

Análisis de mieles por Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Dra. Karenina Marcinkevicius

INTA EEA Famaillá-PROAPI-CONICET

Recientemente la utilización de la Resonancia Magnética Nuclear (RMN) ha ganado una amplia aceptación en el campo de las ciencias alimentarias como un método poderoso debido a sus ventajas sobre otras técnicas analíticas: es rápido, no destructivo, sensible y fácil de usar.

Esta técnica se basa en el comportamiento de ciertos núcleos atómicos con propiedades magnéticas en presencia de un campo magnético externo. Debido a su principio físico, la RMN permite la identificación y cuantificación simultánea de una gran cantidad de compuestos en una sola medición, utilizando un solo estándar de calibración y softwares especializados como Honey Profiling desarrollado por la empresa Bruker BioSpin, ALNuMed GmbH y QSI.

En Europa, en los últimos años es cada vez más frecuente su utilización para el análisis de miel. La RMN, permite tener una imagen completa de la composición intrínseca del producto; cada miel es única en su base química, la cantidad, y la combinación de los diversos componentes que le otorgan un carácter organoléptico único e individual.

En el análisis de mieles por RMN se distingue la utilización de dos técnicas, la resonancia magnética nuclear de campos bajos (LF 1H NMR) y la de obtención de perfiles monitoreando señales de hidrógenos específicos que mediante análisis multivariado permite determinar el origen botánico, geográfico y cuantificar determinados compuestos al comparar los resultados obtenidos con una base de datos de muestras con cobertura mundial.

LF 1H NMR

En combinación con técnicas quimiométricas, se aplica con éxito en el control de calidad de productos alimenticios. Los métodos LF 1H NMR se basan en la medición de la relajación de los protones, la cual se describe por el tiempo de relajación constante T1 (longitudinal) y T2 (transversal), donde la descomposición de relajación T2 en alimentos es multiexponencial, indicando la presencia de diferentes poblaciones de agua en los mismos.

La miel es un sistema de multicomponentes muy complejo y su perfil de relajación LF 1H NMR se puede modelar como una combinación lineal de tiempos de relajación característicos de los hidrógenos medibles presentes en su estructura. (Ribeiro y col., 2014).

La ventaja que presenta esta técnica, es que emplea como instrumento de medición un campo magnético de 13 MHz, siendo un equipo pequeño de mesada que no requiere la utilización de criogénicos para mantener ese campo; lo que abarata los costos de mantenimiento y del equipo en sí; haciéndolo accesible como equipamiento de laboratorio.

Análisis multivariado de perfiles de RMN

El principio se basa en la adquisición de la huella dactilar espectroscópica específica para cada muestra individual a través de un equipo de RMN de 400 MHz.

El método de análisis permite la identificación y cuantificación de más de 30 parámetros como HMF, ácido acético, acetoína, alanina, ácido cítrico, etanol, ácido fórmico, fructosa, glucosa, glutamina, ácido láctico, leucina, ácido málico, maltosa, melecitosa, fenilalanina, prolina, ácido quínico, ácido shikímico, ácido succínico, sacarosa, tirosina y valina. Esta lista se actualiza continuamente y permite la identificación y cuantificación retrospectiva sin la necesidad de volver a medir.

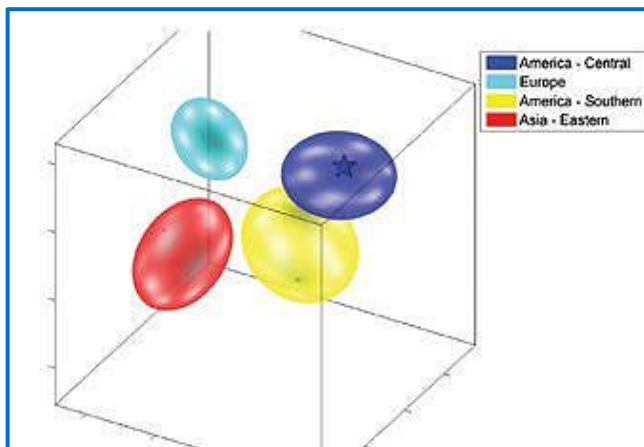


Figura 1. La imagen muestra la validación del origen geográfico de una miel multifloral de América Central. Figura obtenida de www.bruker.com.

La técnica resulta muy eficiente para la determinación del origen botánico/geográfico de las mieles; siendo estas últimas de gran interés comercial.

Actualmente, las técnicas más importantes para determinar o certificar el origen de las mieles monoflorales son el análisis melisopolinológico, la evaluación de las características organolépticas y en algunos casos la presencia de determinados marcadores químicos, aunque son técnicas que demandan mucho tiempo antes de aportar el resultado final.

