

Capítulo 7

Examen de los métodos de análisis

En el presente examen de los métodos de análisis se exponen evaluaciones de sus aplicaciones y limitaciones, así como de los recursos necesarios. El objetivo del examen es orientar sobre la selección de métodos compatibles para los nutrientes y algunos otros componentes. Debido a la evolución continua de la química analítica, es casi imposible garantizar que el examen sea exhaustivo y que se tengan en cuenta en él todas las novedades recientes. El examen no proporciona protocolos analíticos detallados; para ellos, el lector tiene que consultar los textos especializados pertinentes.

En este examen se resumen en forma de cuadros los métodos disponibles para cada nutriente (o grupo de nutrientes). Las estimaciones de los costos de capital se dan con arreglo a tres categorías: bajos, cuando el método requiere equipo básico que se encuentra normalmente en el laboratorio; medios, cuando se requieren instrumentos especializados, pero cuyo costo suele ser inferior a 5 000 dólares de EE.UU.; altos, para indicar la necesidad de equipo especializado que suele costar más de 10 000 dólares de EE.UU.

Sistema proximal de análisis

El sistema proximal para el análisis ordinario de los piensos se diseñó a mediados del siglo XIX en la estación experimental de Weende, en Alemania (Henneberg y Stohmann, 1860, 1864). Se creó para obtener una clasificación muy amplia y con un nivel máximo de los componentes de alimentos. El sistema consiste en la determinación analítica del agua (humedad), las cenizas, las grasas brutas (extracción con éter), las proteínas brutas y la fibra bruta. El extracto libre de nitrógeno (ELN), que representa más o menos los azúcares y almidones, se calcula por la diferencia en lugar de medirlo mediante análisis.

Aunque algunos de los métodos utilizados tradicionalmente en el sistema proximal de análisis no se recomiendan para la preparación de bases de datos de composición de alimentos (por ejemplo, la fibra bruta), es conveniente examinar los conceptos aplicados, puesto que son los que han predominado en las opiniones sobre la composición de alimentos y su análisis. Este sistema se creó en un momento en el que sólo se conocía en parte la química de la mayoría

Cuadro 7.1 Métodos de análisis del agua

Procedimiento	Aplicabilidad	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Eliminación física del agua				
Horno de aire a 100 °C -105 °C	La mayoría de los alimentos, excepto los ricos en azúcares y grasas	Caramelización de los azúcares, degradación de las grasas insaturadas, pérdida de otras sustancias volátiles	Bajos	AOAC International, 2002; Anklam, Burke e Isengard, 2001; Nielsen, 1998
Horno de vacío a 60 °C	La mayoría de los alimentos	Pérdida de sustancias volátiles	Bajos	Como <i>supra</i>
Liofilización	La mayoría de los alimentos	Lento, agua residual en las muestras	Medios	Como <i>supra</i>
Horno de microondas	Humedad media o elevada	Carbonización	Bajos	Como <i>supra</i>
Destilación de Dean y Stark	Alimentos con alto contenido de sustancias volátiles	Inocuidad de los disolventes utilizados	Bajos	Como <i>supra</i>
Reactividad química				
Karl Fischer	Alimentos higroscópicos con escasa humedad		Bajos	Como <i>supra</i>
Métodos físicos				
RMN	La mayoría de los alimentos	Necesidad de calibración con un alimento específico	Altos	Bradley, 1998; Hester y Quine, 1976
NIR	Establecida para los cereales y algunos otros alimentos	Necesidad de una calibración amplia con un alimento específico. Dependencia del tamaño de las partículas	Altos	Williams, 1975
Cromatografía				
GLC	Carne y productos cárnicos		Altos	Reineccius y Addis, 1973
GSC	Algunos productos cárnicos		Altos	Khayat, 1974

Notas:

En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.

RMN = resonancia magnética nuclear; NIR = reflectancia en el infrarrojo cercano; GLC = cromatografía gas-líquido; GSC = cromatografía gas-sólido. Los costos de capital bajos, medios y altos se describen en el texto.

de los componentes de los alimentos. El desarrollo de las ciencias de la nutrición ha demostrado que para los estudios nutricionales se necesita un enfoque más detallado y con una orientación más bioquímica con respecto al análisis de los alimentos. No obstante, el análisis proximal, incluidos los métodos originales, sigue constituyendo la base del análisis de los piensos y de los alimentos con fines legislativos en muchos países.

Muchas personas consideran que el término «proximal» y el concepto al que denomina son útiles para representar los componentes principales que forman los alimentos; los métodos analíticos reales se independizan posteriormente. Otros opinan que la definición de «proximal» se basa en los métodos originales prescritos por Henneberg y Stohmann y que la sustitución de dichos métodos, por ejemplo, la fibra dietética en lugar de la fibra bruta, invalida la utilización del término.

Agua

Los valores del agua siguen siendo un componente esencial de las bases de datos de composición de alimentos, porque el contenido de agua es uno de los elementos más variables, especialmente en los alimentos vegetales. Esta variabilidad afecta a la composición del alimento considerado en conjunto. En el Cuadro 7.1 se resume la gama de métodos de análisis del agua.

Los métodos se basan en la medición directa o indirecta del agua eliminada del alimento, los cambios en las propiedades físicas que varían sistemáticamente con el contenido de agua o la medición de la reactividad química del agua (Egan, Kirk y Sawyer, 1987; AOAC International, 2002; Sullivan y Carpenter, 1993; Southgate, 1999; Bradley, 1998).

Para la mayor parte de los productos alimenticios que figuran en las bases de datos de composición de alimentos son suficientes los métodos de secado; aunque pueden observarse ligeras diferencias metodológicas, rara vez son significativas. En los métodos oficiales de la AOAC se recomienda una temperatura de secado más baja (70 °C) para los alimentos vegetales, a fin de reducir al mínimo la destrucción de carbohidratos. En estos casos, suele ser preferible utilizar el secado al vacío o la liofilización.

En el secado al vacío se consigue la máxima eficacia si se pasa una ligera corriente de aire seco a través del horno. Este sistema tiene la ventaja de que se pueden dejar las porciones analíticas desatendidas durante largos períodos de tiempo. Es preferible el secado al vacío a 60 °C-70 °C al secado en un horno de aire, en particular para los alimentos ricos en azúcares. Sin embargo, en la mayoría de los alimentos el secado en un horno de aire es satisfactorio a efectos de la base de datos de composición de alimentos.

La liofilización requiere una inversión mayor de capital, pero tiene la ventaja de que seca los alimentos en condiciones suaves. El material liofilizado es ligero, fácil transportar y también muy fácil de triturar. Sin embargo, el proceso suele dejar en él alguna humedad residual que hay que eliminar para obtener valores comparables con los de otros métodos de secado.

Cuadro 7.2 Métodos de análisis del nitrógeno y las proteínas

Procedimiento	Aplicabilidad	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Nitrógeno total				
Kjeldahl	Manual, todos los alimentos	Ligera interferencia del nitrógeno inorgánico	Bajos	AOAC International, 2002; Sullivan y Carpenter, 1993
	Automatizado, con varios niveles de complejidad	Ligera interferencia del nitrógeno inorgánico	Medios	
Dumas	Automatizado, todos los alimentos	Incluye el nitrógeno inorgánico. Tamaño de la porción analítica	Altos	AOAC International, 2002
Métodos radioquímicos	La mayoría de los alimentos	Necesidad de instrumentos	Muy altos	Pomerantz y Moore, 1975
Proteínas				
N total x factor	Todos los alimentos	Variaciones del NNP	Bajos	FAO/OMS, 1973
N proteico x factor	Preferible para las hortalizas, algunos pescados, alimentos con levadura, alimentos con insectos, leche materna	Elección del procedimiento para la medición del NNP. Es mejor utilizar el N de los aminoácidos	Bajos	Koivistoinen et al., 1996; Bell, 1963
Métodos aplicables a alimentos específicos				
Titulación con formol	Productos lácteos	Especificidad	Bajos	Taylor, 1957; AOAC International, 2002; Chang, 1998
Biuret	Como <i>supra</i>	Especificidad	Bajos	Noll, Simmonds y Bushuk, 1974; como para el formol
Reactivo de Folin	Como <i>supra</i>	Especificidad	Bajos	Lowry et al., 1951; Huang et al., 1976; como para el formol
Destilación alcalina	Cereales	Especificidad	Bajos	Chang, 1998
Fijación de colorantes	Alimentos específicos, algunos cereales, algunas legumbres	Especificidad	Bajos	Como para el formol
NIR	Establecido para algunos alimentos	Número de muestras de calibración	Altos	Hunt, W.H. et al., 1977

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.
 NNP = nitrógeno no proteico; NIR = reflectancia en el infrarrojo cercano

El secado en horno de microondas es muy rápido, pero requiere una vigilancia constante para evitar la carbonización. El secado con lámparas de infrarrojos se ha automatizado de manera muy satisfactoria (Bradley, 1998). Sin embargo, ambos métodos son más idóneos para el control de calidad ordinario.

Ninguno de los métodos mencionados hasta ahora es apropiado para los alimentos con un contenido elevado de componentes volátiles, debido a que éstos se arrastran con el agua. El método de Dean y Stark se puede utilizar para dichos alimentos cuando se requiere un valor del contenido de humedad. En este método, el agua se destila en forma de mezcla azeotrópica con un disolvente no miscible, como el tolueno, el xileno o el tetracloroetileno. El método está aprobado por la AOAC para las especias y el queso y ha alcanzado buenos niveles de precisión (AOAC International, 2002).

El método de Karl Fischer es especialmente útil para los alimentos con un contenido muy bajo de humedad y para los productos alimenticios higroscópicos que son difíciles de secar utilizando métodos tradicionales. Para las bases de datos de composición de alimentos raramente se requieren los niveles de exactitud que ha alcanzado.

Los métodos físicos para la medición del contenido de agua exigen instrumentos muy especializados y costosos y son apropiados sobre todo cuando hay un número muy elevado de muestras semejantes.

Los métodos de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR), por ejemplo, se han utilizado de manera proficua para el análisis de los cereales. El método requiere la calibración con un gran número de muestras, cuyos valores de humedad se miden por métodos tradicionales a fin de formular las ecuaciones analíticas. Los métodos de resonancia magnética nuclear (RMN), cromatografía gas-líquido (GLC) y cromatografía gas-sólido (GSC) también requieren una calibración detallada y tienen valor sobre todo para la medición de la distribución del agua en los alimentos y la determinación de las formas del agua en las carnes.

Nitrógeno y componentes nitrogenados

El examen de Lakin (1978) sigue conteniendo una exposición exhaustiva del análisis del nitrógeno y los componentes nitrogenados. Los métodos han sido sometidos también a breve examen por Sullivan (1993), al ocuparse de los métodos oficiales de la AOAC, Chang (1998) y Southgate (1999). En el Cuadro 7.2 se resume la gama de métodos.

Nitrógeno total

El sistema proximal, en el que se miden las «proteínas» como el nitrógeno total multiplicado por un factor específico, sigue siendo el predominante en los estudios sobre la composición de alimentos. Los valores más citados para las «proteínas» en las bases de datos de composición de alimentos se derivan en realidad de los valores del nitrógeno total o el nitrógeno orgánico total. En la mayoría de los casos, el nitrógeno total se mide utilizando alguna versión del método de Kjeldahl (1883), el cual mide el nitrógeno orgánico total. En este método se

digiere la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado caliente. Para elevar el punto de ebullición del ácido se le añade una «mezcla catalizadora», que normalmente contiene un verdadero agente catalítico (mercurio, cobre o selenio) junto con sulfato de potasio. Todo el nitrógeno orgánico se convierte en amoníaco, que se suele medir mediante titulación o, en ocasiones más raras, mediante colorimetría. En el método original se utilizaba una porción analítica relativamente grande (1 g-2 g), pero esto exige grandes cantidades de ácido. Es mucho más habitual el uso de métodos «microKjeldahl», puesto que producen una cantidad reducida de humos ácidos y también necesitan menos ácido y mezcla catalizadora. Las consideraciones ambientales ejercen una presión considerable para que se garantice la eliminación inocua del mercurio, y especialmente para que se reduzca al mínimo la utilización de ácido.

Los micrométodos pueden automatizarse en varios niveles (Egan, Kirk y Sawyer, 1987; Chang, 1998). La automatización de las fases de destilación y titulación funciona bien, pero en el caso de la digestión ha resultado bastante difícil.

El método de Dumas mide el nitrógeno total como gas nitrógeno después de la combustión completa del alimento. La comparación de los resultados obtenidos con los que se consiguen utilizando el método de Kjeldahl demuestra que están bastante de acuerdo (King-Brink y Sebranek, 1993). El método se ha automatizado con éxito y, aunque los instrumentos son caros, es posible aplicarlo a un número elevado de muestras con notable precisión. En el equipo se utilizan porciones analíticas muy pequeñas y es esencial que la porción analítica esté muy bien dividida.

También se puede utilizar la NIR para medir el nitrógeno en algunos alimentos, aunque se requiere un gran número de muestras de calibración.

Proteínas

Desde la introducción del sistema proximal de análisis, los valores de las «proteínas brutas» se han calculado multiplicando el nitrógeno total (N) por un determinado factor. Este factor era al principio 6,25, tomando como base la hipótesis de que las proteínas contenían un 16 por ciento de N. Desde hace bastante tiempo se sabe que las proteínas de origen vegetal (y la gelatina) contienen más N, por lo que se requiere un factor más bajo. Jones, Munsey y Walker (1942) midieron el contenido de nitrógeno de una amplia gama de proteínas aisladas y propusieron una serie de factores específicos para distintas categorías de alimentos. Estos factores, que se enumeran en el Cuadro 7.3, se han adoptado de manera generalizada y se utilizaron en el examen de las necesidades de proteínas de la FAO/OMS (1973). Varios autores han criticado el uso de estos factores tradicionales para los distintos alimentos (por ejemplo, Tkachuk, 1969). En Heidelbaugh *et al.* (1975) se evaluaron tres métodos diferentes de cálculo (aplicación del factor de 6,25, aplicación de factores tradicionales y suma de los datos de los aminoácidos) y se encontraron variaciones de hasta un 40 por ciento. Sosulski e Imafidon (1990) obtuvieron un factor medio de 5,68 basándose en el estudio de los datos de los aminoácidos y recomendaron el uso de un factor de 5,70 para alimentos mixtos.

En principio sería más apropiado basar las estimaciones de las proteínas en los datos de los aminoácidos (Southgate, 1974; Greenfield y Southgate, 1992; Salo-Väänänen y

Cuadro 7.3 Factores para la conversión de los valores de nitrógeno en proteínas (por g de N)*

<i>Producto alimenticio</i>	<i>Factor</i>	<i>Producto alimenticio</i>	<i>Factor</i>
Productos animales		Productos vegetales	
Carne y pescado	6,25	Trigo	
Gelatina	5,55	entero	5,83
Leche y productos lácteos	6,38	salvado	6,31
Caseína	6,40	embriones	5,80
Leche humana	6,37	endosperma	5,70
Huevos		Arroz y harina de arroz	5,95
enteros	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
		Mijo	6,31
		Maíz	6,25
		Frijoles	6,25
		Soja	5,71
		Nueces	
		almendras	5,18
		nueces del Brasil	5,46
		maníes	5,46
		otras	5,30

* (Cuando no se indica ningún factor específico, se debe utilizar el de 6,25 hasta que se haya determinado uno más apropiado).

Fuente: FAO/OMS, 1973.

Koivistoinen, 1996). Dichos datos se incorporaron al documento de consenso de la Segunda Conferencia Internacional sobre Bases de Datos de los Alimentos, celebrada en Lahti (Finlandia) en 1995, relativo a la definición de nutrientes en las bases de datos de composición de alimentos (Koivistoinen *et al.*, 1996).

Si se quiere adoptar estas recomendaciones, los datos de los aminoácidos deben incluir los valores de los aminoácidos libres además de los correspondientes a los aminoácidos proteicos, debido a que son equivalentes desde el punto de vista nutricional. Para los cálculos se requieren valores muy sólidos de los aminoácidos (medidos sobre el alimento), como se señala más adelante, y se parte de ciertas hipótesis relativas a las proporciones de ácido aspártico y glutámico presentes en forma de amidas y la corrección para el agua incorporada durante la hidrólisis. Es evidente que este sistema no resultaría muy rentable en comparación con el actual.

En el momento presente probablemente sea razonable mantener el método de cálculo actual, reconociendo que da valores convencionales para las proteínas y que dichos valores no corresponden a las verdaderas proteínas en sentido bioquímico. Sin embargo, es importante reconocer también que este método no es idóneo para algunos alimentos que son ricos

Cuadro 7.4 Métodos de análisis de los aminoácidos

Procedimiento	Aplicabilidad	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Cromatografía de intercambio iónico tras hidrólisis ácida	Todos los alimentos	Pérdidas hidrolíticas de los aminoácidos más lábiles y liberación lenta de los aminoácidos de cadena ramificada	Altos	AOAC International, 2002; De Geeter y Huyghebaert, 1992
Cromatografía líquida de alto rendimiento tras hidrólisis ácida	Todos los alimentos	Como <i>supra</i>	Altos	Como <i>supra</i>
Cromatografía de gases tras hidrólisis ácida y derivación	La mayoría de los alimentos	Es decisiva la elección de derivados	De medios a altos	Como <i>supra</i>
(Aminoácidos azufrados) Hidrólisis ácida tras la oxidación de los aminoácidos azufrados	La mayoría de los alimentos	Pérdidas hidrolíticas	Altos	Como <i>supra</i>
(Triptófano) Hidrólisis alcalina y cromatografía de intercambio iónico	La mayoría de los alimentos	Pérdidas hidrolíticas de otros aminoácidos	Altos	Moore y Stein, 1948; Landry y Delhave, 1993
(Triptófano y aminoácidos S) Colorimetría	La mayoría de los alimentos		Bajos	Blackburn, 1968; Christie y Wiggins, 1978
(Lisina disponible) Colorimetría	La mayoría de los alimentos		Bajos	Carpenter, 1960; Booth, 1971

Nota: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.

en nitrógeno no amínico y no proteico, por ejemplo, los peces cartilaginosos, muchos moluscos y crustáceos y, sobre todo, la leche materna humana, que contiene una concentración sustancial de urea.

Para el análisis de las proteínas de alimentos concretos se han perfeccionado varios métodos directos, basados en reacciones en las que intervienen grupos funcionales específicos de los aminoácidos presentes; así pues, no son aplicables a la medición de las proteínas en general. Entre dichos métodos figuran la titulación con formol (Taylor, 1957) y la reacción de Biuret (Noll, Simmonds y Bushuk, 1974). Un grupo muy utilizado de métodos colorimétricos se basa en la reacción con el reactivo de Folin, uno de los más usados para valoraciones bioquímicas en la industria lechera (Lowry *et al.*, 1951; Huang *et al.*, 1976). Estos métodos casi siempre se calibran con albúmina sérica bovina, que se puede encontrar con una gran pureza.

Los métodos de fijación de colorantes se han aplicado proficuamente en la industria lechera (Udy, 1971); se puede conseguir que la fijación de colorantes sea más sensible mediante la extracción del colorante (McKnight, 1977) y estos métodos se han incluido entre los oficiales de la AOAC. La mayor parte de estos métodos dependen de la calibración frente al método de Kjeldahl. Pomeranz, Moore y Lai (1977) han publicado una comparación de los métodos de Biuret, la NIR, la fijación de colorantes y la destilación alcalina en la medición de las proteínas de la cebada y la malta. Ribadeau-Dumas y Grappin (1989) han publicado un examen de las mediciones de las proteínas en la leche. En general, los métodos de fijación de colorantes tienen su máxima aplicación en el control de calidad ordinario del análisis de un gran número de tipos de muestras semejantes (Van Camp y Huyghebaert, 1996).

Aminoácidos

Antes de la aparición de la cromatografía de intercambio iónico (IEC), los distintos aminoácidos se medían por métodos colorimétricos o mediante ensayo microbiológico. Aunque con estos métodos se obtenían resultados aceptables, han quedado suplantados casi completamente por los procedimientos cromatográficos (Moore y Stein, 1948). En éstos se utilizan sistemas automatizados que permiten realizar análisis completos con rapidez y con niveles razonables de precisión.

En primer lugar, hay que liberar los aminoácidos de las proteínas por hidrólisis, que es la fase más crítica del análisis. La hidrólisis ácida, normalmente con ClH 6M en una solución libre de oxígeno, libera completamente la mayor parte de los aminoácidos. El triptófano se degrada totalmente en condiciones ácidas y la treonina, la serina y los aminoácidos azufrados se degradan en parte. Por consiguiente, para medir el triptófano se deben utilizar condiciones alternativas de hidrólisis. La cistina y la metionina se suelen proteger mediante una oxidación específica antes de la hidrólisis. Las pérdidas de treonina y serina dependen del tiempo y es necesario realizar hidrólisis sucesivas para estimar el ritmo de degradación y corregir los valores en consecuencia. En cambio, los aminoácidos de cadena ramificada se liberan lentamente en la hidrólisis y son necesarias hidrólisis sucesivas para estimar la liberación completa (Neitz, A., comunicación personal). Williams (1982) examinó el perfeccionamiento de las técnicas de IEC y analizó el uso de la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) como alternativa.

Las condiciones de la hidrólisis ácida exigen un ácido puro y una razón elevada de ácido:porciones analíticas del alimento. A pesar de todo, los productos alimenticios con un contenido elevado de carbohidratos reaccionan con frecuencia con los aminoácidos durante la hidrólisis, provocando pérdidas que son difíciles de cuantificar (Silvestre, 1997). Se ha propuesto la hidrólisis en fase de vapor como sistema que reduce al mínimo las pérdidas por degradación. En este método se hidroliza la muestra de alimento (o proteína) seca mediante condensación de ácido. El ClH 6M corresponde a la mezcla en ebullición constante para el ácido (De Geeter y Huyghebaert, 1992).

Los aminoácidos azufrados se suelen oxidar con ácido perbórmico antes de la hidrólisis. Se puede producir cierta cloración de la tirosina y con frecuencia se añade fenol al ácido para contrarrestarla. La hidrólisis debe llevarse a cabo en atmósfera de nitrógeno o preferiblemente en tubos sellados.

La hidrólisis se debe realizar en tres períodos de tiempo diferentes, de 24, 38 y 48 horas, para permitir la corrección por la lentitud de la liberación y las pérdidas por degradación. Si se hidroliza albúmina sérica bovina pura como patrón, también se debe hacer durante los mismos períodos de tiempo.

El triptófano se mide después de una hidrólisis alcalina (KOH, Ba(OH)₂ o LiOH) (Landry y Delhave, 1993). Es práctica habitual medir la leucina en el hidrolizado para ajustar los valores, de manera que estén en consonancia con la hidrólisis ácida. Se han utilizado varios reactivos y derivados precolumna y postcolumna alternativos, pero el de uso más generalizado es probablemente la ninhidrina, a pesar de su inestabilidad. La mayoría de los demás reactivos presentan variaciones en cuanto a su sensibilidad. También se ha utilizado la cromatografía de gases capilar, pero la tasa de reacción de la mayor parte de los reactivos varía con los distintos aminoácidos.

Al calcular los resultados de los análisis de los aminoácidos es importante expresar sus valores como mg de aminoácido por g de nitrógeno aplicado a la columna. Como verificación en los análisis, es también importante calcular la recuperación de nitrógeno en forma de aminoácidos y amoníaco a partir de los aminoácidos medidos. Normalmente habrá algunas pérdidas durante la hidrólisis y la cromatografía. Si se comprueba que las pérdidas son superiores al 10 por ciento, hay que plantearse la repetición de la hidrólisis.

A partir de 1990, los métodos de HPLC de los aminoácidos derivados han sustituido la IEC para el análisis de los hidrolizados de proteínas en la mayor parte de los laboratorios, ya que es menor el tiempo de análisis y los límites de detección mejoran alrededor de 1 picomol (pmol) (Cohen y Strydom, 1988; Davey y Ersser, 1990; Sarwar y Botting, 1993).

La HPLC se puede utilizar para separar aminoácidos en columnas de intercambio iónico con derivación postcolumna con ninhidrina o con o-ftaldialdehído (Ashworth, 1987), o bien mediante derivación precolumna seguida de separación en octilsílice u octadecilsílice en fase inversa (Cohen y Strydom, 1988). Para el análisis de los aminoácidos en los hidrolizados de proteínas, se está generalizando el uso de la HPLC en fase inversa, con derivación precolumna con fenilisotiocianato, como alternativa más económica a los análisis de aminoácidos comerciales utilizando la IEC. El método de derivación con fenilisotiocianato permite determinar con

exactitud en 12 minutos todos los aminoácidos importantes desde el punto de vista nutricional excepto el triptófano, mientras que un método de cromatografía líquida que no requiere derivación permite la determinación del triptófano en unos ocho minutos (Sarwar y Botting, 1993).

En el Cuadro 7.4 se resume la gama de métodos.

Lisina disponible

La lisina puede no estar nutricionalmente disponible en determinadas condiciones que llevan a la reacción del grupo ϵ -amino con un carbohidrato. Esta reacción reduce el valor biológico de la proteína. Utilizando el método de Carpenter (1960), se puede medir la lisina disponible mediante su reacción con 2,4-fluorodinitrobenzoceno. Este método ha sufrido numerosas modificaciones (Williams, 1982). La separación de la ϵ -dinitrofenil lisina mediante HPLC se describe en Peterson y Warthesen (1979).

Otras sustancias nitrogenadas

Varios grupos de alimentos, como el pescado y otros alimentos marinos, las carnes, los hongos y las hortalizas, contienen una serie de materiales nitrogenados, aminos (Steadman, 1999) y ácidos nucleicos. Muchos de éstos reaccionan con la ninhidrina y se pueden separar mediante IEC. Munro y Fleck (1966) examinaron los métodos para los ácidos nucleicos. También se pueden separar mediante HPLC y detectarse por su fuerte absorción ultravioleta (UV).

Componentes de los lípidos

La FAO y la OMS (1994) recomendaron que se tuviera amplio acceso a los datos apropiados de composición de alimentos referidos a las grasas y que en los análisis sobre el contenido de ácidos grasos de los alimentos y en la elaboración de bases de datos de nutrientes se emplearan métodos normalizados y materiales de referencia. El informe ofrece una buena cobertura de las sustancias y las cuestiones nutricionales de interés. Christie (2003) es una referencia fundamental para el análisis de los lípidos.

En el sistema proximal de análisis, las «grasas» se miden como la fracción del alimento que es soluble en disolventes de lípidos. El material extraído contiene una serie de clases diferentes de sustancias. A efectos nutricionales, la medición de las «grasas totales» tiene un valor limitado; no obstante, se sigue notificando con frecuencia y se mantiene en muchos requisitos de etiquetado de los alimentos y en la reglamentación sobre la composición de los productos alimenticios.

En el Cuadro 7.5 se resume la gama de métodos.

Grasas totales

Los valores obtenidos para la grasas totales o el material total soluble en disolventes de lípidos dependen en gran medida del método. Carpenter, Ngeh-Ngwainbi y Lee (1993), en su examen para los métodos de etiquetado nutricional de la AOAC, definieron el carácter de los problemas

con los que se encontraron. Gurr (1992) y Gurr, Harwood y Frayn (2002) han analizado con detalle los métodos disponibles para separar las distintas clases de lípidos.

El método clásico se basa en una extracción continua realizada sobre muestras secas de alimentos en un extractor Soxhlet, en ocasiones precedida de hidrólisis ácida. Esta técnica requiere mucho tiempo y mantiene los lípidos extraídos a temperatura elevada durante largos períodos. Sin embargo, su principal inconveniente es que las extracciones de lípidos son incompletas para muchos alimentos, especialmente los productos cocidos al horno o los que contienen una cantidad considerable de grasa estructural. El disolvente de extracción es con frecuencia el destilado de petróleo (menos inflamable que el éter dietílico y con menos probabilidades de formar peróxidos), que requiere porciones analíticas completamente secas y la eliminación de los monosacáridos y disacáridos. Los valores obtenidos utilizando este método tienen que someterse a un cuidadoso análisis antes de su inclusión en una base de datos y no se recomienda su uso continuado.

En varios sistemas automatizados del tipo «Foss-Let» se utilizan otros disolventes, por ejemplo, el tricloroetileno; parece que con ellos se obtienen extracciones más completas (Pettinati y Swift, 1977).

Se ha demostrado que con el uso de mezclas de disolventes polares y no polares se extraen prácticamente todos los lípidos de la mayor parte de los alimentos. Sin embargo, en el caso de los productos cocidos al horno (cereales) la extracción de las grasas puede ser incompleta. Es bien conocida la extracción con cloroformo-metanol (Folch, Lees y Stanley, 1957; Bligh y Dyer, 1959), que combina la capacidad de penetración en el tejido del alcohol con el poder de disolución de la grasa del cloroformo. Los extractos obtenidos son completos, pero también pueden contener material no lipídico y puede ser necesaria una nueva extracción para eliminarlo. Este método de extracción es preferible cuando después se van a medir en el extracto los ácidos grasos y los esteroides (Sheppard, Hubbard y Prosser, 1974). El método es eficaz para los alimentos mixtos y está incluido en los métodos oficiales de la AOAC. Se ha demostrado que es útil para alimentos como los sesos y los huevos, ricos en fosfolípidos (Hubbard *et al.*, 1977). La medición de los lípidos después de un tratamiento ácido (métodos de Weibull y Schmid) o alcalino (método de Röse Gottlieb) también permite realizar una buena extracción de muchos alimentos. Estas técnicas están reconocidas como métodos reglamentados por la AOAC y la Unión Europea. Los métodos alcalinos se utilizan casi exclusivamente para los productos lácteos alimenticios y son el método aprobado para dichos alimentos. Los extractos de los tratamientos ácido y alcalino no son adecuados para el análisis de los ácidos grasos, porque puede haber algún grado de oxidación y de pérdidas a causa de la hidrólisis (ácida) de las grasas. La AOAC ha adoptado métodos para determinar las grasas totales (incluidas las saturadas, las insaturadas y las monoinsaturadas) en los alimentos utilizando la hidrólisis ácida y la cromatografía de gases capilar (Ngeh-Ngwainbi, Lin y Chandler, 1997; House, 1997) de conformidad con la definición de grasas de la Ley de Etiquetado y Educación Nutricional (NLEA) como la suma de los ácidos grasos expresados como triacilgliceroles.

Algunas clases de lípidos muestran bandas fuertes de absorción de grupos carbonilo en la región infrarroja. Se ha utilizado la NIR para las legumbres (Hunt, W.H. *et al.*, 1977) y para

Cuadro 7.5 Métodos de análisis de los lípidos

<i>Procedimiento</i>	<i>Aplicación</i>	<i>Limitaciones</i>	<i>Costos de capital</i>	<i>Algunas referencias</i>
Grasa total				
Extracción continua (disolvente único)	Alimentos con poca humedad (muestras analíticas secas)	Extracción incompleta de numerosos alimentos. Requiere mucho tiempo. Los extractos no se pueden utilizar para estudios de ácidos grasos	Bajos	Sullivan y Carpenter, 1993
Hidrólisis ácida	Todos los alimentos, excepto los productos lácteos y con mucho azúcar	Hidrólisis parcial de lípidos. Los extractos no se pueden utilizar para estudios de ácidos grasos	Bajos	AOAC International, 2002; Sullivan y Carpenter, 1993
Hidrólisis y GLC capilar	La mayoría de los alimentos (conformidad con la NLEA)		Altos	Ngeh-Ngwainbi, Lin y Chandler, 1997; House, 1997
Extracción con mezcla de disolventes	Rápido y eficaz para muchos alimentos. El extracto se puede utilizar para mediciones de ácidos grasos	Extracción completa de la mayoría de los alimentos. A menudo hay que purificar los extractos	Bajos	Bligh y Dyer, 1959; Hubbard <i>et al.</i> , 1977
Hidrólisis alcalina	Productos lácteos alimenticios	Validado sólo para los productos lácteos alimenticios	Bajos	AOAC International, 2002
NIR	Establecido para los cereales	Requiere una amplia calibración frente a otros métodos	Altos	Hunt, W.H. <i>et al.</i> , 1977
Triacilglicerolos				
Serie de métodos cromatográficos	Todos los alimentos	Los ácidos grasos libres pueden interferir. Útiles las verificaciones de TLC	Medios	Gurr, Harwood y Frayn, 2002

(continúa)

Cuadro 7.5 (continuación)

Procedimiento	Aplicación	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Ácidos grasos				
GLC	Todos los alimentos previa transmetilación	Validado para la mayoría de los alimentos	Altos	AOCS, 1998
HPLC	En fase de perfeccionamiento	No tiene por ahora ventajas demostradas sobre la GLC	Altos	Gurr, Harwood y Frayn, 2002
Ácidos grasos trans				
GLC con análisis de infrarrojo	Todos los alimentos	Disponibilidad de patrones auténticos para algunos isómeros	De medios a altos	Como <i>supra</i>
Absorción de infrarrojos	Todos los alimentos	Algunas interferencias	Altos	Como <i>supra</i>
GLC	Todos los alimentos	Se requieren técnicas capilares	Altos/medios	Como <i>supra</i>

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.

