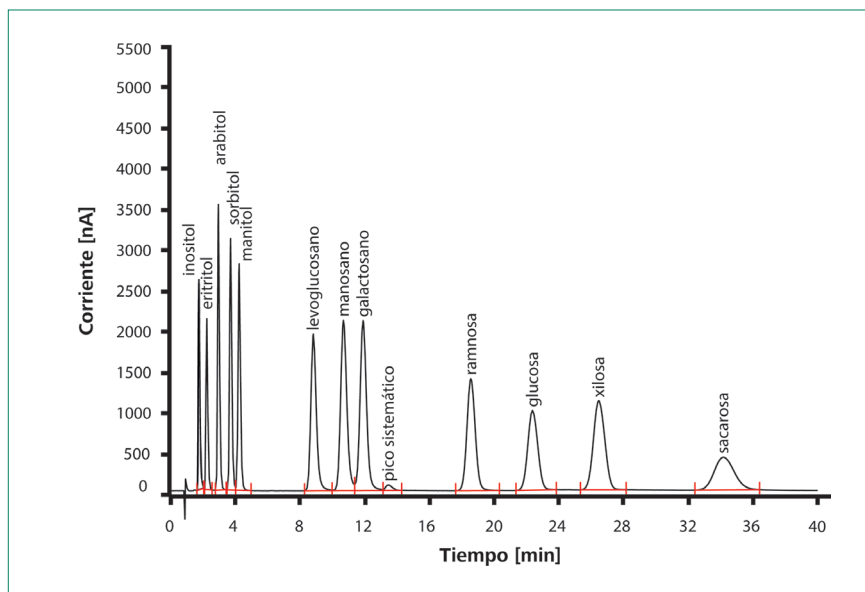


Figura 6. Determinación de marcadores de la combustión de madera (levoglucosano, manosano y galactosano) y de azúcares y alcoholes de origen biológico, presentes en aerosoles como el polen.

Debido a que si se aplica un potencial constante durante cierto tiempo se formarían depósitos sobre el electrodo de trabajo, el detector es operado en el modo PAD (Pulsed Amperometric Detection detección por amperometría pulsada). Este método se basa en la aplicación de tres potenciales diferentes, los cuales se repiten cíclicamente. De esta forma, después de la toma de medida de corriente, el electrodo de trabajo se limpia y acondiciona de forma cíclica y automática.

Lactosa residual en productos deslactosados

El ensayo principal en el control de calidad de productos definidos como deslactosados es la determinación de lactosa residual. El cromatograma de la Figura 3 muestra la determinación de lactosa en leche deslactosada, habiendo sido enriquecida previamente con 100 mg/L de lactosa. De nuevo la separación se realiza en medio alcalino (eluyente: 5 mmol hidróxido de sodio / 2 mmol acetato de sodio), y la detección mediante amperometría pulsada. Las altas concentraciones de galactosa y glucosa visibles en el cromatograma son el resultado de la hidrólisis enzimática de la lactosa en estos dos monosacáridos (Figura 4).

Debido al alto contenido en proteínas presentes en la muestra de leche, ésta debe ser dializada previamente a su análisis. Este paso se realiza de forma totalmente automatizada a partir de la técnica de preparación automática de muestras: Metrohm Inline Sample Preparation, y no requiere tarea adicional alguna por parte del analista.

Los carbohidratos como marcadores en el análisis ambiental

En muchos casos se sobrepasan los valores umbrales de aerosoles de bajo tamaño de partícula, establecidos para la protección de la salud. En la mayoría de los casos los principales causantes son el transporte y la industria, pero también se ha identificado la quema de madera para la calefacción en viviendas familiares como un posible causante de su presencia [2].

Para detectar la quema de madera, el levoglucosano es empleado como marcador (Figura 5). La Figura 6 muestra la determinación de una solución patrón, en la cual, a parte de levoglucosano, se analizan también manosano y galactosano – siendo éstos también productos resultantes de la combustión de biomasa –

así como varios azúcares y alcoholes de origen biológico, que típicamente se encuentran sobre partículas aerosoles. El empleo de una columna de alta capacidad como la Metrosep Carb 2 proporciona una separación excelente de todas estas especies, pudiendo ser así determinadas a partir de un único análisis.

La nueva columna para análisis de carbohidratos

La columna cromatográfica Metrosep Carb 2 destaca por su alta capacidad de intercambio iónico, y por tanto, por el alto número de grupos funcionales presentes en su fase estacionaria, permitiendo así obtener una excelente separación de los diferentes azúcares y carbohidratos en estudio. Las aplicaciones abarcan una amplia gama de posibilidades analíticas en diferentes áreas: análisis de agua y ambiente, industria farmacéutica y de alimentación, estudios forenses, industria cosmética, así como el control de calidad de biocarburantes.

Además de proporcionar el análisis de carbohidratos también es una columna apta para la determinación de aniones en muestras con alto contenido salino, donde otras columnas de más baja capacidad fracasan (ejemplo: determinación de aniones en aguas de mar).

Referencias

- [1] Ebermann, R. und Elmadfa, I. (2008): *Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung*. Springer-Verlag/Wien.
- [2] Bundesinstitut für Risikobewertung (2015): «Analyse des quantitativen Einflusses der Holzverbrennung auf die Feinstaubkonzentration in Berlin und Brandenburg anhand des Tracers Levoglucosan». Bajado el 18.05.2015 de http://www.bfr.bund.de/de/analyse_des_quantitativen_einflusses_der_holzverbrennung_auf_die_feinstaubkonzentration_in_berlin_und_brandenburg_anhand_des_tracers_levoglucosan__levoglucosan_-193056.html.

www.metrohm.com