En la misma medición, también es posible identificar la adulteración de mieles por adición de diferentes jarabes comerciales (azúcar de caña refinada, de remolacha, de arroz, jarabe de maíz con alto contenido de fructosa ó jarabe de maltosa). La discriminación entre miel adulterada y no adulterada y la autenticidad de la misma se ha convertido en un tema muy importante para los procesadores, minoristas y consumidores (Ribeiro y col., 2014).

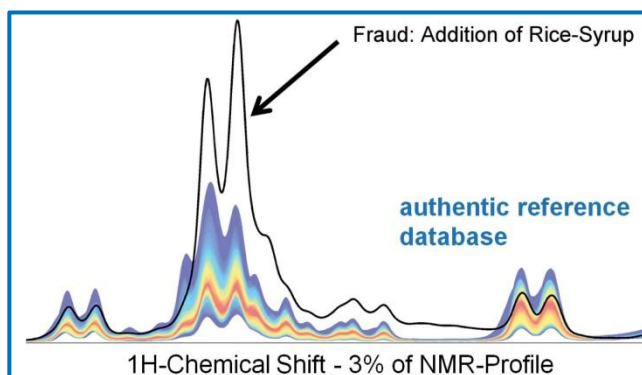


Figura 2. Adulteración de muestra de miel por incorporación de jarabe de arroz. Figura obtenida de www.bruker.com.

La adulteración de la miel también puede detectarse mediante diferentes técnicas analíticas, como la espectroscopía de infrarrojo cercano (NIR) (Zhu y col., 2010), Análisis elemental - Espectrometría de masa de relación isotópica (EAIRMS) (Simsek y col., 2012), cromatografía (Cordella y col., 2003, Cordella y col., 2005; Moralesa y col., 2008) y espectrometría de masas (Cotte y col., 2007). Aunque estos métodos son útiles para evaluar la adulteración, algunos consumen mucho tiempo y pueden ser costosos.

Ventajas de los perfiles de miel por RMN

- Variedad de información con una sola medición
- Reproducibilidad y comparabilidad
- Tiempos de medición corto
- Cuantificación simultánea de un amplio conjunto de parámetros
- Determinación de origen geográfico y botánico
- Detección de adulteración
- Identificación y cuantificación retrospectiva
- Alto nivel de confianza estadística, debido al desarrollo de una amplia base de datos y de rápido crecimiento que consiste en miles de muestras auténticas analizados por una multitud de métodos convencionales

Por lo que, la autenticación de los alimentos en los últimos años ha representado un desafío importante para garantizar una mejor calidad de los mismos. La RMN ha permitido el análisis de mezcla complejas como las mieles con resultados de alta calidad, constituyendo un sustituto adecuado a otras técnicas analíticas complejas y prolongadas. Además que posibilita la clasificación de origen geográfico/botánico, criterio importante para la certificación de origen de mieles, permitiendo incrementar el valor comercial de las mismas, y contribuir a la microeconomía de la región.

Referencias

- Cordella, C.B.Y.; Militão, J.S.L.T.; Clément, M.C.; Cabrol-Bass, D. (2003). Honey characterization and adulteration detection by pattern recognition applied on HPAEC-PAD profiles. 1. Honey floral species characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51 (11), 3234–3242.
- Cordella, C.B.Y.; Militão, J.S.L.T.; Clément, M.C.; Drajnudel, P.; Cabrol-Bass, D. (2005). Detection and quantification of honey adulteration via direct incorporation of sugar syrups or bee-feeding: preliminary study using high-performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAEC-PAD) and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 531 (2), 239–248.
- Cotte, J.F.; Casabianca, H.; Lheritier, J.; Perrucchiatti, C.; Sanglar, C.; Waton, H. (2007). Study and validity of C-13 stable carbon isotopic ratio analysis by mass spectrometry and H-2 Site specific isotopic measurements to characterize and control the authenticity of honey. *Analytic Chimica Acta*, 582 (1), 125–136.

- Morales, V.; Corzo, N.; Sanz, M.L. (2008). HPAEC-PAD oligosaccharide analysis to detect adulterations of honey with sugar syrups. *Food Chemistry*, 107 (2), 922–928.
- Ribeiro, R.d.O.; Mársico, E.T.; Carneiro, C.d.S.; Monteiro, M.L.G.; Júnior, C.C.; Jesus, E.F.O. (2014). Detection of honey adulteration of High Fructose Corn Syrup by Low field Nuclear Magnetic Resonance (LF 1H NMR), *Journal of Food Engineering*, 135, 39-43. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.03.009>.
- Simsek, A.; Bilsel, M.; Goren, A.C. (2012). 13C/12C pattern of honey from Turkey and determination of adulteration in commercially available honey samples using EA-IRMS. *Food Chemistry*, 130 (4), 1115–1121.
- Zhu, X.Y.; Li, S.F.; Shan, Y.; Zhang, Z.Y.; Li, G.Y.; Su, D.L.; Liu, F. (2010). Detection of adulterants such as sweeteners materials in honey using near-infrared spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Engineering*, 101 (1), 92–97.