GLC = cromatografía gas-líquido; NLEA = Ley de Etiquetado y Educación Nutricional; NIR = reflectancia en el infrarrojo cercano; TLC = cromatografía en capa fina; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento.

otros productos alimenticios (Cronin y McKenzie, 1990). La utilización efectiva de este método depende de una amplia calibración frente a matrices comparables utilizando otro método aprobado; por este motivo la técnica se aplica casi siempre en análisis ordinarios de números elevados de muestras muy semejantes, para alimentos como los cereales y los productos lácteos.

Triacilgliceroles

Aunque es probable que la composición de los triacilgliceroles (triglicéridos) tenga importancia nutricional, son pocas las bases de datos que contienen información al respecto. No se han puesto a punto de manera general métodos para la separación de los distintos componentes (Gurr, Harwood y Frayn, 2002). Se ha utilizado la cromatografía en capa fina combinada con otros tipos de cromatografía. Se pueden determinar los valores totales separando los ácidos grasos libres de los lípidos totales y se pueden utilizar para dar un valor «por diferencia». Se han propuesto técnicas de HPLC para el fraccionamiento completo de los triacilgliceroles (Patton, Fasulo y Robbins, 1990a,b; González *et al.*, 2001).

Ácidos grasos

El método preferible para el análisis es la separación por GLC de los ésteres de metilo de los ácidos grasos preparados por transmetilación de los extractos lipídicos de los alimentos. La preparación de materiales de relleno de la columna, técnicas capilares y sistemas de amplificación de los detectores ha permitido hacer más general la aplicación del método para la separación de formas isotópicas y ácidos grasos de cadena más larga. La técnica publicada por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (UIQPA) (Paquot y Hautfenne, 1987) constituye el procedimiento básico.

El método exacto que se elija dependerá del alimento que se vaya a analizar y de los ácidos grasos de particular interés. Muchos usuarios están especialmente interesados en los ácidos grasos n-3 y n-6, los ácidos *trans* y los niveles de ácidos grasos de cadena larga como el ácido eicosapentaenoico y el ácido docosahexaenoico. La automatización de la inyección de las muestras y la informatización de los cromatógrafos han aumentado los costos del aparato analítico, pero han mejorado enormemente la exactitud, la precisión y los resultados de los análisis. Los métodos de la *American Oil Chemists' Society* (Sociedad Americana de Químicos del Aceite) (AOCS, 1998) son los siguientes: Método n.º Ce 1-62 (método de columna de relleno para los ésteres de metilo de los ácidos C9-C24 y las grasas animales), método n.º Ce 1b-89 (método capilar para los aceites marinos y para los ésteres de etilo o de metilo de los ácidos C14-C24, con valores porcentuales relativos y concentraciones de ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico en mg/g), método n.º Ce 1c-89 (método capilar para los ácidos grasos, los isómeros *trans* y los isómeros *cis* y *cis* interrumpidos por un grupo metileno en los aceites vegetales), método n.º Ce 1e-91 (método capilar para los ácidos grasos C4-C24) y método n.º Ce 1f-96 (método capilar para los ácidos grasos *cis* y *trans* en las grasas y aceites hidrogenados y refinados).

Los detectores de infrarrojos son útiles en la medición de los ácidos grasos *trans* (AOAC International, 2002). La principal dificultad radica en la asignación de una identidad inequí-

voca a los isómeros. Para esto se requieren buenos patrones o la combinación de la separación mediante GLC con la espectrometría de masas (Beare-Rogers y Dieffenbacher, 1990), lo cual puede resultar poco práctico para algunos países en desarrollo.

La absorción infrarroja es en la actualidad el método preferido para la medición de los ácidos grasos *trans* en los aceites de pescado hidrogenados. En la medición mediante GLC de los ácidos grasos *trans* en aceites vegetales parcialmente hidrogenados utilizando un detector de ionización de llama a menudo se subestima el contenido de ácidos grasos *trans*, incluso en columnas capilares muy largas y muy polares (Aro *et al.*, 1998).

Los laboratorios de composición de los alimentos que carecen de instrumentos de GLC no suelen realizar mediciones de ácidos grasos, pero pueden solicitar la cooperación de un laboratorio que disponga de los recursos de capital necesarios. Las muestras pueden transferirse al laboratorio en forma de grasas (para lo cual se requiere almacenamiento refrigerado durante el tránsito y la adición de un antioxidante) o de ésteres de metilo (que también hay que proteger de la oxidación). Es importante verificar estas condiciones con el laboratorio que realiza los análisis para evitar la interferencia de los antioxidantes durante la cromatografía.

La insaturación de una grasa puede estimarse mediante la determinación del valor del yodo (UIQPA, 1979; AOAC International, 2002); ésta sigue siendo una técnica útil cuando no se realizan análisis completos de los ácidos grasos.

Esteroles

En los análisis nutricionales del pasado se ponía de relieve la medición del colesterol, pero la atención se está desplazando hacia la medición de otros esteroides, especialmente los fitosteroides.

Colesterol. Las técnicas más antiguas, en las que se utilizaban métodos gravimétricos y colorimétricos, se consideran ahora anticuadas y ya no se aplican. Los métodos preferidos son los cromatográficos, con un uso generalizado de la GLC de una serie de derivados separados en columnas de baja polaridad (Punwar, 1975; Hubbard *et al.*, 1977). Un problema con el análisis de los esteroides en general es que la mayor proporción de otros lípidos en la mayoría de los alimentos limita la aplicación de los métodos al extracto lipídico directamente.

Antes de preparar los derivados es necesaria una saponificación. El uso de derivados del trimetilsililo se ajusta a las normas exigidas por la AOAC (Carpenter, Ngeh-Ngwainbi y Lee, 1993) para su utilización con mezclas de alimentos. Los procedimientos son algo complejos y se han propuesto métodos simplificados que requieren menos tiempo para la preparación de las muestras (Thompson y Merola, 1993).

Las mejoras introducidas en la GLC capilar han servido de base para la elaboración de procedimientos que no requieren derivaciones y que cumplen las normas apropiadas (Jekel, Vaessen y Schothorst, 1998).

Otros esteroides. El método descrito más arriba también se puede utilizar para la separación y medición de la serie de fitosteroides presentes en la dieta (Jonker *et al.*, 1985), al igual que la derivación con trimetilsililo (Phillips, Tarrogo-Trani y Stewart, 1999).

Fosfolípidos

En un examen exhaustivo de los fosfolípidos publicado en 1973 (Ansell, Hawthorne y Dawkins.) se resumían los procedimientos analíticos disponibles. Posteriormente se perfeccionaron las técnicas de HPLC (Hammond, 1982; Patton, Fasulo y Robbins, 1990a,b), que son los métodos preferidos en la actualidad. Gunstone, Harwood y Padley (1994) presentan un panorama general de los métodos para la medición de la gama de fosfolípidos.

Carbohidratos

La gama de carbohidratos que se encuentran en la alimentación humana (véase el Cuadro 4.3 *supra*) ilustra el carácter de la tarea que afronta el analista que desea seguir las recomendaciones publicadas por la FAO/OMS (1998) para medir por separado los carbohidratos presentes en los alimentos. Naturalmente, no todos los tipos de carbohidratos están en todos los tipos de productos alimenticios.

Las propiedades metabólicas y fisiológicas distintivas de los diferentes carbohidratos ponen de relieve el hecho de que, con fines nutricionales, no es adecuado considerar los carbohidratos como un componente único de los alimentos.

El cálculo de los «carbohidratos por diferencia» utilizando el sistema proximal de análisis de Weende descrito al comienzo de este capítulo reflejaba la situación de los conocimientos acerca de la química de los carbohidratos en aquel momento. Además, el sistema se diseñó para los piensos, especialmente los destinados a los rumiantes, por lo que la mayor parte de los carbohidratos se digerirían en el rumen excepto la lignina-celulosa, de la cual daba una medida aproximada la fibra bruta.

A efectos nutricionales, los carbohidratos pueden dividirse en tres grupos en función del grado de polimerización:

- azúcares (monosacáridos y disacáridos);
- oligosacáridos (polímeros que contienen de tres a nueve unidades de monosacáridos o ácido urónico);
- polisacáridos (polímeros que contienen más de nueve unidades), comprendidos en dos categorías generales: α -glucanos (almidones, productos de la hidrólisis del almidón y glucógeno) y un grupo mucho más diversificado de no α -glucanos (polisacáridos no amiláceos [PNA], que son los principales componentes de la fibra dietética).

Estas agrupaciones químicas amplias no se corresponden con exactitud con las propiedades fisiológicas o con las fracciones analíticas. El analista que tiene que realizar el análisis de los carbohidratos, en particular los PNA, está «obligado a buscar un compromiso entre el ideal de separar los numerosos componentes y medirlos o un plan con una base totalmente empírica» (Southgate, 1969). En muchos casos un alimento contiene una gama limitada de carbohidratos y se pueden utilizar procedimientos más sencillos para su análisis (Southgate, 1991).

En los Cuadros 7.6 a 7.8 se resume la gama de métodos.

Cuadro 7.6 Métodos de análisis de los azúcares

Método	Aplicación	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Peso específico	Soluciones de azúcares	Exacto para la sacarosa	Bajos	AOAC International, 2002; Southgate, 1991
Índice de refracción	Soluciones de azúcares	Se requiere calibración empírica	Bajos	Como <i>supra</i>
Polarimetría	Azúcares aislados, mezclas simples	Es esencial una estrecha atención a los métodos normalizados	Bajos	Como <i>supra</i>
Reductimetría	Azúcares reductores, mezclas de azúcares invertidos	Azúcares no reductores	Bajos	AOAC International, 2002
Colorimetría	Azúcares aislados, mezclas simples	Especificidad	Bajos	Southgate, 1991; Hudson <i>et al.</i> , 1976; Hudson y Bailey, 1980
Métodos de enzimas específicas	Glucosa, mezclas complejas	Los reactivos pueden ser caros	Bajos	Bergmeyer, 1974
GLC	Mezclas complejas	Necesidad de derivados	Medios	Englyst, Quigley y Hudson, 1994
HPLC	Mezclas complejas	Elección de la columna, detectores	De medios a altos	Southgate, 1991; Shaw, 1988; Englyst, Quigley y Hudson, 1994

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados. GLC = cromatografía gas-líquido; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento.

Azúcares

Para el análisis de los azúcares libres en los alimentos se pueden utilizar diversos métodos; la elección depende primordialmente de la composición cualitativa de los azúcares libres presentes en el producto alimenticio. Cuando hay una sola especie de carbohidratos, se puede utilizar prácticamente cualquier procedimiento, pero la mayoría de los alimentos contienen una mezcla de tres o más componentes, cuya separación es necesaria para obtener resultados exactos. Existen métodos enzimáticos específicos para el análisis de ciertas mezclas comunes sin separación.

Los métodos para los azúcares libres (y los ácidos urónicos) sirven de métodos analíticos finales para la mayor parte de los polímeros más elevados de carbohidratos tras la hidrólisis y la separación de los componentes.

La evolución de los métodos sigue un camino paralelo al del perfeccionamiento de las técnicas analíticas, que va unido a la presión de la demanda de resultados analíticos. Así pues, al principio se establecieron técnicas físicas para el análisis de soluciones de sacarosa en la industria del refinado del azúcar. También se pusieron a punto para esta industria los métodos de reducción del azúcar y, posteriormente, se perfeccionaron y codificaron sus protocolos bajo los auspicios de la Comisión Internacional de Métodos Uniformes para el Análisis del Azúcar (CIMUADA, 1982). Estos métodos siguen dando resultados satisfactorios siempre que se sigan escrupulosamente los protocolos.

Más tarde se prepararon técnicas colorimétricas, con la llegada de métodos perfeccionados para la evaluación de la densidad óptica aunque la medición consistía al principio en la comparación visual de las soluciones. Los diversos reactivos cromogénicos para las distintas clases de monosacáridos y los ácidos urónicos intervienen casi siempre en reacciones en ácidos concentrados, aunque la colorimetría se basa en métodos de reducción y en un pequeño número de casos en otras reacciones (Hudson *et al.*, 1976). Los métodos no son especialmente sólidos, pero en mezclas de azúcares simples con un control de calidad apropiado dan resultados válidos. Los métodos no son realmente específicos, lo cual limita su utilización para el análisis de mezclas (Hudson y Bailey, 1980).

Se han preparado métodos de enzimas específicas, de los cuales el más importante es el de la glucosa-oxidasa, con un resultado final colorimétrico. Una serie de reacciones encadenadas con NADPH-NADP utilizando enzimas específicas permite el análisis de mezclas de glucosa/fructosa, glucosa/fructosa/sacarosa y maltosa/galactosa (Southgate, 1991).

La cromatografía, inicialmente en papel o en placas de sílice, proporcionó buenos resultados de separación y métodos semicuantitativos, pero era difícil conseguir técnicas de intercambio iónico.

El análisis mediante cromatografía de gases dependía de la preparación de derivados volátiles idóneos. Al principio, la trimetilsililación proporcionaba derivados apropiados para el análisis de mezclas de azúcares, aunque los cromatogramas eran muy complejos. El método más utilizado y más potente para el análisis de mezclas consiste en la reducción de los monosacáridos a los alditoles y la acetilación.

Ahora hay columnas de HPLC que permiten una buena separación de las mezclas de azúcar sin necesidad de preparar derivados. Los primeros detectores utilizaban índices de

Cuadro 7.7 Métodos de análisis de los polioles y los oligosacáridos

Método	Aplicación	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Polioles				
Métodos enzimáticos específicos	Limitada a unos pocos alcoholes	Especificidad de enzimas	Medios	
HPLC	Mezclas complejas	Falta de procedimientos normalizados; elección de columna	De medios a altos	Southgate, 1991
Oligosacáridos				
Procedimientos enzimáticos específicos	Hidrólisis y separación selectivas	Especificidad de enzimas	De medios a altos	Bergmeyer, 1974
GLC	Mezclas complejas	Elección de columna	De medios a altos	Quigley, Hudson y Englyst, 1997

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.
HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento; GLC = cromatografía gas-líquido.

refracción para medir los picos eluidos, pero éstos son relativamente insensibles y se han sustituido por el detector amperométrico de pulsaciones, que ha mejorado la sensibilidad.

Poliolios (alcoholes de azúcares)

Los poliolios no abundan en los alimentos. Algunos pueden medirse mediante métodos enzimáticos específicos, aunque se suelen usar más los métodos de HPLC.

Oligosacáridos

Tienen una distribución amplia, especialmente en las hortalizas. Los maltooligosacáridos se encuentran sobre todo en alimentos con hidrolizados parciales de almidón y preparaciones a base de jarabe de glucosa como ingredientes. Los maltooligosacáridos son hidrolizados por enzimas del borde estriado y son «carbohidratos glucémicos» que es necesario medir por separado.

Los fructooligosacáridos se utilizan cada vez más como ingredientes y se deben medir previa hidrólisis con fructano-hidrolasas específicas. Los galactooligosacáridos restantes también se deben medir previa hidrólisis enzimática específica. Las técnicas de separación de la GLC, y en particular la HPLC, constituyen asimismo métodos potentes para el análisis de estos oligosacáridos (Quigley, Hudson y Englyst, 1997).

Polisacáridos

A efectos nutricionales, lo mejor es examinarlos en dos apartados: almidón y polisacáridos no amiláceos (PNA).

Almidón. Esta categoría comprende todos los α -glucanos, almidones, almidones parcialmente hidrolizados y glucógeno. Este último es un componente secundario de la mayor parte de los productos animales; está presente en concentraciones significativas en el hígado fresco y en la carne de caballo y como trazas en el músculo magro.

Los métodos polarimétricos se limitan a algunos cereales, pero con una calibración y normalización apropiadas pueden dar resultados satisfactorios (Fraser, Brendon-Bravo y Holmes, 1956; Southgate, 1991).

La hidrólisis ácida diluida puede utilizarse para alimentos muy refinados con concentraciones bajas de PNA y para medir la glucosa producida se puede aplicar prácticamente cualquier método destinado a los monosacáridos.

El uso de un método específico de la glucosa, como la glucosa-oxidasa, amplía la gama de alimentos para los que es útil este método (Dean, 1978; Southgate, 1991).

La hidrólisis enzimática con enzimas amilolíticas específicas, seguida de precipitación de los PNA residuales con etanol y la medición de la glucosa producida, es el método más satisfactorio y que se aplica de manera más proficua. La elección de las enzimas y las condiciones de la hidrólisis tienen una importancia decisiva. Si se requieren los valores del almidón total, todo almidón resistente a las enzimas debe tratarse con un álcali o con dimetilsulfóxido antes de la hidrólisis (Southgate, 1991).

Cuadro 7.8 Métodos de análisis de los polisacáridos

Método	Aplicación	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Almidón				
Polarimetría	Algunos alimentos a base de cereales	Se necesita una calibración muy cuidadosa	Bajos	Fraser, Brendon-Bravo y Holmes, 1956
Hidrólisis ácida diluida usando un método general para azúcares	Alimentos muy refinados, con pocos PNA	Interferencia de cualquier PNA presente	Bajos	Southgate, 1991; Dean, 1978
Hidrólisis ácida diluida y método específico de la glucosa	Alimentos con pocos β -glucanos	Presencia de β -glucanos	Bajos	Como <i>supra</i>
Hidrólisis enzimática y métodos específicos de la glucosa	Todos los alimentos	Elección de las enzimas y las condiciones	Medios	Wills, Balmer y Greenfield, 1980
Almidón resistente				
Hidrólisis enzimática del almidón antes y después del tratamiento con un álcali o con dimetilsulfóxido		Elección de las enzimas y las condiciones	Medios	Champ, 1992; Englyst, Kingman y Cummings, 1992
Almidón rápidamente digerible		Elección de las condiciones	Medios	Englyst, Kingman y Cummings, 1992
Almidón lentamente digerible		Elección de las condiciones	Medios	Como <i>supra</i>
Polisacáridos no amiláceos				
Hidrólisis enzimática y eliminación del almidón. Hidrólisis ácida de los PNA. GLC, separación por HPLC de los monosacáridos componentes. Análisis colorimétrico de los monosacáridos	Prácticamente todos los alimentos	El almidón resistente se debe tratar antes de la hidrólisis. La GLC requiere la preparación de derivados. Sólo da valores totales	De medios a altos	Englyst, Quigley y Hudson, 1994; Southgate, 1995

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados. PNA = polisacáridos no amiláceos; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento; GLC = cromatografía gas líquido.

Almidón resistente. Aunque el almidón resistente a las enzimas se observó por primera vez en medios analíticos, la opinión actual es que debe definirse como resistente a condiciones fisiológicas, es decir, resistente a la hidrólisis en el tracto gastrointestinal humano (Gudmand Hoyer, 1991). Englyst, Kingman y Cummings (1992) han distinguido tres tipos de resistencia, debida a la envoltura física del almidón, a la estructura de sus gránulos y a la retrogradación. El último tipo es más habitual en los alimentos elaborados. El sistema más generalizado consiste en medir el almidón antes y después del tratamiento con dinitrosulfóxido.

Velocidad de digestión. Englyst y sus colaboradores (1999) han indicado que la velocidad de digestión del almidón es el principal factor determinante de las variaciones en las respuestas glucémicas a los alimentos y que se puede considerar que el almidón se divide en tres clases: almidón rápidamente digerible, almidón lentamente digerible y almidón resistente. Si bien la velocidad se puede distinguir *in vivo*, la simulación analítica resulta bastante difícil. Mediante estudios en colaboración se ha demostrado que se puede conseguir una precisión razonable (Champ, 1992).

Índice glucémico. Ha habido mucho interés en incluir valores del índice glucémico (IG) en las bases de datos de composición de alimentos y se ha publicado una serie de tablas de valores de dicho índice (Foster-Powell y Miller, 1995). Los valores del IG (en términos estrictos una clasificación de los carbohidratos de los alimentos) se basan en el efecto glucémico en comparación con el de un alimento estándar. El IG se define como «la superficie de incremento bajo la curva de respuesta de la glucosa sanguínea expresada como porcentaje de la respuesta a la misma cantidad de carbohidratos procedentes de un alimento estándar tomado por la misma persona» (FAO/OMS, 1998). El alimento estándar suele ser pan blanco o glucosa. La FAO y la OMS (1998) publicaron un protocolo utilizando seis o más personas y definen los carbohidratos como «carbohidratos (disponibles) glucémicos». Una definición práctica de carbohidratos utilizada por el principal laboratorio australiano que mide el IG es «carbohidratos totales por diferencia, menos la suma de la fibra dietética, más el almidón resistente (si se conoce), o bien la suma del almidón más los azúcares, incluidos los polioles y otros derivados del azúcar de absorción lenta» (Brand Miller y Holt, comunicación personal).

En Australia está permitido el uso de un símbolo del IG en las etiquetas de los alimentos y hay una página web que se puede consultar (<http://www.glycemicindex.com>). Se puede calcular el IG de las comidas, pero no el de los alimentos cocinados, porque dicho índice se ve afectado por la cocción y la elaboración.

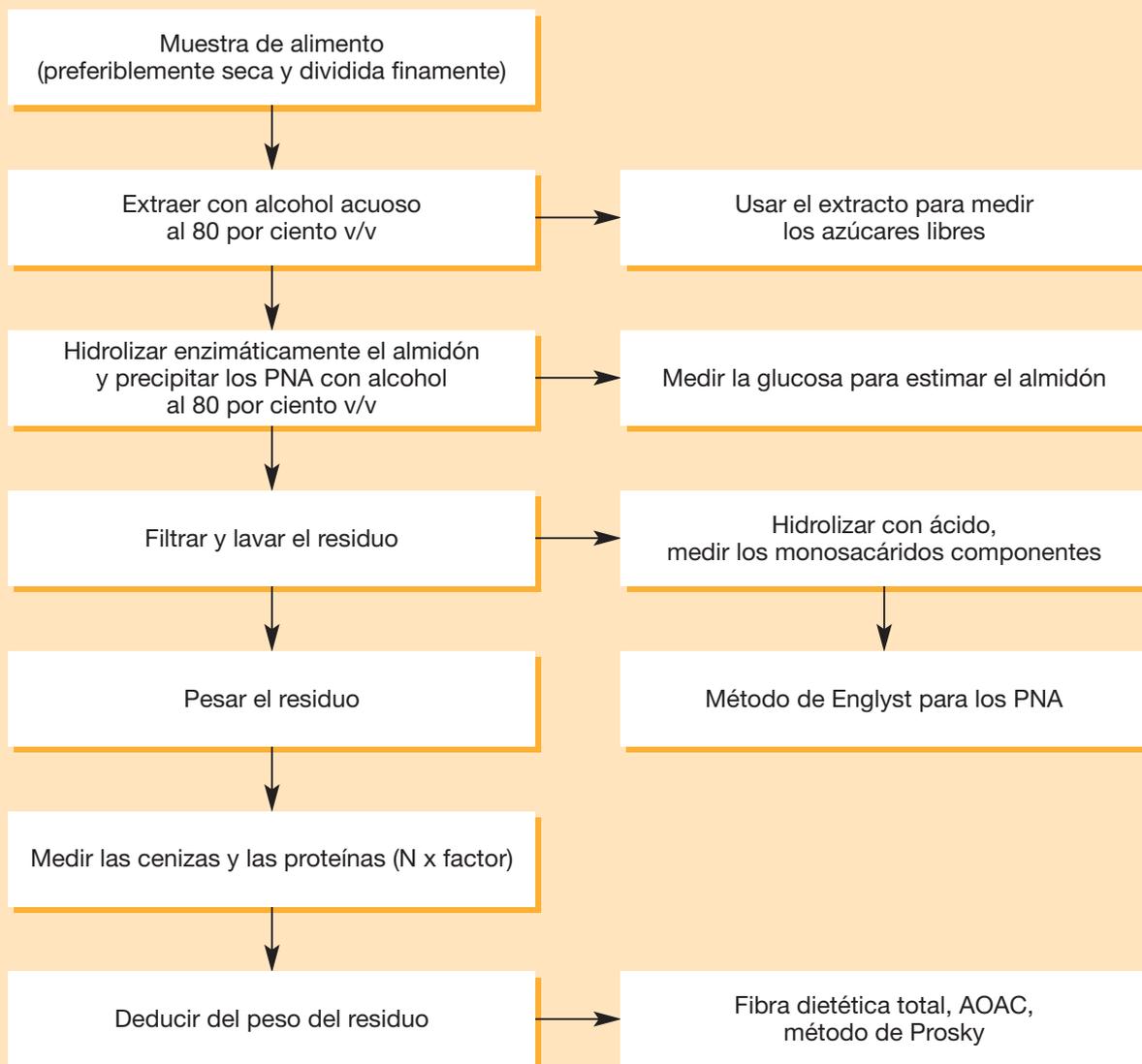
La estimación de las distintas velocidades de digestión del almidón de los alimentos muestra cierta correlación con los índices glucémicos medidos *in vivo*. Para esto se requieren varias personas, cuyos niveles de glucosa en sangre se miden a intervalos regulares durante tres horas tras el consumo de una cantidad fija (50 g) de carbohidratos glucémicos. La superficie debajo de la curva se compara con la correspondiente a una carga de 50 g de glucosa, o

preferiblemente 50 g de carbohidratos glucémicos procedentes de pan blanco. Es preferible el pan blanco debido a que la carga de glucosa se puede vaciar lentamente del estómago por efecto osmótico. En un estudio entre laboratorios (Wolever *et al.*, 2003) se comprobó que para mejorar la precisión del método es necesario reducir la variación de la respuesta glucémica en una misma persona.

En un método *in vitro* para la glucosa rápidamente disponible publicado por Englyst *et al.* (1999) se demostró una correlación elevada con la respuesta glucémica.

Polisacáridos no amiláceos. En los métodos para el análisis de los PNA se realiza un tratamiento de la muestra a fin de eliminar los azúcares libres y el almidón por hidrólisis enzi-

Figura 7.1 Principios para la medición de los carbohidratos y la fibra dietética



Notas: v/v = por volumen; PNA = polisacáridos no amiláceos.

mática. Los PNA no modificados se recuperan mediante precipitación con etanol (80 por ciento v/v), luego se lavan y se secan. Los PNA se hidrolizan utilizando uno de los dos métodos siguientes: de forma secuencial con ácido diluido, que hidroliza la mayor parte de los polisacáridos no celulósicos (PNC), y con SO_4H_2 12M, que hidroliza la celulosa; o bien los PNA se hidrolizan completamente utilizando el ácido 12M (véanse más detalles infra en «Medición de los PNA»).

Los monosacáridos se analizan mediante GLC tras su derivación (como acetatos de alditol [Englyst, Wiggins y Cummings, 1982]), mediante HPLC o por colorimetría total (Englyst, Quigley y Hudson, 1994). Estos métodos no son muy convincentes (Southgate, 1995), aunque en ensayos en colaboración se ha demostrado que cuando se presta una atención cuidadosa al protocolo se consigue en ellos una precisión razonable.

Elección del método para los carbohidratos

No hay un método único que sea conforme a las recomendaciones del examen de la FAO/OMS (1998). Lo ideal es que, al planificar la medición de los carbohidratos en los alimentos, se trate de determinar las distintas especies de carbohidratos en el producto alimenticio de manera secuencial, utilizando una sola porción analítica; con este sistema se evita la posibilidad de medición doble de una fracción superpuesta.

Los principios básicos de dicho sistema se indican de manera esquemática en la Figura 7.1.

Extracción de azúcares libres, polioles y oligosacáridos. Puede consistir en una extracción acuosa, pero por este procedimiento se extraen proteínas, con el resultado de que el análisis posterior resulta más complejo. Es conveniente eliminar las grasas por motivos técnicos, ya que así se facilita una extracción más completa de los azúcares. El sistema más frecuente es la extracción con alcohol acuoso: el más utilizado es el etanol acuoso al 80 por ciento v/v, pero también es útil el metanol al 85 por ciento v/v, al igual que el isopropanol. Las extracciones suelen realizarse con un disolvente en ebullición; por consiguiente, hay que tener cuidado para proteger a los analistas de los humos del disolvente. Si hay probabilidades de que el extracto sea ácido, es importante neutralizarlo para evitar la hidrólisis de los disacáridos y otros sacáridos superiores.

Los alcoholes acuosos también extraen algunos polisacáridos inferiores, es decir, polisacáridos de cadena corta tal como los definen Englyst y Hudson (1996). Éstos deben medirse preferiblemente tras una hidrólisis enzimática selectiva. Las tecnologías enzimáticas modernas han producido una amplia variedad de enzimas muy específicas con una actividad elevada; hay muchas empresas especializadas en este sector, por ejemplo, Boehringer Mannheim (Alemania); Megazyme (Irlanda); Nova (Dinamarca); y Sigma (Estados Unidos). Varias de estas empresas preparan kits de método enzimático. La tecnología enzimática evoluciona a un ritmo tal que cabe esperar que la hidrólisis enzimática selectiva adquiera cada vez más importancia analítica debido a la especificidad que ofrece (McCleary y Prosky, 2001).

Hidrólisis del almidón. La siguiente etapa consiste en eliminar el almidón utilizando una hidrólisis enzimática selectiva. Para ello se pueden utilizar varias enzimas. Se ha usado una mezcla de amilasa y pululanasa para la hidrolización completa a glucosa, pero son muchas las glucoamilasas con las que se consigue una hidrólisis prácticamente total a glucosa. Las condiciones de la hidrólisis enzimática son fundamentales, a fin de garantizar la hidrólisis completa y rápida del almidón y al mismo tiempo reducir al mínimo la de los PNA, especialmente los β -glucanos. Los PNA no hidrolizados se recuperan mediante precipitación con etanol al 80 por ciento v/v.

Medición de los PNA. Los PNA precipitados se lavan y se secan suavemente y luego se hidrolizan. Esto se puede hacer en SO_4H_2 1M en ebullición seguida de una hidrólisis en ácido 12M a temperatura ambiente. De esta manera se produce, en primer lugar, un hidrolizado que contiene los monosacáridos de los PNA y, en segundo lugar, los monosacáridos de una fracción celulósica. Otra posibilidad es hidrolizar los PNA en ácido 12M y a continuación en ácido diluido, con lo que se obtiene un hidrolizado que contiene los monosacáridos de los PNA en conjunto. Los ácidos urónicos no se hidrolizan completamente por estos métodos y se utiliza en gran medida el análisis colorimétrico (Englyst, Quigley y Hudson, 1994). Ahora es posible una hidrólisis enzimática específica del ácido urónico que contiene polímeros (Quigley y Englyst, 1994).

Fibra dietética

La fibra dietética se debe considerar una parte de los carbohidratos de los alimentos. El principal problema a la hora de elegir el método radica en la definición de fibra dietética y su interpretación en un contexto analítico. Hipsley utilizó el término por primera vez en 1953 para describir la suma de las hemicelulosas, la celulosa y la lignina de los alimentos, en otras palabras, los componentes de la pared celular vegetal presentes en los productos alimenticios. En 1972, Trowell aplicó el término a los «componentes no digeribles de la pared celular vegetal presentes en los alimentos». Ambos términos eran demasiado vagos para utilizarlos como base de un método analítico y, en 1976, Trowell *et al.* (1976) propusieron que se definiera como «la suma de los polisacáridos vegetales y la lignina que no digieren las enzimas del tracto gastrointestinal». Era un concepto muy semejante al de «carbohidratos no disponibles» definido por McCance y Lawrence (1929), medibles mediante los procedimientos propuestos por Southgate (1969).

El objetivo de este método era medir los carbohidratos específicamente mediante técnicas colorimétricas. Englyst preparó este sistema utilizando los métodos más específicos de GLC, que daban valores para los PNA e incorporaban una fase de conversión del almidón resistente en otro no resistente a la acción enzimática. El procedimiento se perfeccionó en una serie de estudios en colaboración y Englyst, Quigley y Hudson (1994) y Southgate (1995) describen los protocolos más recientes. Este método mide solamente los PNA, sin incluir la lignina.

En otras partes de Europa, especialmente en Suecia y Suiza, así como en los Estados Unidos, la atención se centró en la «indigestibilidad de los polisacáridos y la lignina». Se preparó un método gravimétrico en el que se pesaba el residuo después de la eliminación del almidón para obtener una medida de la fibra dietética total; éste ha evolucionado hacia el método oficial n.º 982.29 de la AOAC (Prosky *et al.*, 1992). El método requiere la corrección del residuo para las proteínas no digeridas y la contaminación mineral; se miden el nitrógeno total y las cenizas del residuo y se deducen para obtener los valores de la fibra dietética total. Dichos valores comprenden la lignina, el almidón resistente y todos los demás carbohidratos no digeribles (Guillon *et al.*, 1998). Se ha introducido una modificación para incorporar la medición de los oligosacáridos no digeribles.

Los procedimientos de Englyst para los PNA y de la AOAC para la fibra dietética total no son muy seguros, especialmente cuando las concentraciones presentes son bajas (Southgate, 1995). En el método para los PNA se utilizan porciones analíticas de 100 mg-200 mg y la preparación y homogeneidad de estas porciones es absolutamente decisiva. También es necesario prestar mucha atención a los procedimientos de mezcla durante la aplicación del método.

El procedimiento gravimétrico de la AOAC exige una gran pericia al medir niveles bajos, pero se consigue una buena precisión con los alimentos cuyo contenido de fibra es alto, como los productos de salvado y de harina integral. En el residuo también están incluidos los elementos extraños inducidos por el calor.

En muchos países, la elección del método para el etiquetado nutricional está establecida en la legislación. El sistema preferido es la medición específica desde el punto de vista nutricional de las distintas fracciones de carbohidratos. La medición de las fracciones soluble e insoluble depende en gran medida del método; en el examen de la FAO/OMS (1998) se llegó a la conclusión de que no había ninguna justificación fisiológica para registrar por separado valores basados en la solubilidad.

Es importante reconocer que la hipótesis relativa a los efectos protectores de la fibra dietética se basaba en las diferencias entre las dietas (Burkitt y Trowell, 1975), es decir, se afirmaban los efectos protectores de las dietas ricas en productos alimenticios que contenían paredes celulares vegetales en un estado relativamente poco elaborado. Estas dietas son ricas en otros muchos componentes además de la fibra dietética.

Alcohol

El método clásico para medir el contenido de alcohol de las bebidas es la destilación de la bebida desgasificada y la medición del peso específico del producto de la destilación. Aunque se trata de un sistema todavía válido y preciso, los métodos preferidos son la medición mediante GLC (que es más sencilla y rápida) o bien un procedimiento de enzimas específicas utilizando alcohol deshidrogenasa (Bergmeyer, 1974), ya que en los métodos de destilación puede haber interferencias de otros componentes volátiles.

Ácidos orgánicos

Hay diversos métodos de enzimas específicas para distintos ácidos orgánicos (Bergmeyer, 1974) que siguen siendo válidos, pero estos sistemas se han visto desplazados por los métodos de HPLC (Wills *et al.*, 1983). En un producto alimenticio que contenga ácido acético se puede utilizar la titulación sencilla ácido-base (Sadler y Murphy, 1998).

Componentes inorgánicos

En la mayoría de los métodos para los componentes inorgánicos es necesaria la eliminación de la matriz orgánica de los alimentos, o bien la extracción y concentración, antes de poder aplicarlos. Al destruir la matriz alimentaria se elimina un número elevado de posibles fuentes de interferencia y se obtiene el material inorgánico en forma concentrada. En el análisis clásico de los alimentos se incineraba la matriz orgánica (normalmente en un horno de mufla a temperatura controlada) y se pesaba el residuo inorgánico resultante a fin de obtener un valor para la ceniza en el sistema proximal de análisis. La matriz orgánica también se puede destruir mediante calentamiento en ácidos concentrados. Este procedimiento reduce al mínimo las pérdidas durante la oxidación y evita cualquier reacción entre los componentes inorgánicos y el recipiente utilizado para las incineraciones en seco.

Una vez eliminada la matriz orgánica, los componentes inorgánicos pueden medirse utilizando diversas técnicas. Entre ellas cabe mencionar los métodos gravimétricos o volumétricos clásicos, la polarimetría, los electrodos selectivos de iones, los procedimientos colorimétricos (que pueden ser o no muy específicos) y los métodos instrumentales (que ofrecen una mayor rapidez del análisis, automatización y una buena precisión). Muchos de los métodos instrumentales pueden utilizarse para el análisis de varios componentes. Al aplicar estos métodos, es importante asegurarse de que se elimine la interferencia de otros componentes y es imprescindible utilizar materiales de referencia normalizados (o de referencia interna) con una matriz semejante y aplicar otras medidas de control de calidad. Este sistema tiene una importancia fundamental en la medición de las trazas de componentes inorgánicos.

Cenizas totales

Desde el punto de vista nutricional, el registro del valor de las cenizas tiene escaso valor, salvo para proporcionar una estimación aproximada del material inorgánico total y verificar la réplica en la destrucción de la matriz. Naturalmente, el valor de las cenizas totales es esencial cuando es necesario calcular los carbohidratos «por diferencia».

En la calcinación en seco, el alimento se incinera en un crisol, normalmente de sílice, aunque también puede emplearse la porcelana (utilizable, pero menos idónea) o el platino (muy costoso, pero el menos reactivo). La matriz alimentaria debe destruirse calentando suavemente al principio para carbonizar la muestra y luego a 500 °C en un horno de mufla (Wills, Balmer y Greenfield, 1980) para impedir que los lípidos (y los azúcares) formen espuma, hasta

la obtención de un residuo blanco (o gris claro). El calentamiento por encima de 500 °C puede provocar la pérdida de metales alcalinos. El procedimiento general está descrito en Osborne y Voogt (1978) y en los métodos oficiales de la AOAC (véase Sullivan y Carpenter, 1993).

En el caso de la digestión húmeda con ácido, la muestra de alimento se calienta en un medio ácido, normalmente una mezcla de ácido nítrico y sulfúrico. Con frecuencia se incluye en la mezcla de digestión ácido perclórico, aunque esto crea un riesgo de explosión y el procedimiento debe llevarse a cabo en una campana de extracción de humos diseñada para el uso de dicho ácido. La digestión húmeda ofrece la ventaja de que no se puede producir con el crisol ninguna reacción que pueda dar lugar a la formación de silicatos insolubles. La digestión puede realizarse en un matraz de Kjeldahl, pero en este caso se necesita una cantidad mayor de ácido. En particular para el análisis de los oligoelementos, la mejor manera de realizar la digestión es en un recipiente hermético. La mayoría de los proveedores de laboratorios tienen tubos diseñados con este fin. Son de vidrio resistente con un tapón y una pieza de plástico que permite un cierre hermético a prueba de gases inertes. Se introducen en el tubo la porción analítica y el ácido, se cierra y se puede calentar en un horno tradicional o microondas. Luego se deja enfriar completamente el tubo antes de dar salida a los gases con cuidado.

Para los análisis de los oligoelementos, los ácidos utilizados deben ser de la máxima calidad analítica; hay que utilizar blancos de manera habitual y se debe incluir la digestión de los materiales de referencia.

Los instrumentos más utilizados son los espectrofotómetros de absorción atómica, que resultan apropiados para el análisis de la mayor parte de los cationes de interés nutricional. Para el análisis del Na y el K se pueden utilizar los fotómetros de llama, más sencillos.

Hay instrumentos de emisión de plasma, como los espectrómetros con fuente de plasma acoplado por inducción, que permiten el análisis de una amplia variedad de elementos y tienen capacidad para la manipulación de un número elevado de muestras y analitos (McKinstry, Indyl y Kim, 1999). Sin embargo, requieren un gasto de capital inicial elevado y un mantenimiento periódico. Ihnat (1982; 1984) realizó un examen detallado de la aplicación de estos métodos a los alimentos. Sullivan (1993) analiza el uso de estas técnicas en la publicación de la AOAC *Methods of analysis for nutritional labeling* [Métodos de análisis para el etiquetado nutricional] (Sullivan y Carpenter, 1993).

Preparación de la porción analítica. Los residuos de la calcinación en seco se suelen disolver en ácido diluido hasta el volumen deseado antes del análisis. Las soluciones de la digestión húmeda han de diluirse normalmente hasta un volumen apropiado antes del análisis.

En los Cuadros 7.9 y 7.10 se presentan los métodos de análisis de los cationes y aniones, respectivamente, en los alimentos.

Cationes

Sodio y potasio. Las técnicas preferidas son la fotometría de llama y la espectrofotometría de absorción atómica (EAA). Se pueden producir interferencias mutuas y se ha observado

Cuadro 7.9 Métodos de análisis de los cationes

Método	Aplicación	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Fotometría de llama	Na ^a , K ^a , Ca, Mg	Interferencias	Medios	Dvorak, Rubeska y Rezac, 1971
EAA con horno electrotérmico	Na, K, Ca ^a , Mg ^a , Fe ^a , Cu ^a , Zn ^a , Mn ^a , Co ^a , Cr ^a	Interferencias de aniones; técnicas especiales de supresión	De medios a altos	Osborne y Voogt, 1978; AOAC, 1984
EAA por generación de hidruros	Se ^a		De medios a altos	Foster y Sumar, 1996; Murphy y Cashman, 2001
Espectrometría de emisión con fuente de plasma	Prácticamente todos los cationes	Hay que controlar los efectos de la matriz	Muy altos	AOAC, 1984; McKinstry, Indry y Kim, 1999; Sullivan, 1993; Coni <i>et al.</i> , 1994; Suddendorf y Cook, 1984
Colorimetría	K ^b , Mg, Fe, Cu, Zn ^b	Técnicas exigentes	De bajos a medios	Sandell, 1959; Paul y Southgate, 1978; Sullivan y Carpenter, 1993
Precipitación y titulación clásicas	Ca, Mg	Tamaño de la muestra analítica; técnicas especializadas	Bajos	Paul y Southgate, 1978

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.

EAA = espectrometría de absorción atómica.

^a Método preferido.

^b Métodos difíciles y poco precisos.

interferencia del fósforo. Estos problemas se suelen solucionar mediante la aplicación de patrones apropiados.

Calcio. Las técnicas de fotometría de llama y EAA tienen una sensibilidad semejante. Puede haber interferencia del fósforo, pero es posible eliminarla mediante la adición de sales de lantano o la utilización de llamas de N_2O . Se han usado métodos titulométricos complejométricos y con los alimentos ricos en calcio se puede recurrir a los métodos gravimétricos clásicos.

Magnesio. El método preferible es la EAA, ya que tiene mayor sensibilidad que otros procedimientos, con la excepción del análisis de activación.

Hierro. Se puede medir mediante instrumentos de EAA o espectroscopia con fuente de plasma acoplado por inducción (ICP). Sin embargo, existen métodos colorimétricos válidos.

Cinc. Aunque hay métodos colorimétricos, las mejores técnicas son la EAA y la ICP.

Selenio. Se ha utilizado ampliamente la EAA por generación de hidruros, probablemente el método preferible en la actualidad (Foster y Sumar, 1996; Murphy y Cashman, 2001). También se ha propuesto como método la voltimetría de redisolución catódica (Inam y Somer, 2000).

Cobre y otros oligoelementos. Se puede realizar una medición satisfactoria mediante EAA, pero puede ser necesario recurrir a condiciones especiales. La ICP es una técnica satisfactoria cuando se dispone de ella (Coni *et al.*, 1994). Los métodos colorimétricos para el cobre son bastante válidos (Sullivan y Carpenter, 1993).

Aniones

Fósforo. Se puede medir mediante ICP, pero en muestras de digestión húmeda el método preferido es uno colorimétrico bien contrastado (Fiske y Subbarow, 1925). Si se utilizan muestras de calcinación en seco, hay que hidrolizar los pirofosfatos formados durante la calcinación.

Cloruro. Se pueden utilizar diversos métodos. El análisis mediante electrodos de iones específicos representa el sistema más sencillo, pero también es satisfactoria la reacción clásica mediante titulación (Cotlove, Trantham y Bowman, 1958). Asimismo parecen funcionar bien los procedimientos en los que se utiliza la conductimetría automatizada (Silva *et al.*, 1999).

Yodo. Se considera que éste es uno de los elementos inorgánicos más difíciles de medir. La AOAC ha utilizado la calcinación en seco seguida de titulación o de GLC (Sullivan y Carpenter, 1993). Los electrodos de iones específicos ofrecen algunas posibilidades.

Cuadro 7.10 Métodos de análisis de los aniones

Aplicación	Método	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Fósforo	Colorimetría		Bajos	Fiske y Subbarow, 1925
Cloruro	Titulométrico		Medios	Cotlove, Trantham y Bowman, 1958
	Electrodos de iones específicos	Interferencias	Medios	De Clercq, Mertens y Massart, 1974
	Conductimetría automatizada		Altos	Silva <i>et al.</i> , 1999
Yodo	Microdestilación	Contaminación de laboratorio	Medios	AOAC, 1984
	Electrodos de iones específicos		Medios	Hoover, Melton y Howard, 1971
	Calcinación alcalina en seco		Medios	AOAC, 1984
	GLC		Altos	Mitsuhashi y Kaneda, 1990; Sullivan y Carpenter, 1993
Flúor	Microdestilación	Laborioso	Medios	AOAC, 1984
	Electrodos de iones específicos		Medios	Ferren y Shane, 1969; Kjellevoid-Maide, Bjorvatn y Julshamn, 2001
Azufre	Polarografía		Medios	Guanghan <i>et al.</i> , 1999
	Gravimétrico		Bajos	Paul y Southgate, 1978
	Fluorescencia de rayos X		Altos	Isherwood y King, 1976
Nitrato	Colorimetría		Bajos	AOAC, 1980
	Electrodos de iones específicos		Medios	Pfeiffer y Smith, 1975; Choi y Fung, 1980
Nitrato	HPLC		Altos	Wootton, Kok y Buckle, 1985

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados. GLC = cromatografía gas-líquido; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento.

Flúor. Se han perfeccionado métodos polarográficos con una sensibilidad muy buena (Guanghan *et al.*, 1999). También parecen funcionar bien los métodos en los que se utilizan electrodos selectivos de iones (Kjellefold-Malde, Bjorvatn y Julshamn, 2001).

Azufre. El azufre se puede medir por medio de la conversión en sulfato de bario (Paul y Southgate, 1978) o mediante fluorescencia de rayos X (Isherwood y King, 1976).

Nitrato y nitrito. Entre los métodos figuran la colorimetría (AOAC, 1980), la HPLC (Wooton, Kok y Buckle, 1985) y la electroforesis iónica capilar. También se pueden utilizar los electrodos de iones específicos (Marshall y Trenerry, 1996).

Vitaminas

El término «vitamina» es más bien fisiológico que químico, ya que expresa cierta actividad fisiológica relacionada con las sustancias químicas responsables de esta actividad. La actividad de las vitaminas puede deberse a un grupo de sustancias químicas, que normalmente tienen una relación estructural entre sí («vitámeros»).

El análisis de las vitaminas presenta varias dificultades para el analista; ha sido, y sigue siendo, considerable la actividad analítica orientada a conseguir el método de análisis ideal para obtener valores químicos que permitan predecir la actividad fisiológica de las vitaminas en las personas en las circunstancias actuales. El método ideal consistiría en medir los distintos vitámeros por separado, de manera que se pudiera calcular un valor para la actividad vitamínica total (Brubacher, Müller-Mulot y Southgate, 1985). Este ideal raramente es posible, debido en parte a la presencia de sustancias sin actividad vitamínica que interfieren.

El examen de los métodos para cada una de las vitaminas se concentra en la manipulación y la preparación de las muestras para el análisis; se trata de factores decisivos, debido a la labilidad de algunas vitaminas. Muchas son sensibles a la luz y algunas se pueden oxidar con gran rapidez. El calentamiento puede aumentar la velocidad de oxidación y también puede provocar la isomerización a formas inactivas; por consiguiente, hay que evitar el calentamiento innecesario.

Existen varios estudios detallados sobre el análisis de las vitaminas en los alimentos (Bates, 2000; Eitenmiller y Landen, 1998; Machlin, 1984; Christie y Wiggins, 1978; Van Niekirk, 1982). El trabajo de Brubacher, Müller-Mulot y Southgate (1985) fue el resultado de un proyecto de colaboración europeo cuya finalidad era la preparación de un manual de métodos comprobados. Sullivan y Carpenter (1993) presentan un examen de los métodos oficiales de la AOAC para las vitaminas. En el Cuadro 7.11 se resumen los métodos para las vitaminas liposolubles y en el Cuadro 7.12 se resumen los correspondientes a las vitaminas hidrosolubles.

Vitaminas liposolubles

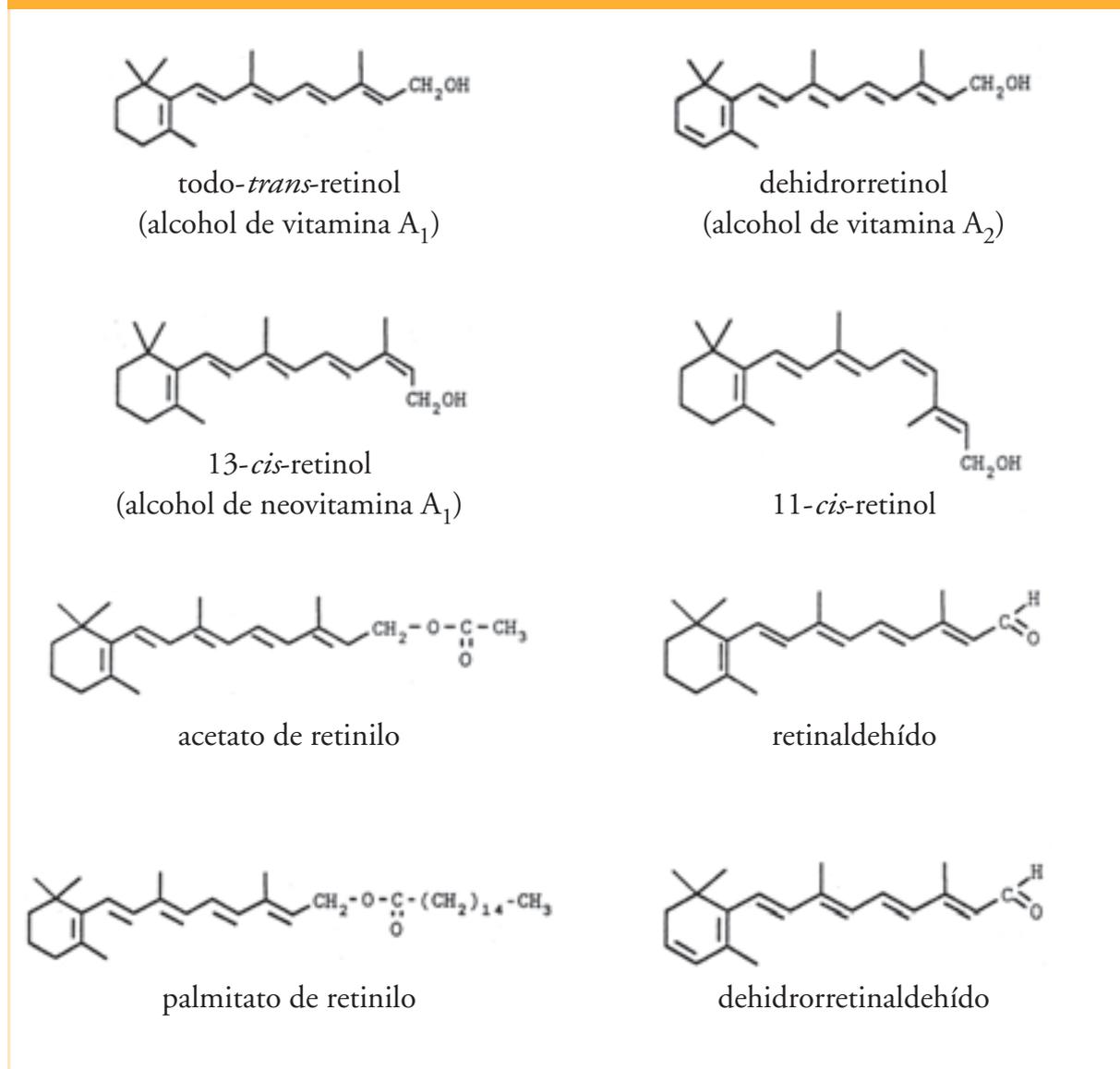
Son las vitaminas A, D, E y K y los carotenoides con actividad de provitamina A. Debido a

Cuadro 7.11 Métodos de análisis de las vitaminas liposolubles

Vitamina	Método	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Vitamina A y carotenoides	Cromatografía	Escasa recuperación de retinoides; sobreestimación de los carotenoides	Bajos	AOAC, 1984; Carr y Price, 1926
	HPLC	Identificación de los carotenoides	De medios a altos	Scott, 1992; Scott y Hart, 1993; Scott <i>et al.</i> , 1996; Wills y Rangga, 1996; Taungbodhitham <i>et al.</i> , 1998
Vitamina D	Bioensayo	Sólo para niveles bajos; se requieren instalaciones de animales	De bajos a medios	Kodicek y Lawson, 1967; AOAC International, 1995
	Colorimetría	Falta de precisión y sensibilidad	Bajos	Nield, Russell y Zimmerli, 1940; Eisses y De Vries, 1969
	GC		Medios	Bell y Christie, 1974; Koshy, 1982
	HPLC	Interferencia de lípidos; dos fases (preparatoria seguida de separación analítica) necesarias para la mayoría de los alimentos	Altos	Mattila <i>et al.</i> , 1993, 1994, 1995; MAFF, 1997
	Radioinmunoensayo		Altos	Bates, 2000
Vitamina E	Colorimetría	Interferencia de sustancias compuestas	Bajos	Tsen, 1961; Christie y Wiggins, 1978
	GC		De medios a altos	Christie, Dean y Millburn, 1973
	HPLC	Técnicas de extracción	Altos	Piironen <i>et al.</i> , 1984, 1987
Vitamina K	Colorimetría	Falta de especificidad	Bajos	Irveire y Sullivan, 1941; Hassan, Abd El Fattah y Zaki, 1975
	Cromatografía en columna		Bajos	Matschiner y Taggart, 1967
	GC		De medios a altos	Dialameh y Olson, 1969; Seifert, 1979
	HPLC	Interferencia de lípidos	Altos	Cook <i>et al.</i> , 1999; Indyk y Woollard, 1997; Piironen y Koivu, 2000; Koivu <i>et al.</i> , 1999

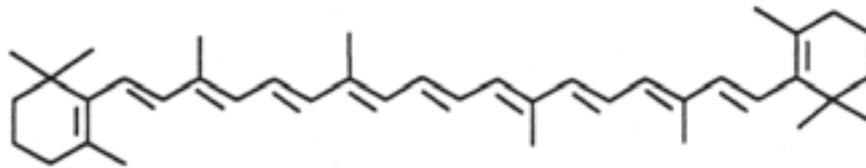
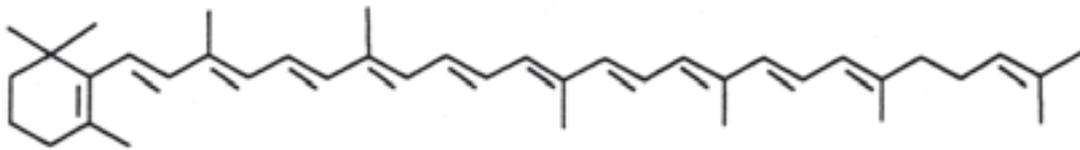
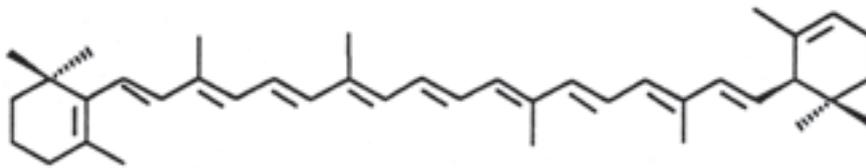
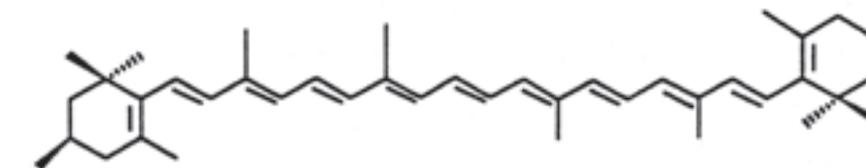
Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados. GC = cromatografía de gases; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento.

Figura 7.2 Estructuras de los principales retinoides con actividad de vitamina A

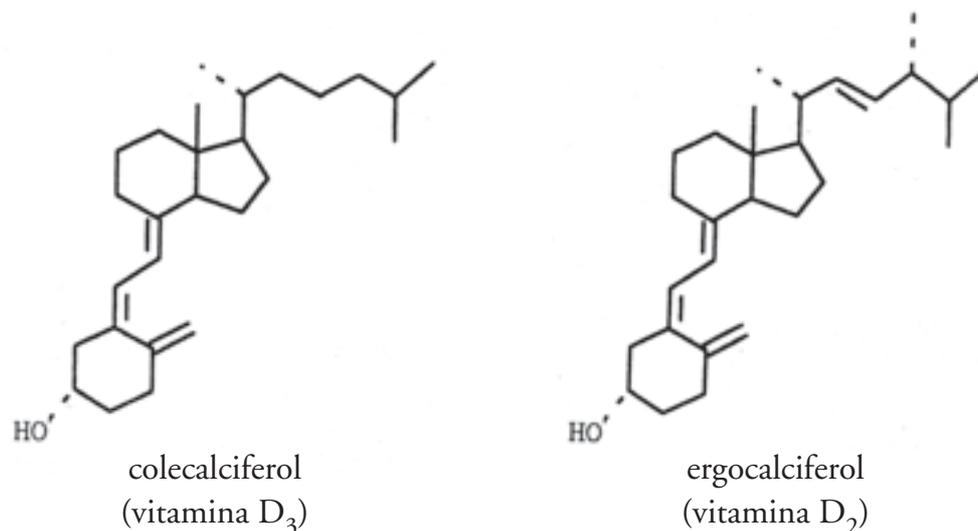


que el interés nutricional también se concentra ahora en los carotenoides no provitamina A, es recomendable ocuparse de ellos en mayor medida.

Vitamina A. El término «vitamina A» es genérico e incluye el retinol, sus ésteres y algunos isómeros. El patrón internacional para la vitamina A es el todo-*trans*-retinol, para el cual se definió la unidad internacional (UI) de referencia como 0,3 μg (= 0,344 μg de acetato de retinol) de esta forma de retinol. Hay otros retinoides que muestran alguna actividad, entre ellos los isómeros *cis* del retinol, el retinaldehído, el éster de retinilo, el dehidrorretinol y el dehidrorretinaldehído. En la Figura 7.2 se presentan las estructuras de estas sustancias. La actividad de los vitámeros es en términos generales semejante y por convenio se les atribuye una actividad de vitamina A igual a la del todo-*trans*-retinol.

Figura 7.3 Estructuras de los principales carotenoides con actividad de vitamina A β -caroteno γ -caroteno α -caroteno β -criptoxantina, criptoxantina

Los procedimientos más antiguos se basaban en la reacción colorimétrica de Carr-Price de separación en columnas de intercambio iónico. Este reacción está muy expuesta a interferencias y el método preferido ahora es la separación mediante HPLC con medición espectrofotométrica. La vitamina A es muy sensible a la luz y todas las porciones analíticas deben prepararse con luz difusa, preferiblemente amarilla. Las muestras de alimentos se saponifican en hidróxido de potasio alcohólico con la adición de un antioxidante, ácido ascórbico, butilhidroxitolueno (BHT) o pirogalol. Las vitaminas se extraen con un disolvente orgánico adecuado. El extracto se evapora con más BHT a temperatura controlada. Para la separación se puede usar la HPLC tanto en fase normal como en fase inversa. En las separaciones en fase

Figura 7.4 Estructuras de los principales compuestos de los alimentos con actividad de vitamina D

normal la medición se suele hacer por fluorescencia; en las separaciones en fase inversa es preferible la detección y medición UV. Durante todo el proceso de preparación y análisis de la muestra deben cumplirse las normas y hay que controlar periódicamente la pureza (Brubacher, Müller-Mulot y Southgate, 1985).

El interés nutricional se concentraba al principio en los carotenoides que mostraban actividad de provitamina A, es decir, que en el organismo se convertían en vitamina A. Son el β -caroteno, el γ -caroteno, el α -caroteno y la β -criptoxantina (Figura 7.3). Durante los años noventa se reconoció que había otros muchos carotenos con actividad biológica como antioxidantes, por lo que el presente examen se ocupa de los métodos que permiten la medición de una gama más amplia de carotenoides. Hay alrededor de 600 isómeros de carotenoides (Bauernefeind, 1972), pero muchos de ellos tienen una presencia limitada o aparecen en cantidades pequeñas en los alimentos más comunes. Sigue siendo objeto de debate la manera de presentar los distintos carotenos y su actividad relativa en las bases de datos.

El método clásico consistía en realizar una separación cromatográfica sencilla de los carotenos como grupo y medirlos mediante espectrofotometría frente a un patrón de β -caroteno común (Brubacher, Müller-Mulot y Southgate, 1985). Este sistema se ha sustituido por una separación más detallada utilizando columnas de intercambio iónico y HPLC. Las condiciones aplicadas en la saponificación son decisivas y tienen que estar cuidadosamente controladas, utilizando mezclas estándar. Si se hace esto, se pueden obtener valores comparables (Mangels *et al.*, 1993) con suficiente confianza para crear una base de datos de los carotenoides provitamínicos (Chug-Ahuja *et al.*, 1993).

La HPLC es ahora el método más utilizado y preferido. Scott (1992) y sus colegas (Scott y Hart, 1993; Scott *et al.*, 1996), como parte de un proyecto de la Unión Europea cuyo obje-

tivo era obtener una mezcla de MRN de carotenoides, llevaron a cabo una amplia serie de estudios sobre las diversas etapas de la extracción por saponificación y los análisis mediante HPLC. Otros analistas también han realizado estudios detallados del método (Wills y Rangga, 1996; Taungbodhitham *et al.*, 1998). Estos estudios constituyen la base para obtener valores analíticos válidos de los carotenoides más importantes. Se ha propuesto un sistema revisado de evaluación de los valores publicados para los carotenos teniendo en cuenta estos estudios y en la actualidad se está evaluando la preparación de códigos de calidad.

Vitamina D. En los alimentos hay dos formas de vitamina D, el colecalfiferol (D_3) y el ergocalciferol (D_2). Una UI es equivalente a $0,025 \mu\text{g}$ de colecalfiferol o ergocalciferol. La vitamina D_3 es la de distribución más amplia (por ejemplo, en los aceites de pescado, muchos tejidos de peces grasos, los huevos, la mantequilla y el queso cremoso) y la D_2 está presente de forma natural en bajas concentraciones en los aceites de pescado y los hongos y es la forma utilizada en el enriquecimiento. Algunas carnes contienen 25-hidroxicolecalfiferol en concentraciones que contribuyen a la actividad de la vitamina D y que hay que tener en cuenta. En la Figura 7.4 se resumen las estructuras de la vitamina D. Las estimaciones de la actividad relativa del colecalfiferol, el ergocalciferol y sus metabolitos presentan variaciones. Lo conveniente parece ser atribuir al 25-hidroxicolecalfiferol un factor de cinco veces la actividad del colecalfiferol (Chan *et al.*, 1995, 1996). Por consiguiente, los valores para las distintas formas se deben presentar siempre por separado en los informes analíticos y las bases de datos de referencia.

La vitamina D está presente en los alimentos en concentraciones muy bajas, por lo que su análisis resulta difícil. Los métodos originales eran métodos biológicos en los que se utilizaban pollos o ratas jóvenes (por ejemplo, el método n.º 936.14 [AOAC International, 1995]). Estos métodos son difíciles de aplicar y en general su precisión era escasa. El principal problema con el análisis de la vitamina D es que casi todas las fuentes de alimentos contienen otros lípidos que tienden a interferir (Ball, 1998).

Koshy (1982) examinó la cromatografía de gases (GC), pero la técnica preferida ahora es la HPLC y se han publicado varios métodos (colecalfiferol y 25-hidroxicolecalfiferol en la yema de huevo [Mattila *et al.*, 1993], ergocalciferol y 25-hidroxi-ergocalciferol en hongos comestibles [Mattila *et al.*, 1994] y colecalfiferol, ergocalciferol y sus metabolitos 25-hidroxi en la leche y las carnes [Mattila *et al.*, 1995]). En las tablas de composición de alimentos del Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte se utilizaron métodos análogos (no publicados) para las carnes (Chan *et al.*, 1995, 1996) (V. Grace, UK Food Standards Agency, comunicación personal). El método más útil disponible consta de una etapa semipreparativa preliminar de la HPLC que elimina gran parte de las interferencias de otros lípidos. La muestra de alimento se saponifica en hidróxido de potasio alcohólico en atmósfera de nitrógeno con la adición de un antioxidante, ácido ascórbico, hidroquinona, pirogalol o BHT, antes de la solución de saponificación. Los lípidos no saponificados se extraen con un disolvente orgánico apropiado. Se utiliza un estándar interno de la forma de vitamina D no presente en la muestra. Los lípidos no saponificados se concentran mediante evaporación rotatoria a baja

temperatura. El extracto se disuelve en la fase móvil de la HPLC semipreparativa. Las condiciones se controlan cuidadosamente para conseguir recoger con precisión la vitamina D.

La separación analítica puede llevarse a cabo mediante HPLC de fase normal o inversa con detección UV. Se recomienda la fase inversa para la separación analítica después de la fase normal para la etapa semipreparativa.

El 25-hidroxicolecalciferol puede medirse por medio de la HPLC, como se ha mencionado más arriba (MAFF, 1997), pero en el momento presente probablemente el mejor sistema sea el radioinmunoensayo, cuando se disponga de los fondos y el equipo necesarios (Bates, 2000).

Vitamina E. La actividad de la vitamina E se manifiesta de manera natural en ocho sustancias cuya estructura se basa en los tocoferoles y los tocotrienoles (véase la Figura 7.5). Cada vitámero tiene una actividad vitamínica diferente en comparación con el α -tocoferol, que se considera la estructura primaria. Por consiguiente, el método analítico preferido es el que separa y mide todos los distintos vitámeros.

Las muestras de alimentos se saponifican utilizando hidróxido de potasio alcohólico. Los vitámeros de la vitamina E son susceptibles a la oxidación a temperaturas más elevadas en condiciones alcalinas y deben protegerse realizando la saponificación en atmósfera de nitrógeno con la adición de antioxidantes. Las condiciones de la saponificación son semejantes a las utilizadas para las vitaminas A y D.

También existe un método colorimétrico, la reacción de Emmerie Engel con la reducción de cloruro férrico y la reacción con α , α' -dipiridina o 4,7-difenantrolina. Los complejos son bastante inestables y dan un valor total del tocoferol. El método colorimétrico fue sustituido en primer lugar por la GLC y luego por la HPLC, que es ahora el método preferido.

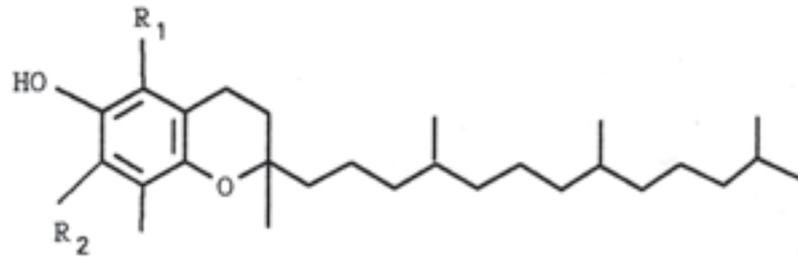
Puede utilizarse la HPLC tanto de fase normal como inversa, aunque la primera es el mejor sistema y separa todos los vitámeros. Para la detección se aplica la fluorescencia (Piironen *et al.*, 1984, 1987). Se utilizan patrones externos, que es necesario someter a una verificación espectrofotométrica.

Vitamina K. Poseen actividad de vitamina K la filoquinona (K_1), las menaquinonas (grupo K_2) y la menadiona (K_3 sintética). Las estructuras se presentan en la Figura 7.6.

La vitamina K es sensible a los álcalis y a la radiación UV y es preciso tomar las precauciones apropiadas durante las operaciones analíticas. Hay procedimientos colorimétricos, pero carecen de especificidad y han sido sustituidos, dando preferencia a otros métodos. La mayor atención analítica se ha concentrado en la medición de la vitamina K_1 . Un problema importante en el análisis es la presencia de lípidos, que hay que eliminar mediante la digestión con lipasa antes de la extracción con hexano (Indyk y Woollard, 1997). El disolvente se evapora bajo una corriente de nitrógeno y el residuo se disuelve en metanol, que se aplica a una columna de HPLC de fase inversa. El eluato se reduce con cinc después de la columna y luego se mide la fluorescencia.

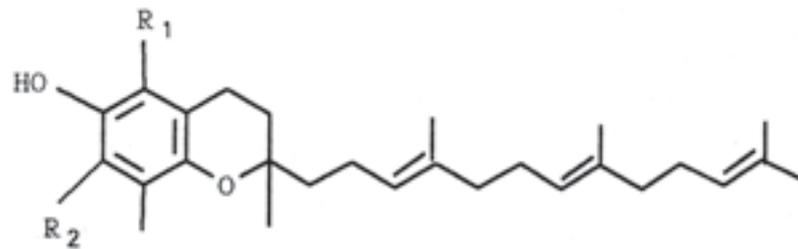
Se han utilizado separaciones semipreparativas después de la digestión (Cook *et al.*, 1999) y también se han propuesto sistemas de detección dual de electrodos (Piironen y Koivu,

Figura 7.5 Estructuras de los principales compuestos con actividad de vitamina E



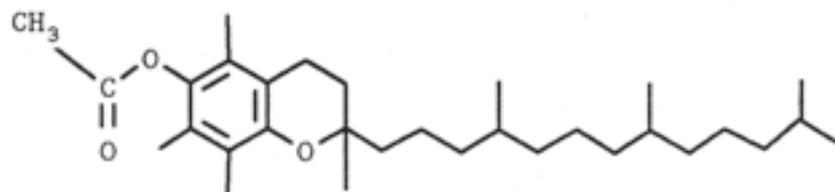
tocoferoles

R ₁	R ₂	
CH ₃	CH ₃	α-tocoferol (α- T)
CH ₃	H	β-tocoferol (β- T)
H	CH ₃	γ-tocoferol (γ- T)
H	H	δ-tocoferol (δ- T)



tocotrienoles

R ₁	R ₂	
CH ₃	CH ₃	α-tocotrienol (α- T ₃)
CH ₃	H	β-tocotrienol (β- T ₃)
H	CH ₃	γ-tocotrienol (γ- T ₃)
H	H	δ-tocotrienol (δ- T ₃)



acetato de α-tocoferol

2000). La mayoría de los autores señalan la gran variabilidad de los valores obtenidos e insisten en la necesidad de un muestreo repetido apropiado y de la replicación de los análisis (Piironen *et al.*, 1997; Jakob y Elmadfa, 1996).

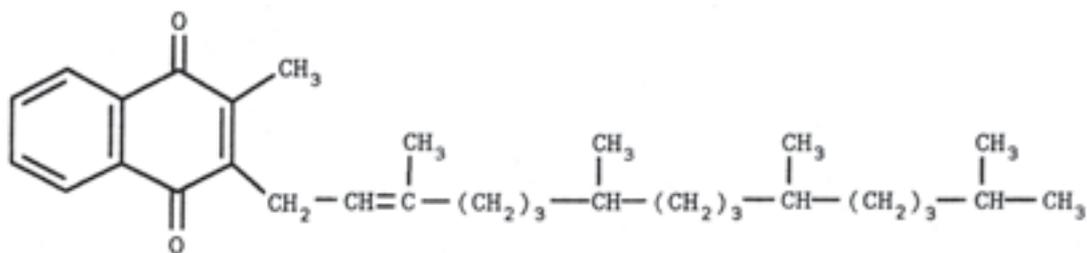
Vitaminas hidrosolubles

Comprenden la vitamina C y varias vitaminas del grupo B. El estudio de la vitamina C tiene una larga tradición (Carpenter, 1986) y se examina en primer lugar.

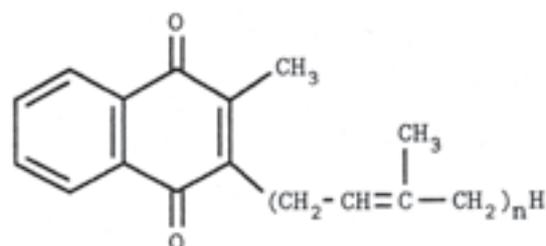
Vitamina C. Hay dos sustancias que muestran actividad de vitamina C: el ácido L-ascórbico y el primer producto de su oxidación, el ácido L-dehidroascórbico (Figura 7.7). El isómero D (ácido eritórbico), que se utiliza como aditivo alimentario antioxidante, no es activo. El ácido ascórbico es un potente reductor que se oxida con mucha rapidez, especialmente a temperaturas elevadas y en soluciones alcalinas. Durante la preparación de muestras de alimentos para el análisis es especialmente importante reducir al mínimo las pérdidas debidas a la oxidación (Brubacher, Müller Mulot y Southgate, 1985).

En la mayoría de los alimentos frescos, la cantidad de ácido dehidroascórbico es muy baja y para muchos fines puede ser suficiente la medición del ácido ascórbico exclusivamente. Así pues, la reducción del 2,6-diclorofenolindofenol es el método más sencillo y fiable (métodos n.º 967.21 y n.º 985.83 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]).

Figura 7.6 Estructuras de las principales sustancias naturales con actividad de vitamina K



filoquinona (vitamina K₁)



menaquinona-n (MK-n, vitamina K₂)

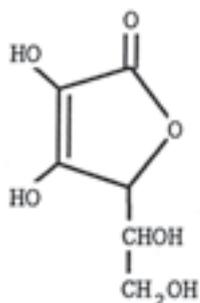
El método colorimétrico de Roe y Kuether (1943), en el que interviene la reacción con 2,4 dinitrofenilhidracina, mide tanto el ácido ascórbico como el dehidroascórbico.

El método de Deutsch y Weeks (1965) también mide ambas formas activas por medio de la fluorimetría, previa oxidación, y está reconocido como método oficial por la AOAC, tal como se describió en un principio y en una versión semiautomatizada (métodos n.º 984.26 y n.º 967.22 [Sullivan y Carpenter, 1993]). Cuando no hay sospechas de presencia de ácido eritórbico, probablemente el método preferido sea el fluorimétrico. Ahora está generalizado el uso de las técnicas de HPLC que se perfeccionaron en los años ochenta (Finley y Duang, 1981; Rose y Nahrwold, 1981; Keating y Haddad, 1982; Wimalasiri y Wills, 1983) para la medición por separado de los ácidos ascórbico, dehidroascórbico y eritórbico con unos resultados satisfactorios (Schüep y Keck, 1990).

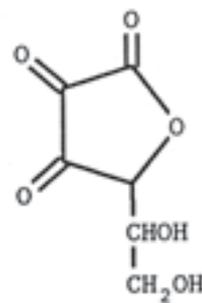
Vitaminas B. Este grupo comprende varias vitaminas de estructura distinta que se agruparon en un principio debido a que eran hidrosolubles. El sistema inicial de medición de estas vitaminas, algunas de las cuales están presentes en concentraciones muy bajas, consistía en métodos microbiológicos selectivos (Bell, 1974; Ball, 1994), y para algunas vitaminas, los folatos totales y la vitamina B₁₂ los ensayos microbiológicos siguen siendo los únicos métodos practicables. Para el resto de las vitaminas B se han puesto a punto y ensayado en colaboración procedimientos químicos más específicos, especialmente la HPLC.

Tiamina. Las estructuras de las sustancias que muestran actividad tiamínica (B₁) aparecen en la Figura 7.8. La tiamina es sensible al calor y las condiciones alcalinas y hay que tomar las precauciones apropiadas durante su análisis. La tiamina se puede medir microbiológicamente utilizando *Lactobacillus viridescens* o *L. fermentum*, pero la mayor parte de los análisis se basan en su oxidación a tiocromo, que se puede medir directamente por fluorimetría. La mejor manera de hacer esto es conjuntamente con la separación mediante HPLC de las sustan-

Figura 7.7 Estructuras de los principales compuestos comunes con actividad de vitamina C



ácido ascórbico



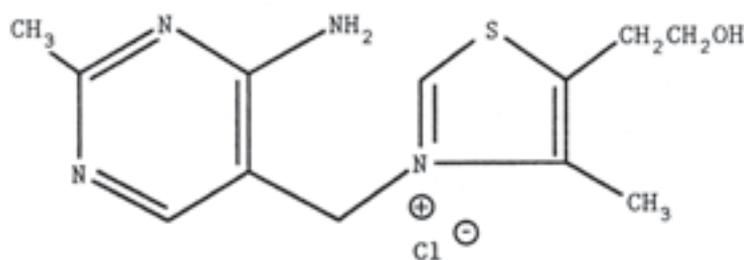
ácido dehidroascórbico

cias que interfieren. La tiamina, la riboflavina y la vitamina B₆ están presentes en los alimentos como cofactores enzimáticos combinados con fosfato, por lo que se deben hidrolizar y tratar con fosfatasa antes del análisis. En las primeras descripciones de los métodos para estas vitaminas se utilizaban condiciones distintas, pero en varios estudios en colaboración (van den Berg *et al.*, 1996; Ndaw *et al.*, 2000) se ha demostrado que puede utilizarse un método común para la preparación de las muestras de alimentos.

La muestra de alimento se hidroliza con ácido y luego se trata con takadiastasa o con una fosfatasa. Algunos autores utilizan una precolumna de intercambio iónico (Bognar, 1981). Luego se oxida el extracto con ferricianato potásico para formar el tiocromo; a continuación se analiza éste utilizando una columna de HPLC de fase inversa y se mide el tiocromo por fluorimetría. Los análisis se controlan utilizando un estándar externo. También se puede usar una oxidación postcolumna. En el amplio estudio en colaboración descrito por van den Berg *et al.* (1996), las variaciones entre las distintas prácticas en una serie de laboratorios no influyeron en los resultados globales del método. Los resultados microbiológicos también mostraron una concordancia satisfactoria con los de los métodos de HPLC.

Riboflavina. La estructura de la riboflavina (vitamina B₂) se presenta en la Figura 7.9. Está presente en los alimentos como riboflavina libre o riboflavin-5'-fosfato (flavina mononucleótido, FMN) o como flavina adenina dinucleótido (FAD). La vitamina es muy sensible a la luz y la radiación UV, pero relativamente estable al calor y el oxígeno atmosférico. Por consiguiente, las operaciones analíticas deben llevarse a cabo en condiciones que reduzcan al mínimo la exposición a la luz. La vitamina se debe extraer de los alimentos mediante tratamiento con ácido y una enzima fosfatasa apropiada. La riboflavina puede medirse directamente utilizando métodos fluorimétricos, aunque muchos alimentos contienen sustancias que interfieren y para su separación se prefiere el sistema de la HPLC (Wimalasiri y Wills, 1985; Schüep y Steiner, 1988; Arella *et al.*, 1996). El método más utilizado es la separación mediante HPLC de fase inversa que utiliza la detección por fluorescencia. En el estudio en colaboración descrito por van den Berg *et al.* (1996), las pequeñas variaciones en los métodos

Figura 7.8 Estructura de la tiamina (vitamina B₁)



Cuadro 7.12 Métodos de análisis de las vitaminas hidrosolubles

Vitamina	Método	Limitaciones	Costos de capital	Algunas referencias
Vitamina C	Titulación con colorante	Mide sólo el ácido ascórbico; los pigmentos interfieren	Bajos	AOAC, 1984
	Colorimetría	Mide también las sustancias inactivas	Bajos	Roe y Kuether, 1943
	Fluorimetría	No separa los ácidos ascórbico y dehidroascórbico	Bajos	Deutsch y Weeks, 1965
	GLC		Medios	Schlack, 1974
Tiamina	HPLC	La purificación y la detección de homólogos por separado añaden retrasos	Altos	Keating y Haddad, 1982; Wimalasiri y Wills, 1983; Speek, Schrijver y Schreurs, 1984; Schüep y Keck, 1990
	Microbiológico	Tiempo	Bajos	Bell, 1974
	Fluorimetría		Bajos	AOAC, 1984
Riboflavina	HPLC		Altos	Fellman <i>et al.</i> , 1982; van den Berg <i>et al.</i> , 1996; Wimalasiri y Wills, 1985
	Microbiológico	Tiempo	Bajos	Osborne y Voogt, 1978; AOAC, 1984
	Fluorimetría		Bajos	AOAC, 1984
	HPLC		Altos	Fellman <i>et al.</i> , 1982; Wimalasiri y Wills, 1985; Wills, Wimalasiri y Greenfield, 1985; Schüep y Steiner, 1988; van den Berg <i>et al.</i> , 1996
Niacina	Microbiológico	Tiempo	Bajos	Osborne y Voogt, 1978; AOAC, 1984; Sullivan y Carpenter, 1993
	Colorimetría	Reactivo peligroso	Bajos	AOAC, 1984; Sullivan y Carpenter, 1993
	HPLC		Altos	Finglas y Faulks, 1987; Lahély, Bergaentzlé y Hasselmann, 1999; Rose-Sallin <i>et al.</i> , 2001

(continúa)

Cuadro 7.12 (continuación)

<i>Vitamina</i>	<i>Método</i>	<i>Limitaciones</i>	<i>Costos de capital</i>	<i>Algunas referencias</i>
Vitamina B ₆	Microbiológico	Tiempo; las respuestas a distintos vitámeros pueden no ser iguales; sólo valores totales	Bajos	Osborne y Voogt, 1978; Guilarte, McIntyre y Tsan, 1980; Sullivan y Carpenter, 1993
	HPLC		Altos	van den Berg <i>et al.</i> , 1996; Ndaw <i>et al.</i> , 2000
	Radiométrico-microbiológico		Altos	Guilarte, Shane y McIntyre, 1981
Vitamina B ₁₂	Microbiológico		Bajos	Thompson, Dietrich y Elvehejem, 1950; Jay, 1984; AOAC, 1984; Sullivan y Carpenter, 1993
	Radioisotópico		Altos	Casey <i>et al.</i> , 1982; Bates, 2000
Folatos (folacina)	Microbiológico	Las respuestas a distintos vitámeros pueden no ser iguales; sólo valores totales	Bajos	Wright y Phillips, 1985; AOAC, 1984; Shrestha, Arcot y Paterson, 2000
	HPLC	No todos los vitámeros se miden bien	Altos	Finglas <i>et al.</i> , 1999; Vahteristo <i>et al.</i> , 1996
Ácido pantoténico	Microbiológico		Bajos	Bell, 1974; AOAC, 1984; Sullivan y Carpenter, 1993
	HPLC		Altos	Woolard, Indyk y Christiansen, 2000
Biotina	Microbiológico		Bajos	Bell, 1974
	Dilución isotópica		Altos	Hood, 1975
	Radiométrico-microbiológico		Altos	Guilarte, 1985
	Radioinmunoensayo mediante unión de proteínas		Altos	Bates, 2000
	HPLC		Altos	Lahéy <i>et al.</i> , 1999

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados. GLC = cromatografía gas-líquido; HPLC = cromatografía líquida de alto rendimiento.

Figura 7.9 Estructura de la riboflavina (vitamina B₂)

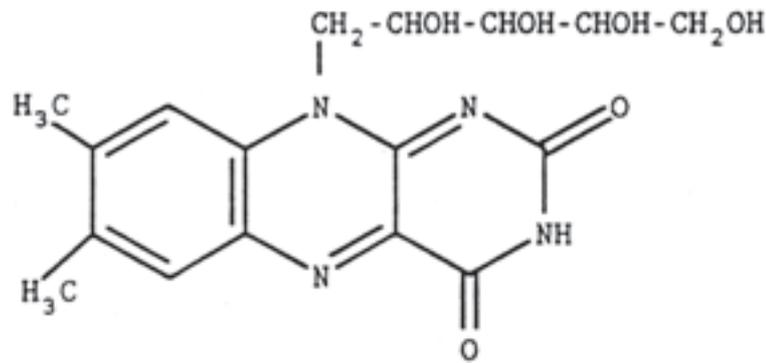


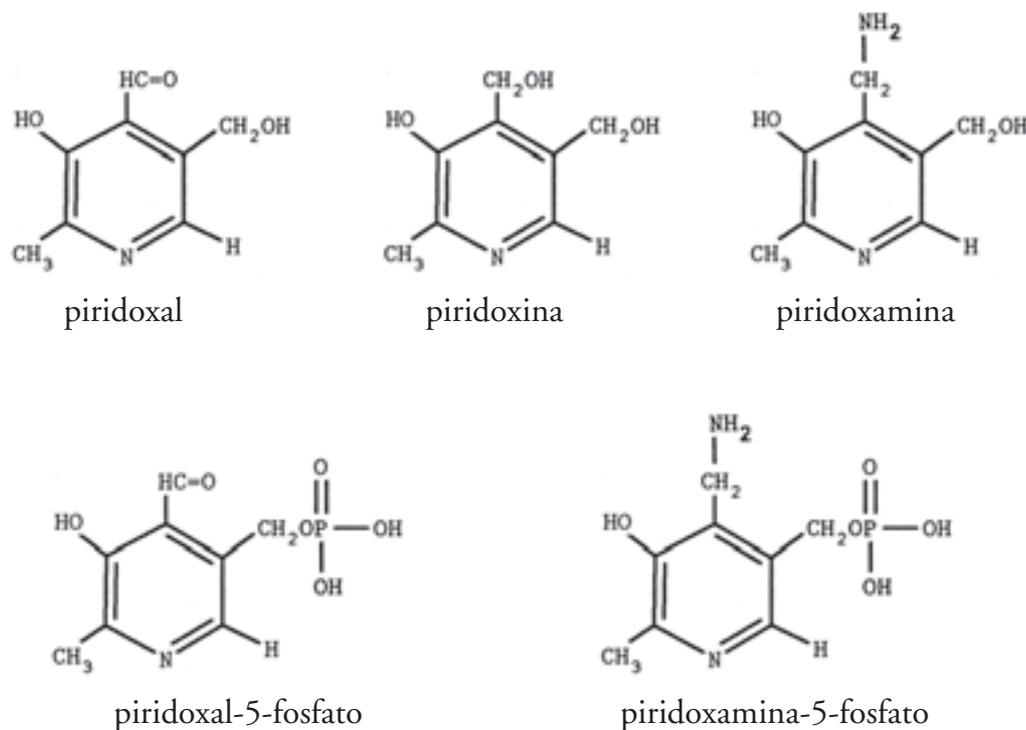
Figura 7.10 Estructuras de la niacina y la niacinamida (vitamina B₃)



locales no afectaron a los resultados. El ensayo microbiológico con *Saccharomyces carlsbergensis* y *S. uvarum* solía dar resultados ligeramente más elevados que la HPLC, como habían observado anteriormente Hollman *et al.* (1993).

Niacina. La actividad de la niacina se debe al ácido nicotínico y la nicotinamida (Figura 7.10). Ambas formas son estables al oxígeno atmosférico, la luz y el calor en estado seco y en solución acuosa. En los cereales se han encontrado varias formas ligadas que se pueden extraer mediante un álcali, pero probablemente no estén biodisponibles. El triptófano también se metaboliza a niacina, en cuya actividad total se debe incluir la contribución del triptófano (Paul, 1969).

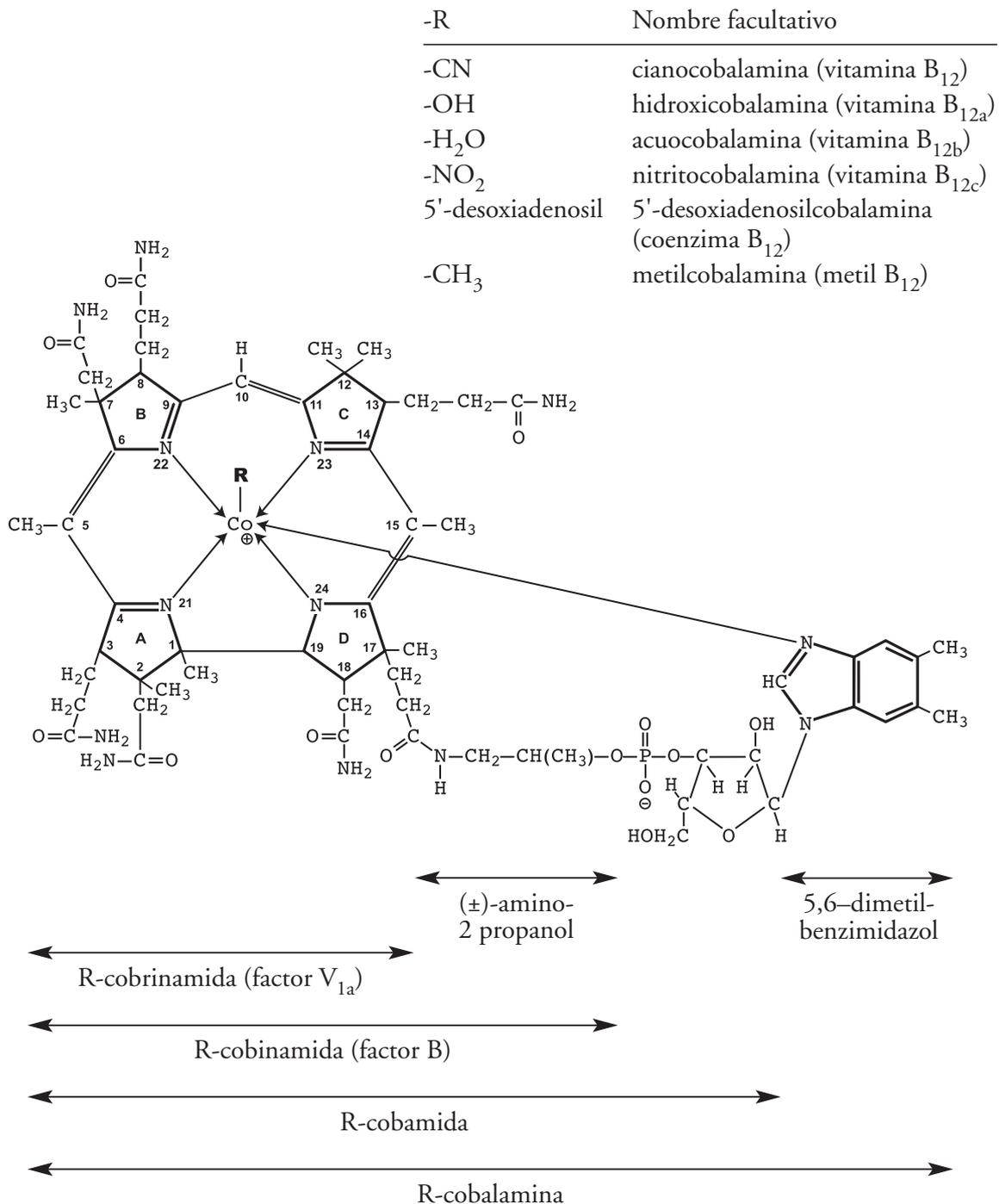
La niacina puede medirse microbiológicamente con *Lactobacillus plantarum* (métodos n.º 960.46, 944.13 y 985.34 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]). También se han utilizado métodos colorimétricos basados en la reacción de Konig, utilizando la oxidación con bromuro de cianógeno y la reacción con p-amino-benzoil-dietilaminoetanol (métodos n.º 961.14, 981.16 y 975.41 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]), pero el carácter tóxico del bromuro de cianógeno hace que sea difícil recomendar estos métodos para su uso ordinario.

Figura 7.11 Estructuras de las sustancias más comunes con actividad de vitamina B₆

Se ha propuesto un método de HPLC que parece funcionar razonablemente bien (Finglas y Faulks, 1987). Tras una hidrólisis ácida, la muestra del alimento se filtra, se trata con un álcali, se pasa por el autoclave y se microfiltra antes de aplicar la HPLC de fase inversa y la detección por fluorescencia. Se ha propuesto un protocolo de extracción simplificado (Lahély, Bergaentzlé y Hasselmann, 1999) y se ha demostrado que funciona bien con una serie de alimentos (Rose Sallin *et al.*, 2001).

Vitamina B₆. Hay cinco sustancias que muestran actividad de vitamina B₆, cuyas estructuras aparecen en la Figura 7.11: la piridoxamina, la piridoxina, el piridoxal y los ésteres fosforados correspondientes.

Por consiguiente, la actividad de la vitamina B₆ no se puede medir por medio de un método para una sola sustancia. El ensayo microbiológico utilizando *Saccharomyces carlsbergensis* da una medida de la actividad total (métodos n.º 960.46, 961.15 y 985.32 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]). El ensayo se lleva a cabo después de una hidrólisis ácida y una hidrólisis enzimática de los fosfatos, pudiéndose utilizar los mismos procedimientos de extracción que para la tiamina y la riboflavina (van den Berg *et al.*, 1996; Ndaw *et al.*, 2000). La hidrólisis ácida también hidroliza los glucósidos, que están presentes en los alimentos vegetales y que pueden estar biodisponibles o no para las personas.

Figura 7.12 Estructuras de la vitamina B₁₂ y sustancias análogas

Fuente: Adaptado, con autorización, de Brown, G.M. y Reynolds, J.J., *Annual Review of Biochemistry*, 32: 419-62. © 1963 por Annual Reviews Inc.; reproducido con autorización de Shils, M.E. y Young, V. (1988). *Modern nutrition in health and disease*. 7^a ed. Filadelfia, PA, Estados Unidos, Lea & Febiger.

La comparación de la HPLC y el ensayo microbiológico ha puesto de manifiesto que es necesario seguir investigando (van den Berg *et al.*, 1996; Bergaentzlé *et al.*, 1995). Ndaw *et al.* (2000) utilizaron un procedimiento de extracción sin la etapa de la hidrólisis ácida y el método de HPLC de Schüep y Steiner (1988), obteniendo buenos resultados en este procedimiento con materiales estándar.

Vitamina B₁₂. Hay un grupo de estructuras complejas con actividad de vitamina B₁₂ (Figura 7.12). El sistema clásico de medición ha sido el microbiológico con *Lactobacillus leichmanii*.

Los niveles de vitamina B₁₂ en los alimentos son muy bajos y se extrae con agua caliente o un tampón en presencia de cianuro de potasio, que convierte la vitamina en la forma ciano- (métodos n.º 960.46, 952.20 y 986.23 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]).

Se han establecido varios métodos sensibles para uso clínico (Bates, 1997; 2000) valiéndose de la unión competitiva de proteínas y diversos radioinmunoensayos, pero no se han evaluado en una serie de alimentos.

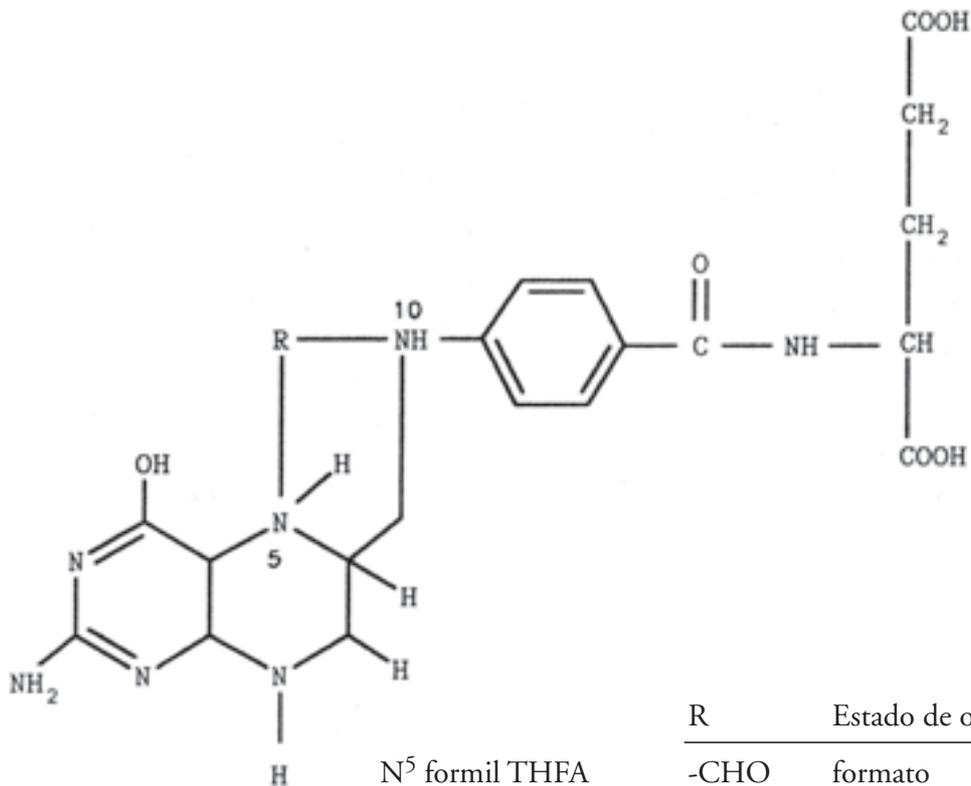
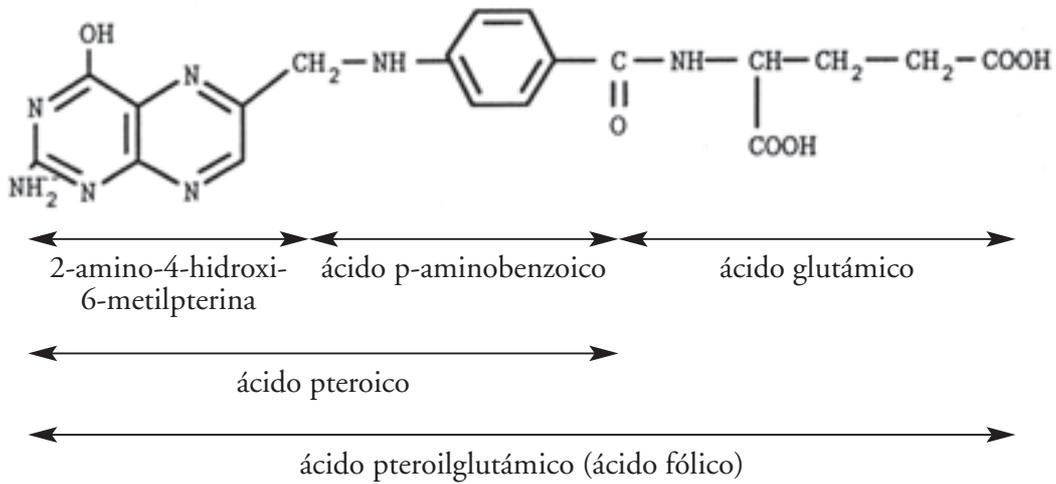
Folatos. Los folatos comprenden un grupo de sustancias relacionadas con el ácido fólico (ácido pteroilglutámico). El ácido fólico no está presente en forma natural en los alimentos, pero se utiliza en gran medida en su enriquecimiento o como complemento. La mayor parte de los folatos presentes en la naturaleza son derivados de los ácidos 5,6,7,8-tetrahidrofólicos y existen en las formas de monoglutamato o poliglutamato. Sus estructuras se resumen en la Figura 7.13.

La actividad biológica de las diversas formas difiere, por lo que el procedimiento nutricional analítico ideal debería incluir la medición de los distintos vitámeros.

La mejor manera de medir los valores de los folatos totales es mediante ensayo microbiológico utilizando *Lactobacillus rhamnosus (casei)*. La mayor parte de los organismos no pueden utilizar las formas de poliglutamato, siendo una etapa preliminar en el análisis la desconjugación con una enzima apropiada (de riñón de cerdo, páncreas de pollo, plasma humano). La extracción se realiza en presencia de ácido ascórbico para reducir al mínimo la oxidación. El extracto se trata con una combinación de proteasa, lipasa y enzimas amilolíticas, que mejoran la eficacia de la extracción. Con las distintas conjugasas se obtienen resultados análogos. Hubo un tiempo en el que se suponía que la medición del folato antes y después de la desconjugación daría valores del folato «libre» y los folatos totales. Los organismos responden en diversa medida a los derivados del glutamato, por lo que la idea es errónea. Phillips y Wright (1982, 1983), Wright y Phillips (1985) y Shrestha, Arcot y Paterson (2000) estudiaron las condiciones para el ensayo microbiológico; estos procedimientos dan una determinación cuantitativa satisfactoria.

Ahora está muy extendida la utilización de la separación de los distintos vitámeros de los folatos mediante técnicas de HPLC (Finglas *et al.*, 1999) y en algunas bases de datos figuran sus valores. En los estudios de comparación realizados se ha comprobado que los valores para el 5 metiltetrahidrofolato mostraban una concordancia razonable, pero ésta no era satisfactoria con otros vitámeros (Vahteristo *et al.*, 1996). En estudios posteriores sobre la normalización de los métodos de HPLC se ha observado que, si bien es posible medir la

Figura 7.13 Estructuras de la folacina (folatos)



R	Estado de oxidación
N ⁵ formil THFA	-CHO formato
N ¹⁰ formil THFA	-CHO formato
N ⁵ formimino THFA	-CH=NH formato
N ^{5,10} metenil THFA	>CH formato
N ^{5,10} metilen THFA	>CH ₂ formaldehído
N ⁵ metil THFA	-CH ₃ metanol

forma 5 metilo con una confianza razonable, los otros vitámeros siguen sin poder medirse de manera apropiada con los métodos existentes basados en la detección fluorimétrica. Hay un kit para el ácido fólico y Arcot, Shrestha y Gusanov (2002) han publicado una evaluación.

Ácido pantoténico. La estructura del ácido pantoténico aparece en la Figura 7.14. El ácido pantoténico en su forma libre es inestable y extraordinariamente higroscópico. Suele estar presente unido a proteínas o en forma de sales. La única forma activa es la dextro-. El método clásico es el microbiológico utilizando *Lactobacillus plantarum* como microorganismo de prueba (Bell, 1974; métodos n.º 960.46 y 945.74 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]). El alimento se extrae con agua y cuando es rico en grasas conviene eliminarlas antes del análisis. El extracto acuoso se suele pasar por el autoclave y se ajusta el pH con ácido y álcali a alrededor de 6,8. La mezcla se incuba durante una noche y luego se somete a tratamiento térmico para detener el crecimiento, que se mide mediante turbidimetría.

Biotina. La biotina está presente en los alimentos en forma de vitamina libre y unida a proteínas. En la Figura 7.15 se presenta la estructura de la vitamina. El método clásico es el micro-

Figura 7.14 Estructura del ácido pantoténico

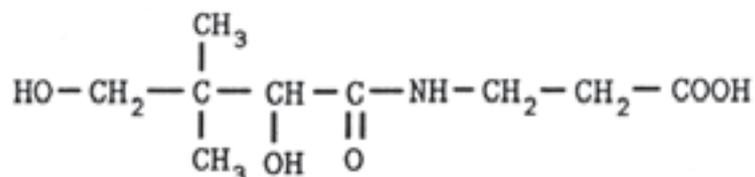
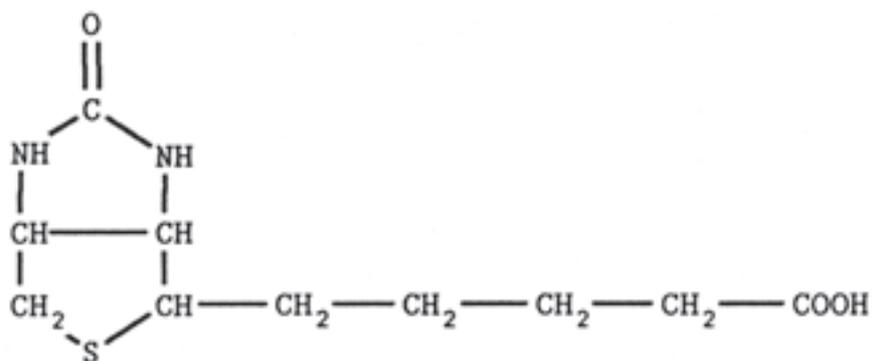


Figura 7.15 Estructura de la biotina



biológico utilizando *Lactobacillus plantarum* (Bell, 1974; método n.º 960.46 de la AOAC [Sullivan y Carpenter, 1993]). También se ha descrito un método de HPLC (Lahély *et al.*, 1999). Para obtener la vitamina del alimento es necesaria una extracción preliminar con ácido seguida de tratamiento con papaína. En el método de HPLC se utiliza la separación de fase inversa, la derivación postcolumna con avidina-5-isocianato de fluoresceína y la detección mediante fluorescencia.

También se han descrito radioensayos utilizando la proteína de unión específica (Bates, 2000).

Componentes bioactivos de los alimentos

Pennington (2002) ha publicado un examen exhaustivo de las bases de datos de composición de alimentos para los componentes bioactivos de éstos, con inclusión de los flavonoides, los taninos, los sulfuros de alilo, la capsaicina, los indoles, los lignanos, los monoterpenos, los ácidos fenólicos, los esteroides vegetales y los productos probióticos, clasificados por alimentos y por sustancias, disponible como bibliografía anotada de más de 400 páginas sobre cada uno de los componentes (Pennington, 2001). Dado el número y la diversidad de estos componentes, no es posible examinar los métodos para todos ellos (Speijers y van Egmond, 1999). Por consiguiente, esta sección se concentra en los métodos para medir los flavonoides, los isoflavonoides, los lignanos y la actividad antioxidante total, teniendo en cuenta el hecho de que han despertado mucho interés en los últimos años. Los métodos para los esteroides vegetales se han examinado antes en este mismo capítulo.

Flavonoides. Hertog, Hollmann y Venema (1992) prepararon un método rápido basado en la HPLC de fase inversa con detección UV para la determinación cuantitativa de cinco agliconas flavonoides importantes (quercetina, kaempferol, miricetina, luteolina y apigenina) en hortalizas y frutas liofilizadas, previa hidrólisis ácida de los glucósidos parentales. En fecha más reciente, Merken y Beecher (2000) han publicado un método de HPLC de gradiente con detección de matriz de fotodiodos para 17 agliconas flavonoides monoméricas destacadas que representan las cinco clases comunes de flavonoides.

Fitoestrógenos. Los principales componentes de las plantas con actividad estrogénica conocida o sospechada son los lignanos, las isoflavonas, los cumestanos y las lactonas del ácido resorcílico (Price y Fenwick, 1985). Clarke *et al.* (1996) examinaron los mecanismos de acción estrogénica. Los principales isoflavonoides son la genisteína, la daidzeína, la formononetina, la biochanina A y la gliciteína. La genisteína, la daidzeína y la gliciteína están presentes en los alimentos en forma de sus glucósidos, los cuales son todos ellos biológicamente inactivos. Las agliconas libres se forman por acción metabólica de la microflora del intestino humano, aunque esta hidrólisis varía considerablemente de una persona a otra (Xu *et al.*, 1994). La bioactividad total está representada por el análisis de las agliconas; sin embargo, esta actividad potencial está representada por el análisis de los conjugados y las agliconas por separado. El estrógeno vegetal más activo conocido es el cumestrol (un cumestano); la zearalenona es una

lactona del ácido resorcílico muy potente formada como metabolito secundario de varias especies de hongos, principalmente *Fusarium* (por lo que se considera un contaminante). Los lignanos matairesinol, secoisolaricirresinol, pinorresinol e isolaricirresinol son fitoestrógenos potentes y precursores de los lignanos, la enterolactona y el enterodiol de los mamíferos.

Dado el muy elevado número de sustancias vegetales con actividad estrogénica y la cuestión de si se han de analizar tanto los conjugados como las formas libres o bien sólo las agliconas (previa hidrólisis), existen muchos métodos de análisis y es escaso el acuerdo sobre cuál es el mejor. No hay ningún método disponible para separar y cuantificar todas las sustancias unidas y libres pertenecientes a esta categoría que tienen interés. Probablemente el método más exhaustivo para las agliconas sea el de cromatografía de gases-espectrometría de masas por dilución isotópica de Adlercreutz y colaboradores (Mazur *et al.*, 1996), que analiza la daidzeína, la genisteína, la biocanina A, la formononetina, el cumestrol, el secoisolaricirresinol y el matairesinol, pero no la gliciteína, como derivados sililo. El método es costoso y hay que tener acceso a la espectrometría de masas (EM). Otro método exhaustivo para los alimentos que analiza la daidzeína, la genisteína, la biocanina A, la formononetina, el cumestrol, el secoisolaricirresinol y el matairesinol, pero no la gliciteína, utiliza la HPLC-EM, que se puso a punto en principio para el plasma y la orina (Horn Ross *et al.*, 2000; Coward *et al.*, 1996; Horn-Ross *et al.*, 1997; Barnes *et al.*, 1998).

Isoflavonas y cumestrol. Para la base de datos sobre las isoflavonas del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos-Universidad del Estado de Iowa (2002), el método de referencia adoptado fue el de gradiente lineal de Murphy *et al.* (1997), que separa la daidzeína, la genisteína, la gliciteína y sus conjugados en las preparaciones a base de soja para lactantes. Hutarat, Greenfield y Mulholland (2000) publicaron un método de HPLC isocrática rigurosamente validado para la genisteína, la daidzeína, la formononetina, la biocanina A y el cumestrol (pero no para la gliciteína), mientras que King y Bignell (2000) publicaron un método de HPLC para la daidzina, la genistina, la glicitina y sus agliconas. Un ensayo en colaboración publicado por Klump *et al.* (2001) llevó a la recomendación de que se adoptara como primera opción el método n.º 2001.10 de la AOAC para la determinación de las isoflavonas en la soja y en ciertos alimentos que la contienen. Este método utiliza la cromatografía líquida de fase inversa para separar y medir la genisteína, la gliciteína y la daidzeína y sus glucósidos y también permite obtener valores de las isoflavonas totales expresadas como agliconas.

Lignanos. Meagher *et al.* (1999) midieron el isolaricirresinol, el pinorresinol, el secoisolaricirresinol y el matairesinol utilizando la HPLC con detección de matriz de fotodiodos y Liggins, Grimwood y Bingham (2000) publicaron un método de GC-EM para la determinación del matairesinol, el secoisolaricirresinol y la sonanina en los alimentos como derivados trimetilsililo.

Actividad antioxidante total. Es cada vez mayor el interés por las maneras de representar la actividad antioxidante total de los alimentos. Se han utilizado varios métodos, pero no existe

Cuadro 7.13 Valor energético de algunos componentes de los alimentos^a

<i>Componente</i>	<i>kcal/g</i>	<i>kJ/g^b</i>
Proteínas	4	17
Grasas	9	37
Carbohidratos disponibles como equivalentes de monosacáridos	3,75	16
Carbohidratos disponibles (en peso, por diferencia)	4	17
Carbohidratos totales	4	17
Monosacáridos	3,75	16
Disacáridos	3,94	16
Almidón y glucógeno	4,13	17
Alcohol etílico	7	29
Glicerol	4,31	18
Ácido acético	3,49	15
Ácido cítrico	2,47	10
Ácido láctico	3,62	15
Ácido málico	2,39	10
Ácido quínico	2,39	10

Notas: En las referencias seleccionadas aparecen procedimientos, evaluaciones o exámenes detallados.

^a Los distintos países pueden tener factores adicionales definidos en la reglamentación alimentaria.

^b Factor de conversión: 1 kcal = 4,184 kJ; los equivalentes en kJ se han redondeado a dos cifras significativas (Royal Society, 1972).

Fuente: Adaptado de Paul y Southgate (1978).

ninguna norma y de momento no se recomienda la inclusión de valores de dicha actividad en las bases de datos. Frankel y Meyer (2000) han realizado un examen completo del tema.

Energía

El contenido bruto de energía de un alimento se puede determinar experimentalmente con un calorímetro de bomba (Brown, Faulks y Livesey, 1993). Para mediciones precisas es preferible un calorímetro de bomba adiabático, pero con el balístico (Miller y Payne, 1959) se consigue una precisión que es suficiente para la mayor parte de los estudios nutricionales. Los valores obtenidos utilizando un calorímetro de bomba adiabático se corrigen para el calor generado por la oxidación del nitrógeno y el azufre en el alimento. Los calorímetros se suelen calibrar utilizando ácido benzoico como estándar termoquímico.

Los valores obtenidos corresponden al calor bruto de la combustión y no son los que se utilizan en las ciencias nutricionales y las bases de datos de composición de alimentos; con estos fines se usa la energía metabolizable, es decir, la energía que está disponible para su uso por el organismo en el metabolismo. Los valores de la energía metabolizable se calculan aplicando factores de conversión de la energía (Atwater y Bryant, 1900; Southgate y Durnin, 1970; Merrill y Watt, 1973; Allison y Senti, 1983) para el contenido de proteínas, grasas, carbohidratos y alcohol. Recientemente, Livesey (2001) ha sostenido que para calcular el valor energético de los alimentos sería mejor el sistema de la energía metabolizable neta (Blaxter, 1989).

Últimamente se ha examinado con detenimiento la contribución de la fibra dietética, los polioles y los oligosacáridos (Livesey, 2001; FAO/OMS, 1998), pero la mayor parte de las bases de datos no utilizan todavía los factores de conversión de la energía para estos componentes.

En muchos países se utiliza el sistema internacional de unidades (SI) (Oficina Internacional de Pesas y Medidas [BIPM], 1998, 2003) para expresar los valores energéticos de los alimentos y las dietas, utilizando el julio (J) (trabajo): 1 kcal es equivalente a 4,184 kJ (equivalente termoquímico) (Royal Society, 1972). Al expresar el valor energético de los alimentos no deben utilizarse más de tres cifras significativas. Sea cual sea el sistema de cálculo que se elija para la energía deberá indicarse con claridad.

Capítulo 8

Manera de garantizar la calidad de los datos analíticos

Sin un programa definido de garantía de la calidad, hay que dudar de todos los resultados analíticos.

(Harnly y Wolf, 1984)

Las aplicaciones actuales de los datos de composición de alimentos dependen de su fiabilidad; sin embargo, para conseguir la fiabilidad y demostrar que se ha logrado se requiere un método sistemático y documentado. Hay actualmente una amplia bibliografía sobre el control de la calidad analítica para el análisis de los alimentos. Los esfuerzos para mejorar y normalizar la calidad analítica a nivel internacional se han visto impulsados por entidades como la Organización Internacional de Normalización (ISO, 2003) y por la aplicación de principios institucionalizados como las buenas prácticas de laboratorio (OCDE, 1992, 1999) y la gestión de la calidad total (Parkany, 1995).

En el Capítulo 1 se examinaron los criterios aplicables a la información que se ha de introducir en las bases de datos de composición de alimentos. En resumen, cabe afirmar que las muestras de alimentos deben ser representativas de los productos alimenticios tal como se consumen, como están disponibles para el consumo o como se producen (por ejemplo, datos

Cuadro 8.1 Actividades encaminadas a garantizar la calidad de los datos

Actividad	Objetivo
Formulación del protocolo de muestreo Aplicación del protocolo de muestreo Preparación de muestras y porciones analíticas	Las muestras de alimentos son representativas de los alimentos tal y como «se consumen», como están «disponibles para el consumo» o como «se producen» (por ejemplo, para los datos de composición correspondientes a los productos)
Elección del método analítico Aplicación de los procedimientos analíticos con un número apropiado de muestras y repeticiones de los análisis Evaluación de los valores analíticos	Los análisis proporcionan valores fidedignos de la composición de muestras representativas de los alimentos

para los alimentos crudos o los productos básicos). Los valores deben representar con exactitud las muestras de alimentos analizadas (véase el Cuadro 8.1). Se deduce, pues, que como principios básicos para la obtención de datos de buena calidad debe prestarse atención a los siguientes aspectos:

- a) la recogida y preparación de la muestra del alimento (véase el primer grupo de actividades en el Cuadro 8.1);
- b) la elección del método analítico y su validación en el laboratorio que lleva a cabo los análisis;
- c) la aplicación adecuada del método (lo que supone la utilización de procedimientos de control de calidad);
- d) el examen crítico de los valores obtenidos.

En los Capítulos 5, 6 y 7 se han examinado el muestreo y los métodos de análisis; en el presente capítulo se abordan los dos últimos temas citados.

Definiciones

Las definiciones de calidad de los datos, control de calidad y garantía de calidad (Cuadro 8.2) utilizadas en este texto proceden de las propuestas por la Organización Internacional de Normalización (ISO, 2003) para su aplicación a un producto o a un servicio.

En términos prácticos, la «garantía de calidad» es la suma de todas las actividades realizadas para asegurarse de que la información generada por el laboratorio sea correcta (Wilcox *et al.*, 1978). Se trata de un proceso deliberado, que no hay que dejar al azar o aplicar sólo cuando se identifican deficiencias. En un programa de garantía de calidad bien estructurado también se proporcionan a las personas que trabajan en el laboratorio y sus supervisores medidas objetivas de los resultados y una indicación de si el laboratorio está consiguiendo sus metas o no.

El control de la calidad tiene un significado mucho más limitado que la garantía de la calidad; normalmente se refiere a procedimientos formulados para garantizar que la calidad de los datos se siga manteniendo dentro de unos límites definidos. Incluyen normas de preci-

Cuadro 8.2 Terminología de evaluación de la calidad

Calidad de los datos	Resumen de todas las características que hacen que los valores sean apropiados para el uso previsto
Control de calidad	Técnicas y actividades operacionales que se utilizan para satisfacer los requisitos de calidad
Garantía de calidad	Conjunto de todas las medidas previstas y sistemáticas necesarias para tener suficiente confianza en que un producto, proceso o servicio se ajustará a determinados requisitos de calidad
Buenas prácticas de laboratorio	Proceso organizativo y condiciones en las que se planifican, realizan, supervisan, registran y notifican los estudios de laboratorio

sión y exactitud de las operaciones analíticas, que dependen de los criterios establecidos por los usuarios de la información sobre la composición y los compiladores de las bases de datos. Las normas de control de calidad establecidas por los químicos analíticos pueden ser innecesariamente estrictas para la mayoría de los fines nutricionales; sin embargo, el control de calidad sigue siendo vital para garantizar que no se introduzca ninguna desviación.

Así pues, el objetivo del control de calidad es producir datos de composición de alimentos que cumplan las normas exigidas y que puedan obtenerse de manera eficaz y económica. Para conseguir esto hay que integrar varias etapas relacionadas entre sí: especificación correcta de la calidad de los datos que se requieren; obtención de los datos para alcanzar el objetivo de la especificación; evaluación de los datos para determinar si cumplen o no la especificación; y examen de la utilización de los datos para disponer la revisión de la especificación.

El término «control de calidad» se utiliza con frecuencia sólo en el sentido más estricto, es decir, la vigilancia de los resultados de los métodos analíticos (Büttner *et al.*, 1975); en realidad debe abarcar todos los aspectos del proceso analítico, desde la recogida de las muestras de alimentos, la manipulación y el tratamiento de las muestras analíticas, la preparación de patrones, la medición de señales y la validación de los métodos hasta la manipulación y evaluación de los datos (Harnly y Wolf, 1984; Garfield, 1984).

Ámbito y aplicación de la garantía de calidad

La garantía de calidad dentro del laboratorio se aplica de tres maneras principales:

1. **Prevención:** Medidas adoptadas antes del análisis para garantizar la exactitud de la prueba analítica (por ejemplo, mantenimiento y calibración de los instrumentos, comprobación de los reactivos, capacitación del personal).
2. **Evaluación:** Procedimientos aplicados durante las pruebas para determinar si los sistemas de análisis funcionan de manera correcta (por ejemplo, la utilización de patrones y blancos, el mantenimiento de los gráficos de calibración, etc.).
3. **Corrección:** Medidas adoptadas para corregir el sistema cuando se detecta un error o la posibilidad de que se produzca (por ejemplo, nueva calibración del equipo, sustitución de reactivos, etc.) (adaptado de Wilcox *et al.*, 1978).

La característica fundamental de un programa de garantía de calidad es la documentación apropiada de todas las actividades que intervienen en la obtención de los datos sobre la composición, desde la formulación del protocolo de muestreo hasta la producción final de los datos analíticos.

Entre las actividades que intervienen en la garantía de la calidad deben figurar las siguientes:

1. Capacitación del personal en los métodos apropiados y suministro de instalaciones y equipos idóneos.
2. Control de calidad de los reactivos, los objetos de vidrio y los disolventes y del funcionamiento de los instrumentos y demás equipo.

3. Mantenimiento de un sistema adecuado de registro.
4. Máxima atención a todos los aspectos del muestreo (Capítulo 5).
5. Utilización apropiada de grupos control y estándares de referencia.
6. Replicación del muestreo y el análisis.
7. Examen cuidadoso de los resultados, incluida la comparación con los de otros laboratorios; selección de análisis para su repetición.
8. Preparación y examen de los informes.

La garantía de calidad se efectúa mediante las buenas prácticas de laboratorio, que comprenden tres aspectos principales: gestión; control de calidad del muestreo y control de calidad de los resultados del método analítico.

Gestión

La gestión es la función general de dirección del laboratorio de análisis de los alimentos para conseguir sus objetivos. No sólo incluye funciones administrativas, sino que también determina el tipo de funcionamiento del laboratorio, sus objetivos y si los consigue o no. Las tareas de gestión en el presente contexto son las siguientes:

1. Establecer y explicar los objetivos del laboratorio a todo el personal que interviene en las actividades de muestreo y análisis.
2. Formular el plan de acción y las políticas del laboratorio. Esto supone definir las medidas necesarias para garantizar la calidad del trabajo, implantarlas y velar por que se cumplan.
3. Organizar e integrar al personal, las instalaciones, el equipo y el material de manera que el laboratorio pueda alcanzar sus objetivos día a día.
4. Evaluar los resultados del laboratorio e introducir los cambios o innovaciones que se consideren convenientes con fines de corrección o mejora.

Se necesita una gestión eficaz en tres sectores que tienen una importancia decisiva en la función del laboratorio: el entorno físico, el personal y la administración.

Entorno físico

Muchos de los laboratorios de análisis de la composición de los alimentos tienen estructuras materiales que distan de ser ideales. Sin embargo, es mucho lo que se puede conseguir en condiciones adversas, especialmente si el espacio disponible está bien organizado y se presta atención a la inocuidad. En Horwitz *et al.* (1978) se enumeran las siguientes necesidades especiales de un laboratorio de análisis de los alimentos: i) ventilación extremadamente buena y campanas de extracción de humos, debido a la amplia utilización de disolventes y la formación de humos tóxicos y corrosivos; ii) suficiente energía para los calentadores y los instrumentos; iii) calidad y volumen elevados de agua destilada (o desionizada) para la preparación de reactivos y la dilución de partes alícuotas; iv) ausencia de contaminación ambiental (plomo, amianto, etc.), generada por el laboratorio (mercurio, humos, etc.), y doméstica (polvo, insectos, roedores, etc.), y v) una gran capacidad de almacenamiento de muestras y reactivos,

incluido espacio de cámara frigorífica y congelador. Para el análisis de ciertos nutrientes pueden ser necesarias instalaciones especiales, como un entorno «limpio» para los oligominerales y una iluminación especial para los nutrientes fotosensibles. Pocos laboratorios tienen una gama tan completa de instalaciones especializadas, pero la lista indicada puede ser útil al planificar la introducción de mejoras en un laboratorio existente. También se puede encontrar asesoramiento práctico en el examen efectuado por Rappoport *et al.* (1978).

Por lo que respecta al equipo, muchos laboratorios tal vez no se encuentren en condiciones de poder elegir. El criterio principal es que puedan realizarse con él las tareas establecidas. El equipo especializado y/o la automatización pueden permitir alcanzar niveles más elevados de precisión y generalmente mejoran el control de calidad de los análisis, pero no son un requisito previo esencial para una labor analítica válida.

Los programas de mantenimiento, comprobación y sustitución periódicos del equipo son útiles y hay que prestar atención a la inocuidad y la seguridad; estos temas se examinan con detalle en Wilcox *et al.* (1978).

Personal

La selección y la capacitación del personal son esenciales, al igual que la oportunidad de actualizar los conocimientos prácticos. Lo ideal es que cada empleado disponga de una descripción precisa de sus funciones y de pautas claramente definidas para informar a un supervisor. Es esencial un nivel elevado de motivación para lograr un trabajo de buena calidad. La mejor manera de conseguirlo es establecer objetivos bien definidos y asegurarse de que los analistas tengan claras sus funciones y responsabilidades en el funcionamiento general. En todas las tareas de laboratorio, el trabajador que está realizando el trabajo es el principal factor determinante de la calidad analítica, y así lo deben entender él mismo y los encargados de todos los niveles. Lo ideal es que cada empleado sienta que su propia tarea cuenta y que un trabajo de buena calidad no es sólo una responsabilidad de un equipo, sino también un resultado de un equipo.

Muchos laboratorios realizan actividades relacionadas con la composición de alimentos por contrata, utilizando personal por breves períodos. Un objetivo importante del programa es el mantenimiento de su moral, aunque resulte difícil.

Administración

La administración abarca todos los aspectos de la burocracia del laboratorio. Todos los procedimientos del laboratorio deben constar en un manual de garantía de calidad que incluya instrucciones sobre el muestreo, los métodos de análisis y los procedimientos de control de calidad. Además, se debe elaborar y utilizar un sistema de registro de todas las muestras que llegan al laboratorio. Este registro contiene toda la información necesaria para identificar la muestra del alimento (véase el Capítulo 5) y está vinculado a la anotación de los resultados analíticos finales. Este sistema se aplica a todas las muestras que llegan al laboratorio. La preparación del manual da carácter oficial a los procedimientos y, siempre que se aliente al personal del laboratorio a contribuir con observaciones y sugerencias, ayuda a perfeccionar las buenas

prácticas de laboratorio.

Es importante que el personal cuyos procedimientos de trabajo figuran en el manual lo utilice. Existe el peligro de que, si el manual se considera como un fin en sí mismo y no se usa ni sirve de orientación, no se consigan los objetivos que motivaron su elaboración.

Debe alentarse al personal a mantener un cuaderno de laboratorio bien organizado y a preparar hojas de datos normalizadas para anotar los valores analíticos finales. El proceso de establecimiento de sistemas de registro, separado pero relacionado con el resto, proporciona también un sistema disciplinado para la labor del laboratorio y puede permitir identificar posibles problemas. Es prudente, sin embargo, someter a prueba en un estudio piloto todo sistema nuevo antes de aplicarlo y reconocer que puede necesitar modificaciones a lo largo del tiempo. Un buen sistema de registro facilita la búsqueda retrospectiva a través de todos los cálculos y mediciones para identificar y corregir cualquier error que pueda producirse en el registro.

Control de calidad del muestreo

El muestreo se examina con detalle en el Capítulo 5; aquí sólo interesa subrayar que el control de calidad del muestreo es el primer paso esencial en el conjunto del programa de garantía de calidad y que el personal analítico debe participar en la formulación de los planes de muestreo. Es más, la participación directa en la recogida de las muestras de alimentos proporciona al analista una percepción de los problemas prácticos del muestreo. La necesidad de procedimientos definidos para la manipulación de las muestras en el laboratorio también se debe considerar que atañe al analista.

Control de calidad de los resultados del método analítico

(de Horwitz *et al.* [1978], adaptado con su autorización)

El tercer sector importante de aplicación de la garantía de calidad en el laboratorio es el control de calidad de los resultados de los análisis. En los estudios sobre composición de alimentos debe prestarse una gran atención a esta cuestión, puesto que todas las muestras que se reciban para su análisis deberán tratarse, en principio, como si su composición fuera desconocida.

Los resultados de un método analítico requieren la validación de la totalidad del sistema (Horwitz *et al.*, 1978): el laboratorio con su entorno, equipo y reactivos; el analista, con su competencia individual, su experiencia y sus conocimientos, y el método, con su idiosincrasia y características.

El método se selecciona en función de la importancia relativa de las distintas características, como consecuencia de la experiencia anterior o sobre la base de los informes bibliográficos. La elección del método se examina en los Capítulos 6 y 7. Sin embargo, es esencial que el laboratorio verifique que el método funciona debidamente en la práctica real. Como se explica en los Capítulos 6 y 7, cada sustrato de alimento puede presentar

una serie de problemas totalmente diferentes para el análisis de cada componente. La selección o preparación de una matriz estándar apropiada puede requerir una competencia y un ingenio considerables.

Especificaciones para los valores analíticos

En primer lugar, debe especificarse la calidad que se requiere en los datos analíticos. Estas especificaciones se basarán en los criterios de fiabilidad examinados con detalle en los Capítulos 6 y 7 (especificidad, exactitud, precisión, sensibilidad [Büttner *et al.*, 1975]), y dependerán tanto del componente que se vaya a analizar como de la matriz en la que esté presente.

Por ejemplo, al establecer los criterios de especificidad para el análisis de la vitamina C, es esencial que el método mida solamente el ácido ascórbico y el ácido dehidroascórbico, ambos con actividad vitamínica. Los analistas entienden razonablemente bien las interferencias en la mayor parte de los métodos para la vitamina C y pueden controlarlas o permitir las en el análisis. Para otros nutrientes pueden ser adecuados métodos que midan una gran variedad de sustancias (Capítulo 7). Algunos componentes son difíciles de definir desde el punto de vista analítico y para ellos es probable que haya que descartar los métodos disponibles en la actualidad.

El grado de exactitud con el que se realiza y notifica un análisis debe establecerse con un cierto número de cifras significativas, en función de la precisión del método. Tres cifras significativas son, en la mayoría de los casos, el máximo que se requiere en una base de datos de alimentos, pero en muchos sistemas analíticos se generan más cifras significativas (con frecuencia engañosas). En los análisis de nutrientes, la búsqueda de precisión citando valores con cuatro o cinco cifras significativas es un planteamiento erróneo desde el punto de vista analítico, ya que ningún método posee tal grado de exactitud, y supone además una mala administración de los recursos.

La precisión que se requiere debe estar relacionada no sólo con el propio método, sino también con el nivel previsto del nutriente. En cuanto a la exactitud, puede ser antieconómico dedicar recursos a mejorarla si el nivel del nutriente en el alimento es bajo en relación con la ingesta dietética en conjunto o si el alimento es de raro consumo. Es imprescindible establecer criterios realistas para los niveles aceptables de precisión; puede no ser necesario mejorar los valores que tienen una desviación inferior al 10 por ciento de la media. Stewart (1980) ha propuesto normas de precisión y exactitud aceptables para estudios sobre composición de nutrientes.

En Wilcox *et al.* (1978) se enumeran las siguientes causas de error como las más frecuentes en los resultados de los métodos:

- a) elección inapropiada del método de análisis;
- b) falta de competencia o experiencia del analista;
- c) errores derivados de la aplicación del método no relacionados con la competencia del analista (por ejemplo, reactivos defectuosos);
- d) atención inadecuada a la calibración de los instrumentos y a la integridad de los estándares de referencia.

Técnicas para la validación de los resultados del método

La verificación de los resultados del método –paso esencial cuando se introduce un método en el laboratorio– puede realizarse mediante las siguientes técnicas (en los Capítulos 6 y 7 se examina la gama de procedimientos utilizados en la validación de los métodos al seleccionar procedimientos analíticos):

1. Muestras estándar. Lo ideal es preparar patrones con cantidades conocidas del componente que interesa, en la misma forma físicoquímica y en una matriz alimentaria semejante a la que se va a analizar. Es evidente que este ideal es prácticamente imposible de conseguir, pero pueden utilizarse diversos sustitutivos como patrones.

Los materiales de referencia (MR) y los materiales de referencia normalizados (MRN) respaldan las mediciones exactas y compatibles mediante la certificación y el suministro de muestras de composición bien caracterizada. Estos materiales se utilizan para la calibración de los instrumentos *in situ* como parte de los programas de garantía global de la calidad, para verificar la exactitud de mediciones específicas y respaldar el perfeccionamiento de nuevos métodos de medición. Los MR y los MRN están destinados a la determinación del contenido de nutrientes de dietas mixtas y de las distintas matrices alimentarias. Los MRN están certificados para componentes de la alimentación como las cenizas, las proteínas, los carbohidratos, las grasas, la energía, el colesterol, determinados ácidos grasos, las vitaminas, determinados minerales y los oligoelementos. En los Estados Unidos, el Instituto Nacional de Normas y Tecnologías (NIST, 2003a) proporciona numerosos MRN.

En Europa, el Instituto de Materiales de Referencia y Mediciones (IRMM, 2003) funciona como parte de la Dirección General del Centro Común de Investigación de la Comisión Europea. Proporciona materiales de referencia certificados (MRC) en diversas matrices alimentarias para macrocomponentes, elementos importantes y oligoelementos, 15 vitaminas, cinco métodos diferentes para fibras y otros componentes de los alimentos.

Los MRN y los MRC son en general bastante caros; para un uso ordinario pueden considerarse demasiado costosos y con frecuencia deben utilizarse alternativas.

Por este motivo, la ASEANFOODS emprendió la preparación de productos alimenticios de referencia con valores de consenso de diversos nutrientes (Puwastien, Sungpuag y Judprasong, 1999; Puwastien, 2000), en colaboración con laboratorios expertos de dentro y fuera de la región de Asia y el Pacífico. Se prepararon cuatro productos alimenticios de referencia, a saber, harina de arroz (AS-FRM1), harina de soja (AS-FRM2), cereales soja (AS-FRM3) y harina de pescado (AS-FRM4), con valores de consenso de los principales nutrientes y minerales, los cuales se encuentran actualmente disponibles en el Centro regional de datos de la ASEANFOODS. Estos materiales de referencia se han utilizado para programas de control de calidad de los laboratorios y como materiales de prueba para estudios sobre los resultados de los laboratorios en la Asociación de Naciones del Asia Sudoriental (ASEAN) y en otros países en desarrollo.

Tal vez sea imposible producir estándares de referencia para algunos nutrientes presentes en una matriz alimentaria compleja. Puede prepararse una mezcla de sustancias puras, pero

no se pueden simular las propiedades físicas o las relaciones entre los componentes dentro de dichos alimentos. En ausencia de un MRN, un laboratorio que realice normalmente ciertos tipos de determinaciones debe procurarse materiales normalizados de trabajo (patrones internos); consisten en una gran cantidad de un producto homogéneo (poniendo un gran cuidado para lograr la homogeneidad) dosificado en pequeñas botellas cerradas herméticamente y almacenadas en condiciones que impidan su deterioro (Southgate, 1995). Deben analizarse periódicamente porciones de este material junto con cada análisis o serie de análisis y los resultados deben verificarse mediante la utilización de técnicas de gráficos de control. Torelm *et al.* (1990) describen un ejemplo de un producto alimenticio local de referencia «fresco» normalizado producido en Suecia: la carne enlatada con valores certificados para su contenido de humedad, cenizas, grasas, nitrógeno, sodio, cloruro sódico e hidroxiprolina. Se pueden elaborar y validar otros patrones internos frente a MR comprados, lo cual es útil cuando no es posible la compra de grandes cantidades de MR costosos.

El gráfico de control es «una representación gráfica con límites de control y valores marcados de alguna medida estadística para una serie de muestras o subgrupos. Normalmente se muestra una línea central» (American Society for Quality Control, 1973). Los resultados de una prueba de laboratorio se representan en el eje vertical, frente al tiempo (en horas, días, etc.) que aparece representado en el eje horizontal. Cada prueba de laboratorio se debe verificar con frecuencia y la escala horizontal debe ser lo suficientemente amplia como para abarcar hasta tres meses de datos. Puesto que el gráfico de control es un instrumento que proporciona un análisis «en tiempo real» e información de los antecedentes, debe comprender un período suficiente de tiempo y proporcionar suficientes datos para indicar tendencias, «desplazamientos» por encima y por debajo de la línea central o cualquier otra manifestación de falta de aleatoriedad (Mandel y Nanni, 1978; Taylor, 1987).

Se ha propuesto la utilización como patrones internos de polvos no desagregables, como la leche desnatada en polvo, la gelatina y la harina. Hay por lo menos un laboratorio que aplica un programa de control de calidad a nivel nacional y que utiliza habitualmente mezclas de polvo para alimentación parenteral (Ekstrom *et al.*, 1984).

Los componentes que se encuentran sólo en la grasa crean problemas, porque no se mantienen estables de manera indefinida, incluso durante el almacenamiento a baja temperatura, y la adición de antioxidantes para estabilizar los componentes lipídicos puede interferir en los análisis. Una solución es almacenar los alimentos con un alto contenido de lípidos en atmósfera de nitrógeno. Sin embargo, en general el MR debe renovarse periódicamente, y ha de estar previsto el análisis simultáneo de los patrones viejos y nuevos como verificación ulterior.

Cuando se dispone de un MRN o un patrón interno, éste proporciona el método más eficaz para vigilar de manera periódica los resultados de la técnica del laboratorio. La inclusión de un material estándar en una serie de determinaciones es considerablemente más sencilla que muchas de las otras técnicas que se han descrito. Las muestras estándar utilizadas en la actividad analítica ordinaria alertarán con prontitud al personal del laboratorio de cualquier problema, permitiendo la adopción inmediata de medidas correctivas.

2. Muestras normales (ordinarias). Si va a realizarse un análisis sobre un sustrato que es nuevo para el laboratorio, el método seleccionado deberá aplicarse a una serie de muestras ordinarias de alimentos que contengan una gama bastante amplia del componente de interés. Si no se dispone de dicha serie, deberá prepararse mezclando con cuidado cantidades conocidas del componente con una muestra de un alimento de composición conocida. No hay que intentar añadir directamente pequeñas cantidades de un componente a pesos elevados de un alimento; se deben obtener niveles bajos mediante diluciones sucesivas, comenzando preferiblemente con una solución del componente. La naturaleza del disolvente y la decisión de si se elimina o no dependerán de las características de la sustancia y del sustrato. Si no se puede enriquecer la muestra del alimento, la adición de cantidades conocidas del componente ha de realizarse en el primer paso posible del método. El tipo de serie más útil para la validación se prepara a partir de dos muestras de un mismo tamaño de partícula (en el caso de los sólidos), una con una concentración elevada del componente que interesa y la otra con una concentración baja. Se preparan muestras analíticas con concentraciones intermedias pesando y mezclando cantidades apropiadas de las dos muestras del alimento.

3. Series de muestras de verificación analítica. Ciertas organizaciones proporcionan de manera continua muestras de alimentos destinadas a verificar la estabilidad y fiabilidad de los análisis realizados en los laboratorios miembros. En Horwitz *et al.* (1978) y en Wolf e Ihnat (1985a) se detallan algunas de estas muestras, que pueden ser de especial utilidad para los analistas que se ocupan de composición de los alimentos

4. Muestras auténticas. A veces resulta útil analizar series de muestras que pueden considerarse representaciones auténticas de los alimentos de interés y cuya composición se describe con detalle en la bibliografía, por ejemplo, la leche de vaca, la harina de trigo, etc.

5. Muestras de alimentos previamente analizadas con un método diferente. Cuando se introduce un método desconocido o nuevo, es útil volver a analizar las muestras de alimentos que previamente se analizaron con otro método establecido. Dichas muestras han de analizarse mediante determinaciones repetidas, y luego hay que volverlas a analizar tras una dilución cuidadosa con algún material inerte, como agua, aceite o arena. Si las repeticiones y las diferencias entre las muestras son satisfactorias, normalmente se puede proceder sin riesgos.

6. Métodos internos de verificación de la fiabilidad. La amplia variedad de productos analizados en los estudios sobre composición de alimentos suele impedir la disponibilidad inmediata de estándares de referencia, muestras analizadas previamente, muestras auténticas o incluso muestras normales. Esto plantea una dificultad especial al analista a la hora de demostrar la validez de los valores obtenidos. Una opción lógica es la de la replicación de las determinaciones. Las réplicas reproducibles, en particular si las porciones analíticas replicadas son de tamaño desigual, suelen indicar que no se están cometiendo grandes errores, aunque los errores sistemáticos no quedan descartados. Otros métodos internos de verificación de

los resultados requieren la preparación de una serie de muestras elaboradas, el método de adiciones normalizadas y análisis de verificación por distintos analistas, métodos y laboratorios. Algunos de estos métodos internos se examinan con más detalle en los Capítulos 6 y 7 y a continuación.

Determinaciones replicadas. Tanto la precisión como la exactitud se evalúan por medio de ensayos replicados en porciones de la misma muestra del alimento (que se supone que son estables e idénticas en cuanto a la cantidad de analito que se investiga). En terminología estadística, los resultados replicados se consideran muestras aleatorias de una población hipotética de réplicas; la media (así como otras medidas de localización o tendencia central) de estas muestras refleja los resultados del método con respecto a la exactitud, y la desviación estándar (así como otras medidas de dispersión) refleja su precisión.

El mínimo que se requiere normalmente para los estudios sobre composición de alimentos son análisis en duplicado. La concordancia entre los duplicados debe quedar dentro de la precisión establecida del método. Cuando queda fuera de estos límites, hay que realizar nuevas replications. Después, se debe calcular la media sobre la base de todos los resultados, a menos que haya motivos muy convincentes para excluir ciertos valores repetidos. No es posible establecer normas rigurosas y rápidas para la precisión; deben elaborarse directrices para cada nutriente, en los niveles previstos en cada matriz alimentaria.

Estudios de recuperación. Cuando se dispone de un componente como material bien caracterizado de pureza conocida, es posible realizar estudios de recuperación en los cuales se añade una cantidad definida del componente a las porciones del alimento que se analizan. El análisis del alimento solo y con el componente añadido puede utilizarse para calcular la recuperación del componente añadido (o «enriquecimiento»). Si se realiza una serie de adiciones, se pueden medir los efectos de la concentración. Sin embargo, la recuperación de un componente añadido ofrece con frecuencia una indicación engañosa de la medición del componente presente de manera natural en la matriz alimentaria. Si no se dispone de material para el enriquecimiento, puede ser necesario enriquecer porciones de la propia muestra del alimento, utilizando el método de las adiciones normalizadas (véase *infra*).

En cualquiera de los dos casos –una serie de muestras con material añadido o una muestra enriquecida mediante una serie de adiciones– las concentraciones calculadas después del análisis deben ser una función lineal de las concentraciones añadidas. Para que pueda considerarse satisfactoria, es necesaria la recuperación de más del 90 por ciento.

Wolf (1982), señalando que el método de las adiciones normalizadas se «utiliza como panacea para los efectos de la matriz», advierte que «hay que tener cuidado para no utilizar de manera indebida esta técnica. Una hipótesis básica [...] es que hay un intercambio químico completo entre el elemento añadido a la muestra y el elemento endógeno y que los dos reaccionan de manera idéntica a la matriz. Con frecuencia es difícil validar esta hipótesis. Además, el método de las adiciones normalizadas no corrige las interferencias espectrales, cuando la matriz introduce señales engañosas en el sistema de detección [...] En el método de las

adiciones se supone también una curva de respuesta lineal en la gama de las adiciones». Sin embargo, Wolf llega a la conclusión de que «el método de las adiciones puede ser útil cuando el efecto de la matriz se ha identificado completamente como de carácter químico» y se han validado las hipótesis relativas al intercambio con elementos endógenos.

Tampoco es aplicable el propio enriquecimiento de la muestra (a pesar de las recuperaciones aparentemente satisfactorias) si el analito es fácil de recuperar cuando se añade como material puro, pero en su estado natural se encuentra combinado mediante una unión física o química con otros componentes de la muestra, lo que dificulta su recuperación. Este problema es frecuente cuando hay proteínas presentes, como ocurre en la mayoría de los alimentos. En este caso el problema de la extracción del analito es el más importante.

Las pruebas de recuperación tienen, sin lugar a dudas, limitaciones importantes como medida de la exactitud de la recuperación. Si la recuperación es escasa, significa que el método no se comporta de la manera adecuada, si bien el hecho de que sea buena no garantiza un resultado satisfactorio.

Cálculos y análisis de verificación. Probablemente los procedimientos de verificación más útiles aplicados en los estudios sobre composición de alimentos sean los cálculos y los análisis.

El primer paso es que otro analista realice de manera independiente todos los cálculos del primer analista. Estas verificaciones deben incluir todas las operaciones secundarias, como la derivación de las ecuaciones, la normalización de las soluciones, la preparación de curvas estándar, la medición de los picos registrados y la calibración de los instrumentos. Esta práctica es una de las operaciones más rentables de la gestión de un laboratorio, debido a la elevada frecuencia de errores matemáticos y simples equivocaciones.

Una segunda práctica rentable es la preparación de una nueva curva estándar con soluciones estándar recién preparadas. La nueva curva estándar se ha de corresponder de manera aceptable con la original. La preparación inadecuada de soluciones estándar a partir de cálculos, pesos o partes alícuotas incorrectos es una fuente frecuente de error. Debido a su inestabilidad, las soluciones estándar diluidas deben estar recién preparadas a partir de soluciones más concentradas.

El mejor sistema de análisis de verificación consiste en que un segundo analista, preferiblemente con más experiencia, repita el análisis siguiendo el mismo método con una porción separada de la misma muestra analítica. El análisis no se puede considerar de verificación si comienza después de la fase inicial, por ejemplo, con una parte alícuota de una digestión por oxidación húmeda. Es preferible preparar una nueva muestra analítica a partir de la muestra de alimento original, porque permite estimar el error introducido durante la preparación de la primera.

Sin embargo, la repetición del mismo método no es satisfactoria cuando ese método contiene un sesgo inherente o lo introduce de manera sistemática por alguna característica del producto que se analiza. En estos casos es conveniente un análisis de verificación utilizando un método basado en un principio diferente (si lo hay). Este sistema sólo se suele utilizar cuando se analizan alimentos raros o poco comunes y se comprueba que contienen

un nutriente en concentraciones insólitamente altas o bajas. En este caso no se detectarán los errores introducidos durante la preparación de la muestra analítica.

Otra posibilidad, que se debe utilizar con más frecuencia y no sólo como último recurso, es enviar una muestra a otro laboratorio para su análisis como alimento desconocido. Se puede indicar el orden de magnitud del componente, a fin de eliminar la necesidad de análisis exploratorios. El análisis por un segundo laboratorio como verificación ocasional de muestras normales (véase *supra*) es también una buena manera de mantener la competencia del analista en ambos laboratorios. El intercambio de muestras de alimentos o muestras analíticas es particularmente útil cuando se pone en marcha un laboratorio o un método nuevo.

Análisis a ciegas. A ser posible deben codificarse todas las muestras de alimentos y debe prepararse una serie de repeticiones ocultas un analista que no será quien haga las determinaciones reales, de manera que el análisis se pueda realizar sin sesgos.

Variaciones analíticas permitidas

Para cada procedimiento analítico ordinario y tipo de alimento deben establecerse las variaciones permitidas entre las réplicas del mismo analista y entre analistas del mismo laboratorio. En el caso de un método bien documentado, los resultados de los estudios en colaboración proporcionan criterios suficientes para la aceptabilidad de los valores. Las variaciones dentro de un laboratorio deben ser menores que las registradas entre laboratorios, o por lo menos no mayores. En principio no hay ningún motivo para que deban ser diferentes, pero en la práctica se producen variaciones en el equipo, los reactivos y los sistemas de los distintos analistas.

En los estudios de un método o en los análisis de verificación, las réplicas deben realizarse en lotes separados y en días diferentes. La comparación de los resultados obtenidos en estas condiciones a veces pone de manifiesto errores sistemáticos.

Técnicas para la detección y corrección de errores en los cálculos y los registros

La anotación correcta de los resultados se puede facilitar si el laboratorio prepara sistemas normalizados de recogida de datos. Se pueden imprimir o fotocopiar hojas de datos y entregarlas a los trabajadores del laboratorio para que las utilicen. En los laboratorios donde se usan computadoras para la obtención directa de los datos a partir de los instrumentos se puede utilizar un sistema informatizado. Todos los registros del laboratorio deben mantenerse de una manera sistemática y accesible, a fin de que se pueda establecer, en caso necesario, un «seguimiento de comprobación» o de búsqueda retrospectiva en los registros para identificar las fuentes de error.

Horwitz *et al.* (1978) mencionan los problemas que tuvieron los árbitros asociados de la AOAC para realizar estudios entre laboratorios de métodos analíticos nuevos y mejorados. Comentan el número de informes de colaboradores que calcularon incorrectamente los resultados, con errores en tareas sencillas como la medición correcta de los picos registrados y la inserción de los valores apropiados en una ecuación proporcional.

Para satisfacer la necesidad evidente de exactitud aritmética en la realización de los cálculos, los manuales de instrucciones de los laboratorios deben describir su lógica y proporcionar ejemplos; esta claridad contribuirá a garantizar que los datos se registren de manera correcta y se introduzcan debidamente en las ecuaciones correspondientes.

Cuando el cálculo de la superficie se realiza a mano, cada gráfico debe estar claramente etiquetado con la identidad de cada pico, la base para la identificación, el área del pico, etc., a fin de disponer de una referencia cruzada con los cuadernos de laboratorio. Los sellos de caucho con la fecha son útiles; para algunos análisis, un sello de caucho especialmente preparado puede constituir una guía práctica de identificación de los picos y demás información en los gráficos.

Para eliminar los errores de cálculo, lo ideal es que una segunda persona examine los datos brutos originales –gráficos registrados, lecturas de los aparatos de medida, pesos, volúmenes y tiempos– y verifique los cálculos. Para las señales cromatográficas o los gráficos de espectros, se debe examinar la elección correcta de los picos y compararlos con los picos de los patrones. Esto también es importante cuando se utilizan integradores informáticos si el listado está separado del propio gráfico. Las áreas del pico impresas han de equipararse con los picos y han de verificarse los tiempos de retención.

También hay que examinar los gráficos para garantizar que los instrumentos funcionaron correctamente, que no hubo interferencias de materiales, que la resolución o separación de los picos fue adecuada, que se utilizó la sensibilidad apropiada y que se eligieron y utilizaron bien los blancos y grupos control.

Cuando se examina sólo una muestra o un pequeño número de ellas de un producto determinado, hay pocas pruebas que permitan juzgar la fiabilidad de los resultados; en ese caso resulta aún más importante utilizar verificaciones apropiadas de los procedimientos en todas las etapas.

Una verificación final de la idoneidad y fiabilidad de los resultados notificados se basa en su compatibilidad con los valores indicados con anterioridad, con la bibliografía y con las características conocidas de los resultados del método.

Interpretación de los valores analíticos

Una vez obtenido un resultado analítico mediante un método de análisis válido, debidamente aplicado sobre una porción analítica homogénea, se deben adoptar varias medidas para garantizar que los resultados se interpreten correctamente en el contexto de la finalidad del análisis.

Todos los valores, previstos o no, han de ser objeto de un examen detenido. Si bien es útil la práctica habitual de comparar la nueva información con los valores ya publicados para el mismo alimento, puede ser una fuente de sesgos si los análisis se repiten solamente para los valores que se desvían de la norma; puede haber una tendencia a aceptar sólo los datos que se ajustan a los valores establecidos. No obstante, cualquier muestra que dé lugar a resultados insólitamente altos o bajos ha de someterse a análisis repetidos y a una validación específica, junto con algunos alimentos que produjeron los valores esperados.

Si los resultados imprevistos se validan analíticamente, se debe investigar la recogida, manipulación o preparación de la muestra del alimento. Por ejemplo, cualquier valor elevado de los minerales puede deberse a la contaminación en el laboratorio (quizás por una trituradora o un homogeneizador). En estos casos se debe repetir el análisis de tal manera que no se produzca la contaminación. Si se demuestra la ausencia de contaminación en todas las operaciones realizadas en el laboratorio, se deben examinar posibles fuentes de contaminación en el medio ambiente de la planta o el animal a partir de los cuales se obtuvo el alimento. Si la muestra de alimento se recogió cocinada, hay que buscar posibles fuentes de contaminación durante la cocción (por ejemplo, un recipiente de hierro, una broqueta de metal o una placa o una rejilla de asar de hierro). Si la muestra de alimento se preparó y recogió de manera que fuera representativa del alimento tal como suele estar disponible para la comunidad, se puede considerar que la contaminación contribuye al valor real y representativo del alimento. Sin embargo, puesto que la contaminación derivada del medio ambiente o durante la cocción no contribuye necesariamente a la composición normal del producto alimenticio, en los informes escritos hay que prestar atención a estos valores insólitos y a su importancia nutricional.

Se pueden aplicar algunos cálculos sencillos como verificaciones aproximadas sobre la idoneidad de los valores. Por ejemplo, las cantidades sumadas de los componentes de las cenizas no deben ser superiores al valor de la ceniza total, y la suma de los componentes determinados tampoco debe ser superior al 100 por ciento del peso de la muestra analítica en un análisis completo (son generalmente aceptables sumas del orden del 97 al 103 por ciento del peso de la muestra analítica). Cuando se dispone de análisis completos, pruebas de sentido común como éstas pueden ayudar a determinar la fiabilidad o, con más frecuencia, la no fiabilidad de los resultados notificados.

Informe final de los datos analíticos

En todos los informes de los datos analíticos, publicados o no, han de enumerarse los procedimientos que se aplicaron en el laboratorio para garantizar la calidad de dichos datos (por ejemplo, los niveles de las recuperaciones, la utilización de MRN u otros patrones).

Como norma general no deben aplicarse factores de corrección al calcular el resultado final notificado. Habitualmente se deben comunicar tanto el valor real encontrado como los factores de recuperación determinados en el curso del análisis. Los factores de recuperación no suelen ser constantes de una vez para otra y su variabilidad es un elemento importante relacionado con el funcionamiento que se utiliza en la interpretación de los resultados del análisis. Cuando el factor de corrección varíe con el tipo de alimento, se debe utilizar el apropiado y luego calcularlo corregido en función de la recuperación. Como ya se ha indicado, la manera más fácil de evitar equivocaciones y ambigüedades es notificar los resultados reales, los factores de recuperación y los valores corregidos.

Observaciones finales

A pesar de las dificultades que plantea, es esencial mantener un sistema continuo de control de calidad. En un laboratorio cuyo mayor volumen de trabajo consista en el análisis de distintos componentes en diversos alimentos, el esfuerzo debe concentrarse en el mayor número posible de procedimientos de control de calidad aplicables. Esta situación exige la utilización de muestras de alimentos estándar previamente analizadas o de muestras de alimentos analizadas en otros laboratorios para usarlas como testigos simultáneos, y una participación superior a la normal en series de muestras de verificación y en ensayos en colaboración. Cabe suponer que los analistas y los laboratorios que obtienen sistemáticamente resultados de una calidad alta en las series de muestras de verificación y en los ensayos en colaboración conseguirán en los análisis ordinarios cotidianos resultados más fiables que los laboratorios que no pueden presentar pruebas de la idoneidad de sus resultados.

Las consecuencias de no lograr mantener un programa de garantía de calidad justifican el tiempo y los gastos de su aplicación. Los datos incorrectos pueden tener consecuencias importantes para los consumidores y para los programas de composición de alimentos; si los compiladores de bases de datos cada vez más complejas rechazan la información, el laboratorio que la produce pierde credibilidad.

Capítulo 9

Convenios y formas de expresión de los datos de composición de alimentos

En una base de datos de composición de alimentos se requiere una gran variedad de cantidades, unidades y formas de expresión de carácter básico, en función de las aplicaciones específicas de los datos. En general, los datos de composición se expresan como cantidad de masa, siendo la unidad que sirve de base el kilogramo (kg) (BIPM, 2003; NIST, 2003b). A efectos de la composición de los alimentos se entiende que es el peso y por convenio los datos se suelen notificar por 100 g de porción comestible. Sin embargo, también se pueden expresar utilizando otras bases, como el tamaño de las porciones o las unidades domésticas, por 100 ml o por kg, o tomando como base la energía (por ejemplo, nutrientes por 1 000 kJ), las proteínas (aminoácidos por 100 g de proteínas), el nitrógeno (aminoácidos por g de N), los lípidos totales (ácidos grasos por g de ácidos grasos totales) y otras.

En principio, todas las bases de datos de usuarios especializados se pueden derivar de una base de datos de referencia principal exhaustiva. Aquí no se examinan las maneras de mantener y manipular la información en el seno de cualquier sistema informático de gestión de datos, que dependen del sistema operativo preferido o la gestión ordinaria de los datos. Sin embargo, los compiladores de una base de datos de composición de alimentos deben ser conscientes de varias cuestiones generales relativas a la obtención y la documentación de la información.

Valores de los datos

Para los valores de los datos se facilitan las indicaciones que figuran a continuación.

Valores analíticos

Deben documentarse cuidadosamente, de manera que sea posible localizar la fuente primaria de los datos e identificar los métodos analíticos utilizados.

Valores ausentes

Es prácticamente imposible disponer de series completas de datos para todos los nutrientes.

Es imprescindible que en la base de datos se identifiquen los valores ausentes y se advierta al usuario siempre que se seleccionen, en la entrada o la búsqueda, artículos alimenticios a los que falten valores. Esto es particularmente importante en los programas informáticos, en los que hay que señalar a la atención del usuario las ingestas calculadas de nutrientes (o la composición calculada de nutrientes de las recetas) con valores ausentes.

Valores cero

El cero se puede utilizar cuando se ha demostrado analíticamente que un componente no está presente en la muestra del alimento. En sentido estricto, el uso del «cero» significa que cualquier cantidad presente está por debajo de los límites de detección o cuantificación del método de medición empleado. Si bien el cero se puede utilizar para indicar que la cantidad presente es inferior al nivel nutricionalmente significativo, en estos casos, sin embargo, es preferible usar el término «traza». Una excepción es cuando hay una buena razón para pensar que no está presente ninguno de los componentes, por ejemplo, la vitamina B₁₂ en los alimentos vegetales. En estos casos tal vez no se necesiten análisis y la fuente u origen de los valores se puede mencionar como «supuestamente» o «presumiblemente» cero.

Valores traza

«Traza» significa que el componente está presente, pero en una concentración tal que no se puede medir de manera adecuada. También se puede utilizar cuando el nivel se considera insignificante desde el punto de vista nutricional. Es conveniente definir estos límites en la documentación de la base de datos. En muchas bases de datos de composición de alimentos estos valores se expresan como «T» o «tr» y a menudo representan la única entrada no numérica aceptable en un campo de valores de datos. El Cuadro 9.1 contiene algunas propuestas de límites con un mayor grado de oficialidad para los diversos componentes, basadas, aunque de manera intuitiva, en los métodos usados en la actualidad.

Valores atribuidos

En ciertos casos se puede sustituir la falta de un valor analítico por un valor estimado o atribuido basado en un alimento semejante (véase el Capítulo 1). Cada valor atribuido se debe documentar de manera completa para cada tipo y fuente/origen de datos.

Valores calculados

Con frecuencia se utilizan valores obtenidos mediante un cálculo para platos de alimentos mixtos, recetas y algunos alimentos elaborados. Estos productos alimenticios se deben distinguir en la descripción mediante una declaración en este sentido y ha de haber un campo con una lista de los registros de los alimentos con sus ingredientes utilizados en los cálculos. Todos los valores se deben documentar de manera completa para cada tipo y fuente/origen de datos.

Cuadro 9.1 Formas de expresión de los valores de la composición de los alimentos en las bases de datos de referencia y de los usuarios (por 100 g de porción comestible del alimento)

Componente	Unidad	Número de dígitos significativos	Límites propuestos en la base de datos		Traza = menos de
			Valor	Límite	
Energía	kJ (kcal)	3	1-999	±1	0,6
			>1000	±10	6
Principales componentes (agua, proteínas, grasas, carbohidratos, fibra dietética, alcohol, ácidos orgánicos)	g	3		±0,1	0,06
Aminoácidos	mg	3		±0,1	0,06
Ácidos grasos	g	3		±0,1	0,06
	mg	3		±0,1	0,06
Colesterol	mg	3		±1	0,6
Componentes inorgánicos	mg	3	1-9	±0,1	0,06
	mg	3	10-99	±1	
	mg	3	>100	±10	
	µg	2	100-1000	±10	6
Vitaminas					
Vitamina A					
Retinol	µg	3		±1	0,6
Carotenos	µg	3		±1	0,6
Vitamina D	µg	2		±0,1	0,06
Vitamina E					
Tocoferoles	mg	2		±0,01	0,006
Vitamina K	µg	2		±0,1	0,06
Vitaminas del grupo B					
Tiamina	mg	2		±0,01	0,006
Riboflavina	mg	2		±0,01	0,006
Niacina	mg	2		±0,01	0,006
Vitamina B ₆	mg	2		±0,01	0,006
Ácido pantoténico	mg	2		±0,01	0,006
Biotina	mg	2		±0,01	0,006
Vitamina B ₁₂	µg	2		±0,01	0,006
Folatos	µg	2		±0,1	0,06
Vitamina C	mg	3		±0,1	0,06

Formas de expresión

Para que los sistemas de bases de datos de composición de alimentos sean compatibles hay que institucionalizar la manera de expresar la información (Klensin *et al.*, 1989). En la mayoría de los casos se deben utilizar como base los convenios nutricionales ya bien arraigados o los acuerdos internacionales sobre el uso preferido. Para los casos en los que no se haya alcanzado un acuerdo, en este capítulo se proponen los convenios más utilizados. El intercambio y la compatibilidad de los datos se facilitarían si se expresaran también de manera más uniforme en sus fuentes originales.

Bases de expresión

La base de expresión se debe elegir de manera que se ajuste al uso específico de la base de datos. La base más común es la de g/100 g de porción comestible del alimento, aunque la expresión en función del tamaño de la porción o de medidas domésticas es adecuada para muchas bases de datos de los usuarios con fines especiales. La expresión por kg es menos práctica para los usuarios y puede conllevar el uso de un número de cifras significativas mayor del que se puede justificar (véase *infra*). Para los datos y las bases de datos de composición de alimentos se propone la utilización de los 100 g como base, excepto para las bases de datos con fines especiales y para algunos otros elementos que se identifican a continuación.

La porción comestible es en sí un valor que se debe registrar en la base de datos. Se refiere a la proporción de la parte comestible del alimento bruto tal como se recoge o se compra, expresada en peso. La proporción de materia comestible en el alimento cocinado se expresa a menudo en función del alimento bruto.

Alimentos líquidos

Dado que los alimentos líquidos se miden a menudo por volumen, se podría utilizar la expresión sobre una base de 100 g ó 100 ml. Es conveniente registrar la densidad de estos alimentos, de manera que se puedan realizar las conversiones oportunas. Los líquidos con una viscosidad elevada se suelen medir por peso, siendo ésta la forma de expresión preferida.

Cifras significativas

El último dígito citado en el valor debe reflejar la precisión del análisis y los valores no se deben citar de manera que puedan crear una falsa impresión de la precisión con la que se puede medir un componente. Debido a que la composición de los alimentos es variable, también es totalmente incorrecto citar valores que impliquen que la composición se define a un nivel superior al de su variación natural. No hay que confundir los dígitos significativos con el número de decimales de un valor. Por ejemplo, los números 123, 12,3, 1,23, 0,123 y 0,0123 tienen todos ellos tres dígitos significativos.

Procedimientos de redondeo

Los valores para los nutrientes se pueden notificar en la fuente de datos con más cifras significativas de las que se necesitan en una base de datos. Cuando se obtienen los resultados, las cifras se introducen sin ningún redondeo. En niveles más elevados de la gestión de datos es conveniente retener un dígito significativo más de los necesarios en la base de datos de los usuarios, tal y como se indica en el Cuadro 9.1. Cuando los valores se suman con fines estadísticos, es apropiado utilizar las normas de redondeo tradicionales, con un redondeo hacia abajo de los valores pares que terminan en el dígito 5 (por ejemplo, 0,25 se convierte en 0,2) y hacia arriba en los valores impares (por ejemplo, 0,55 se convierte en 0,6) para evitar sesgos significativos (Snedecor, 1956). Sin embargo, hay que recordar que un número de dígitos superior al indicado en el Cuadro 9.1 puede tener un valor analítico escaso y una importancia nutricional mínima.

Nomenclatura de los alimentos

Si bien la nomenclatura de los alimentos tiene una importancia decisiva (Capítulo 3), el tema es demasiado amplio para examinarlo aquí. Entre los sistemas de nomenclatura, clasificación y descripción de los alimentos cabe mencionar el Eurocode (Arab, Wittler y Schettler, 1987), el LanguaL (McCann *et al.*, 1988; Feinberg, Ireland-Ripert y Favier, 1991) y la INFOODS (Truswell *et al.*, 1991). Algunos autores han evaluado y comparado las ventajas e inconvenientes de los distintos sistemas (Burlingame, 1998; Ireland y Møller, 2000). Los sistemas de clasificación de los alimentos también se pueden basar en el Codex Alimentarius, las bases de datos de estadísticas agrícolas de la FAO, el Sistema armonizado para el comercio y la Clasificación del consumo individual por finalidades (CCII) de las Naciones Unidas. Se pueden encontrar descripciones y enlaces para todos estos sistemas de nomenclatura y clasificación en la página web de la INFOODS (INFOODS, 2003).

Nomenclatura y convenios para los componentes

La nomenclatura de los nutrientes (véanse los Capítulos 4, 6 y 7) se ha institucionalizado en los principales aspectos; las siguientes directrices se basan en convenios internacionales.

Materia comestible: se refiere a la proporción de materia comestible en el alimento crudo tal como se recoge o compra, expresada en peso. La proporción de materia comestible en los alimentos cocinados se expresa con frecuencia en función del alimento crudo.

Agua, contenido de (contenido de humedad): sus valores dependen del método (Capítulos 6 y 7), pero las diferencias casi siempre tienen una importancia nutricional escasa. La liofilización es una excepción; el contenido de agua residual en este método puede afectar a la exactitud de todos los demás resultados expresados en peso húmedo.

Nitrógeno (total): suele medirse mediante los métodos de Kjeldahl o Dumas o una modificación de ellos.

Proteínas: suelen ser un valor calculado, derivado del valor del nitrógeno total multiplicado por un factor de conversión del nitrógeno. Se han elaborado factores para alimentos específicos, basados en la naturaleza y la composición de las proteínas que contienen distintos materiales (Jones, 1931). El factor específico para las almendras es de 5,18, mientras que para la leche es de 6,38. Todavía se siguen utilizando ampliamente los factores de Jones en el trabajo relativo a la composición de los alimentos (véase el Cuadro 7.3). 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). Todos los demás métodos de medición de las proteínas se siguen calibrando frente a este tipo de valor. También puede ser útil incluir en la base de datos de composición de alimentos las proteínas calculadas tanto mediante factores específicos como mediante el factor de 6,25. Para algunas aplicaciones, por ejemplo, la formulación de dietas frente a necesidades alimentarias, es más apropiado el factor de 6,25, porque es el que se utiliza para derivar las necesidades de proteínas (FAO/OMS/UNU, 1985).

En varias ocasiones se ha propuesto (Southgate, 1974; Southgate y Greenfield, 1992; Salo-Väänänen y Koivistoinen, 1996) que se definan de nuevo las proteínas y los métodos de determinación. Muchos consideran que la representación más apropiada del contenido de proteínas de los alimentos es la suma de los aminoácidos (Salo-Väänänen y Koivistoinen, 1996). En todos los casos se deben incluir en la base de datos de referencia los valores del factor y del nitrógeno.

Grasas (totales): son los lípidos totales de un producto alimenticio, incluidos los triacilglicerolos. Los valores dependen en gran medida del método utilizado. En los Estados Unidos, la Ley de Etiquetado y Educación Nutricional (NLEA) (Federal Register, 1990) y la *Food and Drug Administration* (FDA), organismo de productos alimenticios y farmacéuticos (Federal Register, 1993), definieron las «grasas totales» como la suma de los ácidos grasos expresados como triglicéridos (*sic*) a efectos de etiquetado nutricional (FDA, 2001).

Carbohidratos totales (total «por diferencia»): se trata de una expresión poco satisfactoria que debe ir desapareciendo progresivamente (FAO/OMS, 1998). Es un valor derivado, que se obtiene restando los porcentajes de agua, proteínas, grasas y cenizas de 100 para obtener el porcentaje de carbohidratos «por diferencia». Incluye todo el material distinto de los carbohidratos no analizado en los otros análisis proximales y los errores acumulativos de las otras mediciones. Sin embargo, algunas bases de datos de composición de alimentos también restan los valores del alcohol en los alimentos pertinentes.

Carbohidratos disponibles: se definen como la suma de azúcares libres (glucosa, fructosa, sacarosa, lactosa y maltosa), almidón, dextrinas y glucógeno. En las bases de datos de referencia es útil incluir por separado los distintos carbohidratos, además de la suma de los valores de los carbohidratos disponibles totales (glucémicos). En las bases de datos de los usuarios figuran cada vez con más frecuencia los valores de cada una de las sustancias, además de los correspondientes a los carbohidratos disponibles totales. Los carbohidratos disponibles y

sus fracciones se pueden expresar en peso (es decir, la forma anhidra) o como equivalentes de monosacáridos (es decir, incluida el agua de hidratación). Los carbohidratos disponibles también se pueden calcular «por diferencia», restando el valor de la fibra dietética, preferiblemente «la fibra dietética total», de los carbohidratos totales.

Fibra dietética: los métodos para su medición son objeto de numerosos debates científicos. Como los valores dependen del método, hay que identificarlos por el método que se utiliza. El que más se usa es probablemente el de la fibra dietética total de la AOAC (véase el Capítulo 7), pero también se ha recurrido a definiciones más específicas, por ejemplo, la suma de los polisacáridos no amiláceos y la lignina. Si se emplea el sistema de los polisacáridos no amiláceos, tal vez sea preferible usar este término para identificar los valores en la base de datos.

Cenizas (totales): son el residuo tras la incineración de la materia orgánica. Los valores dependen del método, pero las diferencias tienen una importancia nutricional escasa.

Debido a que es rara la medición de los componentes proximales o principales con una exactitud superior a ± 1 por ciento, el máximo son tres cifras significativas; los valores se deben limitar a 0,1 g/100 g, con las «trazas» definidas como cantidades inferiores a 0,06 g/100 g.

Componentes inorgánicos: para estos componentes se utilizan los nombres o símbolos apropiados de los elementos. Los identificadores de la INFOODS son equivalentes a los símbolos atómicos de los elementos. La medición con una precisión de ± 1 por ciento es extraordinariamente satisfactoria, pero puede no ser posible con los oligoelementos. Los límites propuestos en el Cuadro 9.1 se basan en los límites analíticos previstos combinados con niveles aceptados de importancia nutricional.

Vitamina: es el término utilizado cuando hay varias formas activas de un agente con una actividad fisiológica definida o «vitámeros» (véase el Capítulo 7). Para registrar sustancias químicas definidas se debe utilizar el sistema de la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición (IUNS, 1978). En la base de datos de referencia hay que enumerar por separado los valores para cada vitámero (por ejemplo, los distintos carotenoides). Los valores de la actividad total de la vitamina A y de la vitamina D se obtienen por cálculo, por lo que es preferible limitarlos a las bases de datos de los usuarios, debiendo quedar claramente especificados los factores utilizados en el cálculo. Con el paso del tiempo es probable que cambien los factores de conversión para las actividades de los vitámeros, con la consecuente exigencia de un nuevo cálculo a partir de los datos de los distintos vitámeros de la base de datos de referencia. Para la conversión a partir de las unidades internacionales, deben utilizarse las equivalencias que figuran en el Capítulo 7. En general, los métodos para la medición de las vitaminas son algo menos precisos que los utilizados para los análisis inorgánicos. Los límites de expresión se muestran en el Cuadro 9.1. La expresión con tres cifras significativas se considera un nivel razonable para las citas.

Aminoácidos: se mencionan con los nombres comunes aprobados o los símbolos de tres letras que son equivalentes a los identificadores de la INFOODS. En las bases de datos de referencia los aminoácidos se suelen expresar en mg/g de nitrógeno o en g/16 g de nitrógeno (alrededor de 100 g de proteínas), pero en las bases de datos de los usuarios es útil la expresión en mg/100 g de alimento. Al igual que con los ácidos grasos, a menudo es útil disponer

Cuadro 9.2 Factores de conversión aplicables a las grasas totales para obtener los valores de los ácidos grasos totales en las grasas

<i>Alimento</i>	<i>Factor</i>	<i>Alimento</i>	<i>Factor</i>
Trigo, cebada y centeno ¹		Carne de bovino ³	
grano entero	0,72	magra	0,916
harina	0,67	grasa	0,953
salvado	0,82	Cordero, tomado como carne de bovino	
Avena entera ¹	0,94	Carne de porcino ⁴	
Arroz elaborado ¹	0,85	magra	0,910
Leche y productos lácteos	0,945	grasa	0,953
Huevos ²	0,83	Aves de corral	0,945
Grasas y aceites, todos excepto los de coco	0,956	Sesos ⁴	0,561
Aceite de coco	0,942	Corazón ⁴	0,789
Hortalizas y frutas	0,80	Riñones ⁴	0,747
Aguacates	0,956	Hígado ⁴	0,741
Nueces	0,956	Pescado ⁵	
		azul	0,90
		blanco	0,70

*Fuentes:*¹ Weihrauch, Kinsella y Watt, 1976.² Posati, Kinsella y Watt, 1975.³ Anderson, Kinsella y Watt, 1975.⁴ Anderson, 1976.⁵ Exler, Kinsella y Watt, 1975.

de ambas formas de expresión para la evaluación comparativa en todos los niveles del sistema de bases de datos.

Si los valores de los aminoácidos en la base de datos de referencia se expresan en relación con el nitrógeno total, de este valor se debe deducir el nitrógeno no procedente de proteínas ni de aminoácidos, a fin de expresar los valores en mg/100 g de alimento. La expresión con tres cifras significativas se considera apropiada para los aminoácidos citados en mg.

Ácidos grasos: se enumeran indicando la longitud de la cadena y el número de dobles enlaces. Pueden ser necesarios los nombres sistemáticos para definir valores de ácidos grasos isoméricos específicos. En las bases de datos de los usuarios se deben incluir algunos de los isómeros más importantes, por ejemplo, los isómeros trans. En la fuente de datos y en las bases de datos de referencia, los valores de los distintos ácidos grasos se suelen expresar como porcentajes de los ácidos grasos totales, puesto que ésta es la forma más común de presentación analítica. En las bases de datos de los usuarios se requieren valores por 100 g de alimento. Ambas formas de expresión son útiles para la evaluación comparativa en todos los niveles de gestión de los datos. Se requiere un factor de conversión derivado de la proporción de los

lípidos totales presentes como ácidos grasos (Paul y Southgate, 1978) para la conversión de los porcentajes de ácidos grasos totales en ácidos grasos/100 g de alimento (Cuadro 9.2). Para los ácidos grasos expresados en g/100 g de ácidos grasos totales, lo mejor es limitar la precisión al nivel de 0,1 g/100 g, habiéndose establecido las trazas en $< 0,06$ g/100 g de ácidos grasos totales.

Otros componentes: se mencionan mediante los términos químicos reconocidos, utilizando los nombres vulgares o sistemáticos en función de la práctica habitual.

Valor energético: se refiere a un valor de la energía metabolizable, obtenido por cálculo a partir de los componentes que producen energía mediante factores de conversión (véase el Capítulo 7). En las bases de datos de los usuarios los valores energéticos de los alimentos se obtienen con frecuencia mediante la aplicación de factores de conversión a los valores de los componentes proximales o productores de energía. La determinación directa de los valores brutos de la energía (es decir, el calor de combustión) puede ser útil para ciertos fines; sin embargo, estos valores no se pueden comparar con los de la energía metabolizable tal como se utilizan en la nutrición.

Es importante no dar por supuesta una gran precisión en la cita de los valores de la energía. El convenio se basa en las siguientes hipótesis cuestionables:

- a) la energía bruta (calor de combustión) de distintas proteínas, grasas y carbohidratos es constante para todos los alimentos;
- b) las mediciones de la digestibilidad aparente dan una indicación exacta de la energía disponible;
- c) los coeficientes de digestibilidad aparente son constantes para todos los alimentos;
- d) la digestibilidad no varía significativamente de una persona a otra.

Se ha intentado obtener factores específicos para los distintos alimentos o grupos de alimentos, admitiendo las hipótesis a) y c) (Merrill y Watt, 1955), pero no la b) o la d) (Southgate y Durnin, 1970).

No se deben citar valores energéticos con más de tres dígitos significativos con un límite de 1 kcal o kJ.

Capítulo 10

Consideraciones relativas a la calidad en la compilación de una base de datos de composición de alimentos

En este capítulo se describen las etapas que forman parte de la compilación de una base de datos, desde la recopilación de la información hasta su incorporación a la base de datos informatizada (o publicada). En la mayor parte de los programas de bases de datos, éste es el proceso en el cual se combinan los propios procedimientos de muestreo y análisis del programa para la obtención de valores con operaciones indirectas basadas en la bibliografía.

El proceso de compilación no es una simple tarea burocrática de reunión de valores numéricos en un formato adecuado. La operación incluye la valoración de toda la información que entra en el sistema de gestión de la base de datos. En el proceso, cada elemento de los datos se evalúa según una serie de criterios. En muchos casos los compiladores deben consultar a personas con sólidos conocimientos sobre alimentos y nutrientes y una buena comprensión de los procedimientos analíticos antes de decidir la inclusión o no de ciertos valores.

La evaluación de los datos es un proceso iterativo entre las distintas etapas del sistema de bases de datos (Capítulo 1). Aunque el compilador examine los datos en todos los niveles, a medida que avanza el proceso surgen con frecuencia preguntas que obligan a regresar a la fuente primaria de datos. Por consiguiente, es imprescindible que el proceso de evaluación esté totalmente documentado.

Numerosos autores describen experiencias de compilación en el ámbito de un programa nacional de composición de alimentos, que también se publican en las actas de las reuniones de los centros regionales de datos de la INFOODS (por ejemplo, Aalbersberg, 1999) y en números especiales de revistas de las conferencias nacionales e internacionales sobre datos de los alimentos (Greenfield, 1995; *Food Chemistry*, 1996; *Journal of Food Composition and Analysis*, 2000, 2001, 2002, 2003a).

Fuentes de datos

Antes de exponer los criterios para el examen de los datos, hay que detenerse en sus fuentes primarias. Se puede considerar que quedan comprendidas en cuatro categorías amplias (Cuadro 10.1), cada una de ellas con una serie de características propias que el compilador debe tener

Cuadro 10.1 Fuentes de datos de composición de alimentos

<i>Fuente</i>	<i>Descripción</i>
Publicaciones primarias	Artículos en la bibliografía científica que contienen datos de composición de alimentos
Publicaciones secundarias	Reseñas o compilaciones publicadas, con inclusión de datos de composición
Informes inéditos	Informes que comprenden desde registros analíticos hasta informes preparados para uso interno en una organización, pero no publicados de manera oficial
Datos analíticos	
específicos	Análisis realizados específicamente en el marco de un programa de bases de datos
no específicos	Labor analítica realizada con otros fines

en cuenta. Aunque en principio todos los datos deben evaluarse según los mismos criterios, hay que reconocer que gran parte de la información sobre composición de alimentos existente no cumple totalmente los criterios ideales. Las cuatro categorías principales de fuentes de datos son las que se exponen a continuación.

Publicaciones primarias

En esta categoría se incluyen datos de composición procedentes de documentos publicados en revistas científicas. Además de las revistas sobre bromatología y nutrición, se incluyen, entre otras, las que se dedican al análisis de los subproductos de los alimentos, los estudios del tratamiento del suelo, la explotación animal y vegetal y la elaboración de métodos analíticos.

Aunque estos documentos suelen ser objeto de un examen colegiado y una valoración a cargo de expertos, el trabajo se tiene que evaluar en general con respecto al objetivo primario del estudio y no necesariamente en relación con la calidad de los valores de la composición como tales. Así pues, las secciones experimentales de los documentos pueden contener con frecuencia detalles insuficientes para permitir la utilización de estos valores sin la aplicación de los criterios oficiales que se examinan más adelante. No obstante, estos datos tienen una fuente inequívoca clara y, en general, se pueden relacionar directamente con una labor analítica y alimentos específicos.

Publicaciones secundarias

Esta categoría incluye exámenes, otras compilaciones de datos de composición publicadas (en particular tablas de composición de alimentos y bases de datos informatizadas) y material publicado en libros o revistas sin un examen de expertos. Los valores obtenidos en esta categoría pueden ser más difíciles de evaluar según los criterios oficiales. Por ejemplo, los datos de otras tablas de composición de alimentos deben conducir en teoría al compilador a las fuentes de los datos, publicados o no, pero con frecuencia la fuente lleva sólo a otra serie

de tablas. Cuando los valores de la composición aparecen en publicaciones sin examen de expertos, el compilador tal vez tenga que consultar al autor o a los compiladores de la base de datos antes de poder evaluar los valores de manera correcta.

Algunos datos de composición se publican en su presentación original en tablas de composición de alimentos como, por ejemplo, en *The composition of foods* [La composición de los alimentos] (McCance y Widdowson, 1940, 1946, 1960; Paul y Southgate, 1978), donde se publicaron los valores analíticos primarios. En la edición de 1960, el material tomado de la bibliografía estaba totalmente referenciado. La edición de 1978 proporcionó claves para los laboratorios que habían proporcionado valores analíticos obtenidos específicamente para la edición, los métodos utilizados y referencias del material tomado de la biografía. En ediciones posteriores (Holland *et al.*, 1991; Food Standards Agency, 2002) y en los suplementos (Holland, Unwin y Buss, 1992; Holland *et al.*, 1991; Holland, Welch y Buss, 1992; Holland, Brown y Buss, 1993; Chan, Brown y Buss, 1994; Chan *et al.*, 1995, 1996; MAFF, 1998) de las tablas de composición de alimentos del Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte –que constituyen los datos nutricionales primarios del país– la publicación de las claves se interrumpió por motivos económicos, aunque sigue siendo posible obtener la información de los editores. Muchos países siguen publicando detalles de su documentación sobre las muestras y los análisis, resumidos o completos, y hay que alentar esta práctica. Se publiquen o no de manera impresa, todos los centros de compilación de datos deben poder poner a disposición de los usuarios los detalles de la documentación cuando los soliciten.

Informes inéditos

Esta categoría incluye datos de composición recogidos en un documento preparado para una difusión limitada, con frecuencia para uso interno en empresas comerciales, instituciones o departamentos oficiales. A menudo la aplicación de criterios oficiales a estos datos es difícil y depende de la naturaleza del documento. Estos informes suelen contener datos analíticos originales, por lo que pueden ser fuentes importantes de valores de la composición. Otra posibilidad es que los datos puedan utilizarse como confirmación o para obtener alguna indicación sobre la variación de un determinado componente. Si hay alguna duda o confusión acerca de los valores, hay que consultar a los autores siempre que sea posible.

Datos analíticos

Esta categoría incluye dos tipos amplios de datos. En primer lugar están los datos analíticos que no se produjeron específicamente para una base de datos de nutrientes (cuando, por ejemplo, la recogida de muestras de alimentos no estaba concebida para ser representativa y la organización o el grupo encargado de la base de datos no controló ni supervisó los análisis). En estos casos, el compilador debe examinar cuidadosamente los procedimientos de muestreo y análisis y también debe tener el convencimiento de que se utilizaron procedimientos de control de calidad apropiados. Es particularmente valioso el acceso directo a los registros de las muestras de alimentos y los cuadernos analíticos. También se puede hacer una evaluación adecuada si el compilador puede examinar los valores con la persona encargada del muestreo y el análisis.

Cuadro 10.2 Criterios para el examen de los datos

<i>Parámetro</i>	<i>Criterios</i>
Identidad del alimento	Identificación inequívoca del alimento de la muestra
Protocolo de muestreo	Recogida de una muestra representativa
Preparación de la muestra de alimento	Método de cocción Precauciones adoptadas Material rechazado como no comestible, etc.
Laboratorio y preparación de la muestra analítica	Naturaleza del material analizado Métodos utilizados para la preparación de la muestra
Procedimientos analíticos	Elección del método Compatibilidad Procedimientos de garantía de calidad
Forma de expresión	Compatibilidad con la utilizada en la base de datos

El segundo tipo son los valores inéditos obtenidos específicamente para el programa de bases de datos. Estos valores han de examinarse a fondo, aun cuando la organización encargada de la compilación haya controlado los procedimientos de muestreo y análisis, aunque sea por contrato. En sentido estricto, estos nuevos datos analíticos simplemente se incorporan al conjunto existente de valores y deben compararse con otras fuentes de datos de composición. Sólo cuando haya pruebas convincentes de que un alimento ha cambiado (por ejemplo, si se ha introducido una nueva variedad o se han efectuado cambios en las prácticas agrícolas o de producción secundaria) o de que se han utilizado procedimientos analíticos mejorados se pueden rechazar los valores más antiguos (véanse las secciones sobre «Cambios de valores» y «Alimentos en desuso» en las páginas 205 y 206). Hay que investigar las diferencias que evidentemente no se deben a estos factores y a menudo es conveniente repetir el muestreo y el análisis como confirmación.

Criterios que han de aplicarse durante el examen de los datos

Las bases para estos criterios se han examinado en los capítulos anteriores. Se resumen en el Cuadro 10.2.

Identidad del alimento

El compilador debe estar seguro de la identidad del alimento cuya muestra se va a analizar. En los alimentos vegetales primarios puede ser necesario identificar tanto la especie como la variedad, mientras que para el pescado y las carnes en canal puede ser necesaria la identificación por la especie. Con frecuencia son también de interés para una identificación correcta la edad y la

madurez. Cuando el alimento consiste en parte de una planta o un animal, este rasgo ha de indicarse con claridad. Los productos patentados y los platos cocinados son particularmente difíciles de identificar. Los alimentos que no se puedan identificar de manera inequívoca deben quedar individuados como tales en la base de datos. Una imagen fotográfica o gráfica puede servir de ayuda para una identificación más clara en el futuro (Burlingame *et al.*, 1995a).

Naturaleza de la muestra del alimento

Las muestras de alimentos deben ser representativas. Así pues, el examen incluye la evaluación del plan de muestreo utilizado para obtener el alimento en cuanto al número/peso de los elementos recogidos, la fecha y hora de la recolección, la localización geográfica, la manera de combinar los elementos, etc. (Capítulo 5).

Naturaleza del material analizado

Se debe establecer con claridad la naturaleza del material analizado: crudo o cocinado (con el método de cocción), forma de preparación (por ejemplo, con piel o sin ella), descripción y peso de la porción comestible, descripción y peso de la porción rechazada, descripción de la porción normal (por ejemplo, una rebanada en el caso del pan) y peso.

Preparación de la muestra analítica y procedimientos de análisis

En los informes se suelen describir de manera conjunta la preparación de la muestra analítica y los procedimientos de análisis. Su evaluación requiere buenos conocimientos sobre análisis de nutrientes. En primer lugar, el protocolo de preparación de la muestra analítica se ha de examinar con detalle para comprobar si cumple los criterios indicados en el Capítulo 5. En segundo lugar, hay que evaluar los métodos de análisis; se debe dar preferencia a los valores obtenidos por medio de métodos validados que sean compatibles con los de uso internacional (Capítulos 6 y 7) y a los valores cuyas fuentes indiquen que se aplicaban procedimientos apropiados de garantía de calidad (Capítulo 8).

Forma de expresión

El compilador debe poder identificar con claridad la forma de expresión utilizada y, en particular, la base mediante la cual se han expresado los valores analíticos. Esto es particularmente importante cuando los valores publicados se han derivado de valores analíticos mediante el uso de factores de conversión.

En el Cuadro 10.3 se indica un sistema para dar carácter oficial a los criterios anteriores.

Proceso de compilación

Agrupamiento de las fuentes de datos

La primera etapa es el agrupamiento de las fuentes de datos, incluidas las tablas publicadas. Es esencial realizar una búsqueda rigurosa de la bibliografía. Hay que tener un cuidado espe-

Cuadro 10.3 Criterios para la aceptación de los valores de composición en una base de datos

<i>Criterio</i>	<i>Claramente aceptable</i>	<i>Aceptabilidad progresivamente decreciente</i>	<i>Normalmente inaceptable¹</i>
-----------------	-----------------------------	--	--

Criterios de muestreo

Identidad del alimento	Inequivoca	Identidad cada vez menos clara	Alguna ambigüedad
Representatividad	Inherente al conjunto de la base de datos	Menos representativa de los alimentos consumidos	No declarada
Número de muestras	Protocolo formulado para conseguir límites de confianza definidos	Número de muestras elegido de manera arbitraria	Muestras selectivas o en número muy limitado
Naturaleza del material analizado	Claramente definida	Definiciones cada vez menos claras	No declarada o poco clara
Preparación de la muestra analítica	Descrita con detalle y con la conservación de los nutrientes conocida	Descrita brevemente, pero con la conservación de los nutrientes conocida	No declarada o sin pruebas de la necesidad de proteger los nutrientes en la muestra

Criterios analíticos

Elección del método analítico	Bien establecido y compatible a nivel internacional	No tan bien descrito o con modificaciones inéditas	No declarado
Resultados del método	Establecidos y validados en ensayos en colaboración	Establecidos, pero sin validación interna	No declarados o desconocimiento de su idoneidad. Posiblemente sustituido por un método mejor
Garantía de calidad	Con descripción o referencia. Uso de normas apropiadas y materiales de referencia normalizados	Sin registro de la garantía de calidad, sólo replicación de análisis	No declarada
Forma de expresión	Unidades y métodos de cálculo claramente indicados	Descripción cada vez menos clara	No se dan las unidades ni los factores

Nota:

¹ Cuando los valores son los únicos disponibles, puede ser útil archivar los datos.

cial en la formulación de las estrategias de búsqueda cuando se utilizan sistemas informatizados que dependen en gran medida de palabras clave, y puede ser útil realizar alguna búsqueda manual adicional. No hay que basarse en los resúmenes de los autores como fuentes de valores; es necesario examinar los documentos completos. La búsqueda bibliográfica suele comenzar con revistas de resúmenes, y cada referencia bibliográfica normalmente conduce a varias otras. Deben buscarse documentos recientes mediante la consulta sistemática de bibliografía y bases de datos de resúmenes. Las revistas no incluidas en un servicio de resúmenes deben consultarse directamente. También es recomendable establecer contacto con fuentes de datos inéditos: laboratorios universitarios, públicos y privados; centros de investigación; juntas de productos básicos y elaboradores de alimentos.

La página web de la INFOODS (2003) es una fuente de asesoramiento especialmente valiosa cuando se busca información sobre alimentos poco comunes, y por supuesto sobre todos los demás. Esta página da acceso a la lista de correo de la INFOODS, que permite consultar regularmente preguntas y respuestas y avisos de reuniones.

Puede ser necesario actuar con discreción para obtener y utilizar datos de los fabricantes, puesto que pueden insistir en que la información tenga carácter confidencial. No obstante, los datos pueden ser valiosos para confirmar la información procedente de otras fuentes.

Cuando los datos aparezcan en las fuentes como valores medios de varias determinaciones en muestras de alimentos replicadas, siempre que sea posible se solicitarán a los autores los valores replicados individuales.

Etapas de archivo

Toda la información pertinente obtenida debe registrarse de manera sistemática utilizando uno de los muchos sistemas informatizados de gestión de bases de datos disponibles. El requisito primordial es que el sistema sea muy flexible con respecto al número de campos y la facilidad para intercambiar datos con otros sistemas informatizados. Se han propuesto formatos internacionales para el intercambio de datos de composición de alimentos (Klensin, 1992; Schlotke *et al.*, 2000), que siguen perfeccionándose como actividad internacional en el marco de la INFOODS.

Deben evaluarse los datos de cada fuente para determinar la calidad general y la coherencia e incorporarse al sistema para que resulten de fácil acceso. Los programas informáticos deben permitir la incorporación de todos los datos y metadatos a tablas relacionales específicas, con inclusión de detalles sobre las fuentes y notas sobre los métodos de análisis, los procedimientos de muestreo, etc.

Para la calidad de la base de datos es fundamental que la compilación en esta etapa sea amplia. Representa el archivo o almacén de todos los valores notificados para la composición de los alimentos. Es importante retener datos diacrónicos en la recopilación, porque proporcionan información que ayuda a evaluar si la composición de un alimento cambia a lo largo del tiempo o si tiene una composición estable. Mediante la comparación de los datos a lo largo del tiempo también se puede evaluar la importancia de los cambios metodológicos. Hay muchos usuarios que trabajan en el análisis de registros pasados de ingestas de alimentos y necesitan tener acceso a los datos de composición de mayor interés. A este respecto, se consi-

dera que una base de datos de archivo es el almacén informatizado de todos los datos disponibles, tanto recientes como pasados.

Toda la información sobre la identidad de los alimentos, el muestreo, el análisis, los procedimientos de garantía de calidad y las formas de expresión tiene que ser evidente para cada registro, porque se utilizará en la etapa siguiente. Los valores registrados en la fuente de datos han de convertirse a la forma en que se van a presentar en las bases de datos de referencia y del usuario.

La reunión de todos los valores de los alimentos pondrá de manifiesto discrepancias que obligarán a los compiladores a volver a la fuente original de los datos para reexaminarlos. Con mucha frecuencia se encuentran errores de transcripción, e incluso después de eliminarlos sigue habiendo a menudo discrepancias, las cuales pueden deberse a la falta de uniformidad en la identificación de los alimentos como, por ejemplo, diferencias en las variedades de plantas. La comparación de los valores de otros alimentos analizados dentro de la fuente de datos con los valores notificados en otra fuente puede dar alguna idea del grado de confianza que puede otorgarse a la credibilidad de la fuente.

Sin embargo, incluso después de un examen riguroso, persisten diferencias en los datos de composición, que pueden representar elementos extraños de los análisis o reflejar las variaciones naturales de la composición. En estos casos, lo ideal es establecer un protocolo de muestreo y análisis para confirmar los valores, siempre que los recursos lo permitan. En caso contrario, lo único que se puede hacer es mantener el valor dudoso y asignarle un código de confianza más bajo (Exler, 1982).

Etapa de referencia

La etapa de archivo sirve de punto de partida para la preparación de la base de datos de referencia. En esta etapa todos los datos aceptables de cada alimento procedentes de los diferentes registros de archivo se combinan y presentan de una manera compatible que se enlaza con los registros de archivo y sus metadatos.

Para esto, los compiladores tienen que examinar todos los datos disponibles de cada alimento. La mayoría de las fuentes de datos no abarcan todos los componentes necesarios para la base de datos considerada en conjunto sino una serie limitada de ellos. Los compiladores deben examinar si las distintas muestras de alimentos son compatibles. Para ello hay que comparar el contenido de agua y de grasas y examinar si está justificado el ajuste de los valores a una base constante. Se deben documentar todas las etapas de la evaluación de los datos, de manera que más tarde pueda seguirse la lógica de las decisiones adoptadas o los cálculos utilizados en la elaboración de la base de datos de referencia.

Este examen puede obligar a volver a las fuentes de datos para comprobar diversos puntos o confirmar que los valores se han registrado de manera correcta.

Es asimismo necesario examinar cuáles son las técnicas estadísticas apropiadas para evaluar los datos del alimento.

En esta operación se identifican todos los datos aceptables procedentes de los registros de archivo y se registra la lógica de las combinaciones estadísticas, junto con el promedio (si

se considera apropiado), la mediana o un valor seleccionado basado en una evaluación de la fiabilidad de las fuentes (Paul y Southgate, 1978). Este último sistema se puede considerar subjetivo pero, si se tiene una serie de valores cuyo número es insuficiente para una combinación estadística oficial, los compiladores tienen que hacer estas valoraciones para preparar una base de datos útil. A este nivel se necesita un grado prudencial de desglose. Por ejemplo, no es apropiado un solo registro para «manzanas» cuando se dispone de datos de los distintos cultivares de manzanas. Se requiere una revisión final de la coherencia interna.

Preparación de las bases de datos de los usuarios

Los dietistas pueden tener necesidad de una base de datos de los usuarios con ciertos tipos de alimentos y determinadas formas de presentación de los datos; los profesionales de la agricultura y la industria alimentaria tal vez necesiten otro tipo de base de datos de los usuarios. Se pueden preparar varias bases de datos de los usuarios y tablas diferentes a partir de una sola base de datos de referencia bien estructurada. La preparación de las bases de datos de los usuarios requiere el examen de los registros de alimentos en la base de datos de referencia y sus combinaciones (en caso necesario), así como verificaciones finales para determinar la coherencia interna. En muchos casos, la base de datos para todos los alimentos se proporciona en la «base de datos de referencia» para el país o la región. En este libro consideramos que las «bases de datos de los usuarios» son las que contienen una serie de datos para cada alimento y en las que los nutrientes y otros componentes tienen asignado un valor para cada artículo alimenticio. Puede ser necesario proporcionar dos o más entradas para un solo alimento, por ejemplo, cuando las diferencias estacionales en la composición sean suficientes como para justificar dos registros separados del producto alimenticio. La preparación de las bases de datos de los usuarios no debe entrañar una entrada real de datos. Todos los datos que se vayan a utilizar en la elaboración de las bases de datos de los usuarios se habrán debido incorporar durante las etapas de archivo y/o referencia.

Examen de los valores

En primer lugar, los valores de cada uno de los nutrientes en cada alimento están sujetos a un nuevo examen que, como mínimo, debe ser equiparable al utilizado en las etapas anteriores de la compilación de la base de datos. Los valores notificados para cada uno de los nutrientes en cada alimento se examinan específicamente para comprobar la coherencia. Cuando se dispone de suficientes datos, es preferible el uso de técnicas estadísticas objetivas. Los valores discordantes pueden ser «valores atípicos» estadísticos surgidos en las fases de muestreo o análisis. Las pruebas para los valores atípicos (Youden y Steiner, 1975) están concebidas para eliminar dos categorías: los que quedan fuera de la variabilidad medida y los que las propias mediciones muestran con una variación excesiva. Una vez identificados los valores atípicos, se pueden volver a calcular las estadísticas de la media o la mediana y la varianza sin su inclusión.

Sin embargo, los valores atípicos como tales no se deben suprimir de la base de datos. Simplemente se pueden marcar para su exclusión de la media calculada en una base de datos de los usuarios o de referencia. Al volver a las fuentes de datos para investigar los valores, el compilador puede descubrir que los valores atípicos son metodológicamente distintos, y tal vez preferibles, quizás porque son el producto de un procedimiento más específico o porque la muestra analítica se manipuló mejor (por ejemplo, se utilizó un conservante).

Combinación de valores de distintas fuentes

Dado que las fuentes de datos individuales rara vez incluyen la gama completa de nutrientes de un alimento determinado, con frecuencia es necesario combinar los valores procedentes de diversas fuentes. Al combinar estos valores es esencial tener la seguridad de que las distintas fuentes son compatibles y de que hay coherencia interna.

Uso de valores medios

Cuando existen varios valores para el mismo alimento y nutriente, el compilador debe examinar los procedimientos utilizados en los registros de referencia y reconsiderar la mejor manera de obtener un valor único para utilizarlo en la base de datos. Si se dispone de un número elevado de valores, es preferible utilizar el sistema del valor de la media aritmética o, posiblemente, la mediana.

Cuando sólo se dispone de un pequeño número de valores, que muestran una amplia variación o gama, la situación es mucho más compleja. La variabilidad puede deberse a la presencia de valores atípicos, o bien a la escasa calidad o a la falta de representatividad de las muestras de alimentos. En muchos casos el compilador debe decidir qué valores tienen un nivel de confianza más alto (es decir, muestras de alimentos mejor documentadas, elección del método más apropiado o pruebas claras de un programa de garantía de calidad). En las tablas de composición de alimentos del Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte (Paul y Southgate, 1978) se les dio el nombre de «valores seleccionados». En tales casos, el compilador debe registrar las pruebas utilizadas para seleccionar los valores, de manera que las decisiones se puedan volver a evaluar de manera independiente.

En algunos casos, el compilador debe emplear un procedimiento ponderado. Por ejemplo, si se requiere un valor para un alimento con variación estacional en el consumo o la composición, se puede calcular un valor que refleje la composición durante todo el año ponderando los valores en relación con los hábitos de consumo. La documentación de esta ponderación es también esencial.

Cálculos a partir de valores analíticos

La base de datos incluye algunos valores derivados, calculados a partir de los datos analíticos, que se han examinado en el Capítulo 7. Sin embargo, hay que hacer mayor hincapié en algunos puntos que se describen a continuación.

Valor energético. En todas las bases de datos de nutrientes los valores son estimaciones de la «energía metabolizable», que se calcula aplicando factores de conversión de la energía a

los componentes productores de energía de los alimentos: proteínas, grasas, carbohidratos, alcohol y, en ocasiones, ácidos orgánicos u otros componentes. Los factores más utilizados son los de Atwater (Merrill y Watt, 1955; Southgate y Durnin, 1970; Allison y Senti, 1983), en sus versiones general o específica. Inicialmente se expresaban como kcal, pero ahora se suelen dar como kJ. Atwater redondeó los factores en kcal (Merrill y Watt, 1955), por lo que es preferible la utilización directa de los factores en kJ, para que este redondeo no se realice dos veces. En muchas bases de datos, la energía es un valor más dinámico que fijo. Esto permite al compilador preparar valores diferentes de la energía para las distintas bases de datos de los usuarios. Por ejemplo, un dietista puede preferir valores energéticos calculados a partir de factores específicos de Atwater, mientras que para fines de etiquetado de los alimentos el personal de la industria alimentaria puede preferir el cálculo de la energía a partir de factores generales de Atwater. Además, las recomendaciones para el cálculo de la energía pueden cambiar a lo largo del tiempo, requiriendo un nuevo cálculo de todos los valores energéticos de una base de datos. En las recomendaciones de la Consulta FAO/OMS de Expertos sobre Carbohidratos en la Nutrición Humana (1998) se indicó que se debían utilizar factores energéticos para la fibra dietética. El tratamiento de tales situaciones es una tarea sencilla de gestión de datos cuando existen los valores energéticos, con la programación de simples algoritmos en el sistema para poder calcular la energía cuando sea necesario. Los factores de conversión de la energía se deben tratar de la misma manera que otros datos numéricos y se deben incluir en la base de datos de referencia con sus identificadores de la INFOODS.

Proteínas. Los valores de las proteínas suelen calcularse mediante la aplicación de factores de conversión a los valores del nitrógeno orgánico total. Sin embargo, se obtienen valores más exactos si se aplican factores de conversión a los valores de los aminoácidos-nitrógeno (véase el Capítulo 9) o mediante la suma de los aminoácidos. Todos los datos y los factores utilizados en los cálculos han de incluirse en la base de datos de referencia.

Equivalentes de vitaminas. Las recomendaciones para derivar valores en equivalentes de vitaminas se describen en los convenios sobre nomenclatura (IUNS, 1978).

Actividad de la vitamina A. Para la actividad de la vitamina A suelen utilizarse valores derivados, dado que los valores de la vitamina A preformada (retinol y sus derivados) y de los carotenoides provitamínicos pueden combinarse mediante un algoritmo en las bases de datos de los usuarios. Se ha convenido en expresar la actividad de la vitamina A en μg de equivalentes de retinol iguales a la suma de los μg de retinol y los μg de beta-caroteno dividida por el factor 6, más el total de μg de otros carotenos dividido por el factor 12. Otros sistemas de conversión dan cabida a las aportaciones de otros carotenoides. En los datos para el retinol hay que registrar en la base de datos de referencia todos los distintos carotenoides provitamina A y todos los factores de conversión de la actividad con sus identificadores de la INFOODS. Hay que señalar que las investigaciones recientes (van het Hof *et al.*, 2000) no

respaldan los factores de conversión tradicionales y que en algunos países se han adoptado ya nuevos factores con los mismos fines (Murphy, 2002).

El nuevo cálculo de la actividad de la vitamina A con factores actualizados es sencillo cuando se dispone de los valores originales, como con la energía, y para los distintos carotenoides se debe dar preferencia a los valores en μg . Las conversiones de unidades internacionales para las vitaminas A y D figuran en el Capítulo 7. En la documentación de la base de datos se debe incluir el convenio adoptado para el cálculo de la actividad de la vitamina A.

Actividad de la niacina. También se utilizan ampliamente los valores equivalentes para la actividad de la niacina cuando se incluye la contribución del triptófano. Lo convenido es que la actividad de la niacina (mg) se exprese como la suma de los mg de niacina (o ácido nicotínico) más los mg de triptófano dividida por 60.

Ácidos grasos. El cálculo de los ácidos grasos por 100 g de alimento a partir de los datos de los ácidos grasos por 100 g de ácidos grasos totales se muestra en el Apéndice 5.

Cálculo de la composición de los platos preparados mixtos

En ausencia de valores analíticos de muestras representativas de platos preparados mixtos, los valores estimados de la composición de estos platos pueden basarse en las recetas y en la composición de cada ingrediente. Debe conocerse el rendimiento o el cambio de peso durante la cocción (es decir, el peso del plato crudo y cocinado). Varios autores han publicado directrices sobre los procedimientos de cálculo (Rand *et al.*, 1991; Bognár y Piekarski, 2000). En la versión más sencilla del procedimiento de cálculo no se tiene en cuenta el aumento de grasa (por ejemplo, del aceite de freír) o la pérdida durante la cocción, porque en el cálculo se supone que los cambios de peso reflejan sólo una pérdida o ganancia de agua. Las estimaciones de la pérdida de vitaminas se pueden realizar utilizando factores de retención de nutrientes (Bergström, 1994; USDA, 2003c), pero a estos valores se les deben asignar niveles de confianza más bajos que a los valores analíticos. Una versión del cálculo tiene las etapas siguientes:

1. A partir del peso de los ingredientes crudos, se calculan las cantidades de agua y de nutrientes presentes en el alimento crudo completo antes de la cocción.
2. Se suman los nutrientes.
3. Se dividen las sumas de los nutrientes por el peso una vez cocinado, para obtener la composición del alimento cocinado por 100 g. Se calcula el contenido de agua del alimento cocinado (agua total en los ingredientes crudos-pérdida de peso en la cocción).

En el Apéndice 6 figura un ejemplo práctico de este cálculo. El Cuadro 3.3 de las páginas 44 y 45 contiene información adicional, que puede ayudar en la formulación de variaciones para este cálculo.

Verificaciones internas de determinados valores

Las verificaciones internas de los perfiles de nutrientes elaborados para cada alimento son

especialmente importantes cuando se utilizan para un solo alimento valores procedentes de varias fuentes.

Para la composición proximal, la suma de los componentes debe ser en teoría igual a 100 g; en la práctica es admisible una variación de 97 g a 103 g. Si la suma de los valores queda fuera de este intervalo, hay que volver a examinar en primer lugar el cálculo de los valores de las proteínas («¿era apropiado el factor utilizado?») y la forma de expresión del almidón («¿como g de almidón o como monosacárido?»). Si la suma de los valores sigue quedando fuera del intervalo de 97 g a 103 g, las dudas han de concentrarse en determinados valores analizados, que deben volverse a examinar en los niveles de archivo y de la fuente de datos.

Los ácidos grasos no deben superar el 95 por ciento cuando se expresan como porcentaje de las grasas totales, debido al glicerol presente en los triacilglicerolos (triglicéridos); cuando se expresan como g por 100 g de alimento, no deben superar el valor de las grasas totales multiplicado por el factor apropiado (véase el Cuadro 9.2).

Los aminoácidos totales no deben superar los 6,25 g por g de nitrógeno, hasta un nivel superior a cualquier corrección para el agua incorporada durante la hidrólisis (véase el Capítulo 7). El total será considerablemente inferior a éste en los alimentos con niveles elevados de nitrógeno no proteico o con cantidades altas de amidas. Las verificaciones de la recuperación de aminoácidos pueden requerir un nuevo examen de la fuente de datos, porque en numerosos documentos publicados no se informa de la recuperación analítica, en particular del nitrógeno procedente de la columna de intercambio iónico.

Resumen del proceso de compilación

En el Cuadro 10.4 se presenta un panorama general del proceso de compilación. Cada etapa de la preparación exige un examen detallado de las etapas precedentes y, con frecuencia, hay que volver a la fuente de datos. Las evaluaciones de la calidad quedan más claramente definidas y establecidas a medida que avanza la compilación iterativa.

Obtención de una estimación integrada de la calidad de los datos

Muchos usuarios de datos solicitan indicaciones sobre la calidad de la información incluida en las distintas bases de datos, de manera que al combinar dichos datos se tenga la confianza de que su calidad es comparable en todas ellas. Esto es particularmente importante cuando hay un intercambio de datos por medios electrónicos entre bases de datos.

La realización de una evaluación integrada de la calidad de los datos conlleva una serie de juicios acerca de una fuente de datos y de la información sobre el alimento en cuestión.

Aunque en principio hay que considerar tanto los criterios de muestreo como los de análisis, en la práctica con frecuencia es mejor comenzar con los aspectos analíticos.

Cuadro 10.4 Resumen del proceso de compilación

<i>Etapa</i>	<i>Resumen de las operaciones</i>	<i>Tipo de examen aplicado</i>	<i>Formato</i>
Fuente de datos	Recopilación de fuentes que contienen datos de composición	Análogo al examen de un documento científico; verificación de la coherencia de los datos; evaluación preliminar de la calidad de los datos	En forma publicada: registro impreso o electrónico
Registro de archivo	Compilación de la información procedente de las fuentes de datos	Examen de las fuentes de datos conforme a criterios oficiales; perfeccionamiento de las evaluaciones de la calidad de los datos	Presentación como base de datos, más los registros de los protocolos de muestreo; métodos analíticos; adopción de las formas de expresión habituales
Base de datos de referencia	Compilación de los datos procedentes de registros de archivo para cada alimento	Comparación de valores procedentes de distintas fuentes; nuevo examen de las fuentes de archivo y de datos para evaluar las incoherencias; cálculo de medidas estadísticas	Formato de base de datos, con una serie de todos los valores aceptables para cada artículo alimenticio; registros de los análisis estadísticos; evaluaciones oficiales de la calidad de los datos
Base de datos de los usuarios	Selección y compilación de series de valores para cada artículo alimenticio de la base de datos	Combinación de valores a fin de obtener un valor para cada nutriente por artículo alimenticio; media o mediana, más las mediciones adecuadas de la variabilidad	En el formato requerido por los usuarios de las bases de datos

La utilización de un método bien documentado justifica la asignación de una puntuación alta a la calidad, mientras que con el uso de un método sin descripción o referencia los datos tienen una puntuación baja. Además, la prueba de que el método se verificó mediante un programa de garantía de calidad, con el uso de normas apropiadas o MRN, cuando se dispone de ellos, respalda ulteriormente la obtención de una puntuación alta, mientras que la ausencia de tales pruebas lleva a conseguir una puntuación más baja.

Una puntuación baja no significa en sí que los valores a los que se asigna sean incorrectos, sino simplemente que los autores (o la revista) no han presentado pruebas para que sus datos inspiren confianza.

Un protocolo de muestreo bien estructurado que se haya planificado para alcanzar ciertos límites de confianza (por ejemplo, el 95 por ciento, lo que supone que los valores del 95 por ciento de las muestras estarían dentro del 5 por ciento del valor dado) repre-

senta una calidad de muestreo muy elevada. Sin embargo, en la práctica tales protocolos son extraordinariamente raros y con frecuencia sólo se aplican a una serie limitada de nutrientes. Los protocolos de muestreo con límites de confianza del 90 por ciento son probablemente el nivel más alto que razonablemente cabe esperar, y por una cuestión de recursos, sólo se puede disponer de ellos para productos alimenticios que son componentes importantes de la alimentación.

La mayor parte de los protocolos de muestreo tienen límites de confianza más bajos y un número de entre 10 y 20 muestras da una medida razonable de la confianza, con la excepción de los nutrientes muy variables o inestables, como la vitamina C, los folatos y muchos oligoelementos inorgánicos.

El análisis de muestras aisladas, sin pruebas de un protocolo de muestreo salvo la comodidad, tiene un nivel de confianza muy bajo. Muchos usuarios consideran que para un alimento o nutriente que es un componente secundario de la alimentación es mejor «cualquier valor» que ninguno. Así pues, se puede alegar, por ejemplo, que los valores obtenidos de un pequeño número de muestras de caviar o champán se pueden utilizar en una base de datos. Asimismo, un pequeño número de análisis de un producto de marca registrada que esté sujeto a un control de calidad riguroso tiene un límite de confianza aceptable.

Evaluaciones de la calidad y códigos de calidad

Los códigos de calidad o confianza son un sistema institucionalizado para la aceptación de los datos (véase el Cuadro 10.3); los propuso inicialmente Exler (1982) y se indican en los Cuadros 10.5 y 10.6. En este sistema se asigna un valor numérico a los datos para cada criterio y los valores se combinan y se convierten en un código de confianza. Como todos los sistemas, es arbitrario y se puede utilizar sólo como guía. El sistema preferido tiene una base estadística; se recoge un número apropiado de muestras de alimentos y se realizan análisis utilizando métodos bien documentados (con características de resultados definidas) que se hayan sometido a un ensayo en colaboración. Holden, Bhagwat y Patterson (2002) han descrito la evolución del sistema de Exler. En él se reconoce la calidad como una integración del muestreo y el análisis, con varias cuestiones objetivas para cada una de las cinco categorías originales: plan de muestreo, número de muestras, manipulación de las muestras, método de análisis y control de la calidad analítica (véase el Recuadro 10.1). Hay que subrayar que la documentación relativa al cálculo de los códigos de calidad debe estar disponible en la base de datos de archivo y/o de referencia.

Cada una de las categorías de la evaluación tiene por objeto plantear preguntas claras y objetivas cuyas respuestas sean Sí/No/No se conoce. Cada una de las cinco tiene una puntuación que puede llegar hasta 20 en una escala continua, con una puntuación máxima de 100. Los aspectos metodológicos se preparan utilizando el asesoramiento de grupos de expertos sobre la mejor práctica del momento. Los valores acumulados de las categorías de evaluación se utilizan para obtener los códigos de confianza.

Cuadro 10.5 Códigos de confianza y sus criterios utilizados por Exler (1982) y adaptados

<i>Evaluación</i>	<i>Documentación del método analítico</i>	<i>Manipulación de la muestra analítica e idoneidad del método analítico</i>	<i>Control de calidad</i>
0	Ninguna	Manipulación totalmente incorrecta	Sin duplicado
1	Inédita, pero con descripción	Sin documentación	Porciones duplicadas
2	Publicada, pero modificada, modificación descrita	Técnica razonable, documentada, muy utilizada	Porciones duplicadas
3	Documentación completa y publicada	Técnica apropiada, ampliamente documentada y verificada	Materiales de referencia normalizados, enriquecimientos, recuperaciones o réplicas a ciegas

Nota: El valor más bajo para cada criterio se convierte en el índice de calidad limitante para los datos procedentes de cada serie de datos. Los códigos de confianza se asignan basándose en la suma de los índices de calidad tal y como se indica en el Cuadro 10.6.

Cuadro 10.6 Códigos de confianza y sus criterios utilizados por Exler (1982) y adaptados

<i>Suma de los índices de calidad</i>	<i>Código de confianza</i>	<i>Significado del código de confianza</i>
>6	a	El usuario puede tener confianza en el valor medio
3-5	b	El usuario puede tener cierta confianza en el valor medio; sin embargo, se han planteado algunas cuestiones acerca de valor o la manera en que se obtuvo
1-2	c	Se han planteado cuestiones serias acerca de este valor. Se debe considerar sólo como la mejor estimación de este nutriente en este alimento

La elaboración de planes de evaluación es una actividad constante y, como es evidente, depende en gran medida de la documentación adecuada de los estudios de composición. Es importante recordar que los códigos de confianza no son números reales, sino guías para los usuarios de los datos. La confianza que puede asignarse a los valores analíticos queda determinada en el análisis final por la exactitud con la que el valor obtenido predice el del alimento; para ello, es esencial la caracterización estadística de la composición de los alimentos. Hay que recordar siempre que estos códigos son categorías y no deben manipularse aritméticamente como si fueran números reales.

Recuadro 10.1 Categorías y criterios de evaluación**1. Plan de muestreo****Criterios de evaluación:**

- Selección aleatoria de los lugares de muestreo
- Número de regiones representadas
- Número de ciudades/regiones
- Número de muestras tomadas
- Número de estaciones incluidas

2. Número de muestras

(Nota: Se trata del número de muestras individuales del alimento analizadas independientemente, no del número de unidades de muestra recogidas)

Criterios de evaluación:

- Número de análisis independientes
- Los análisis múltiples de una sola muestra compuesta o de la misma muestra se consideran como uno solo

3. Manipulación de las muestras**Criterios de evaluación:**

- Homogenización
 - Equipo utilizado
 - Validación de la homogeneidad
- Análisis de la porción comestible
- Condiciones de almacenamiento
- Datos sobre el contenido de humedad

4. Método analítico**Criterios de evaluación:**

- Validez del método
 - Evaluación del método frente a una serie de criterios normalizados
- Validez del método utilizado en el laboratorio
 - Demostración de la capacidad del laboratorio para hacer un uso satisfactorio del método, normalmente mediante el análisis de materiales de referencia certificados

5. Control de calidad analítica**Criterios de evaluación:**

- Resultados del control de calidad del material en el lote analítico
- Coeficiente de variación para el material de control de calidad
- Frecuencia de utilización del material de control de calidad
 - Con cada lote, diaria, semanal, ocasional
- Resultados de la recuperación para el lote

Fuente: Versión adaptada de Holden, Bhagwat y Patterson, 2002.

Cambios de valores

Una vez que se ha difundido una base de datos de los usuarios y se están utilizando los datos, es importante mantener un registro de los valores incluso después de que hayan cambiado. Burlingame (1992) describe la importancia del carácter distintivo de los «cambios» de la base de datos de composición de alimentos de Nueva Zelanda. Hay como mínimo tres motivos para cambiar los valores de una base de datos: i) se pueden actualizar con la adquisición de más valores para el cálculo de una media; ii) se pueden corregir si se identifica un valor incorrecto, o iii) la necesidad de la modificación puede deberse a cambios reales en la composición del alimento (por ejemplo, debido a una nueva legislación en materia de enriquecimiento). En todos los casos es útil documentar el motivo del cambio y mantener los antiguos valores en una «base de datos de cambios», para un seguimiento de comprobación de la base de datos. Un ejemplo de su utilidad es cuando se realizan encuestas nacionales de composición de los alimentos a lo largo del tiempo; si la ingesta de nutrientes de la población varía

de una encuesta a la siguiente, la «base de datos de los cambios» permitirá establecer una diferencia entre los cambios reales en la ingesta y los simplemente relacionados con las correcciones y actualizaciones hechas en la base de datos.

Alimentos en desuso

Como en el caso del carácter distintivo de los «cambios», es importante mantener un seguimiento de comprobación de los registros de los alimentos, incluso cuando un producto alimenticio ya no figura en el suministro de productos alimenticios. El código del alimento se suele utilizar como «clave» en un sistema de gestión de bases de datos relacionales. A menudo estos códigos se utilizan también en proyectos de evaluación dietética, en aplicaciones de paquetes informáticos y en otras actividades importantes en curso en las que se utilizan datos de composición. Por consiguiente, es prudente mantener de manera permanente los códigos originales de los alimentos y no reutilizarlos para otros, aun cuando los alimentos a los cuales se asignaron inicialmente hayan caído en desuso.

Capítulo 11

Directrices para la utilización de los datos de composición de alimentos

Hay dos escuelas de pensamiento sobre las tablas de alimentos. Una tiende a considerar que las cifras que figuran en ellas tienen la exactitud de las determinaciones del peso atómico; la otra las rechaza como carentes de valor, basándose en que un producto alimenticio puede sufrir tales modificaciones por influencia del suelo, la estación o su ritmo de crecimiento que no hay ninguna cifra que pueda ser una guía fidedigna de su composición. Naturalmente, la verdad está en algún lugar intermedio entre estos dos puntos de vista.

(Widdowson y McCance, 1943)

Una base de datos o tabla de composición de alimentos es un instrumento científico y se debe tratar como tal. Incluso la mejor tiene escaso valor si se utiliza de manera incorrecta. Los compiladores están obligados a garantizar que la base de datos satisfaga las necesidades de los usuarios y además deben definir para el usuario las limitaciones que tiene, de manera que los datos no se utilicen de forma inapropiada. Sin embargo, la utilización correcta es responsabilidad de quienes capacitan a los usuarios y de los propios usuarios.

Para una utilización eficaz se requiere una capacitación y pericia cuyo nivel depende de la complejidad de la base de datos o tabla correspondiente (véase en el Capítulo 1 un análisis de los niveles de gestión de los datos). Incluso las tablas de alimentos simplificadas destinadas a profanos requieren algún conocimiento básico de pesos y medidas y de términos como «kilojulios» y «energía». Las bases de datos más complejas exigen un conocimiento de las formas de expresión, los descriptores de alimentos y conceptos como «porción comestible». Un nutricionista o dietista profesional se puede familiarizar con los principios del muestreo, la metodología analítica y la gestión de datos y percatarse de las equivocaciones comunes que pueden cometerse durante el uso de la base de datos. El usuario profesional también necesita capacitación en la evaluación de la base de datos para aplicaciones especializadas (por ejemplo, un proyecto de investigación). Un programa de capacitación que abarcara todos estos aspectos constituiría probablemente una unidad en cualquier curso de formación superior o curso profesional de especialización en nutrición. La Universidad Agrícola de Wageningen y la FAO/UNU/INFOODS han impartido cursillos especializados de capacitación sobre la obtención, gestión y utilización de datos de composición de alimentos en centros de todo el mundo desde 1992; se puede encontrar información acerca de los próximos cursos

en la página web de la INFOODS (INFOODS, 2003). En conjunto, los encargados de capacitar a los usuarios de bases de datos de composición de alimentos siguen teniendo una responsabilidad considerable (Greenfield, 1991b).

En último término, es en los usuarios, especialmente en los usuarios profesionales, en quienes recae la responsabilidad de utilizar la base de datos correctamente, en particular en aquellos que están a cargo de la actualización o complementación de una base de datos ya existente para su propia organización. Así pues, deben familiarizarse con todos los aspectos de la base de datos o tabla, a saber, cobertura, métodos de análisis, métodos de compilación, fuentes de los valores, diversos tipos de valores, códigos, nomenclatura de los alimentos y formas de expresión. Deben asimismo conocer la manera de utilizar factores al calcular valores derivados (por ejemplo, equivalentes de proteínas, valor energético y vitaminas) y los distintos niveles de fiabilidad asignados a los valores para diferentes nutrientes. Han de efectuarse verificaciones aritméticas para comprobar la exactitud de los valores calculados (por ejemplo, los niveles de ácidos grasos en un alimento, calculados a partir del contenido de grasas del producto alimenticio y la composición de ácidos grasos [véase el Apéndice 5]). Cualquier programa informático preparado para utilizarlo con la base de datos se debe someter a una verificación cuidadosa. Por último, el usuario debe asegurarse de que cualquier informe de investigación en el que se haya recurrido a una base de datos o una serie de tablas documente plenamente la base de datos o las tablas usadas, así como cualquier valor complementario de los alimentos que se haya utilizado (Perloff, 1983). Varias revistas (*Journal of Food Composition and Analysis*, 2003a; *Journal of the American Dietetic Association*, 2003; y *Nutrition and Dietetics*, 2003) exigen ahora la identificación de las bases de datos de nutrientes y el programa informático en todos los artículos publicados, de acuerdo con la siguiente presentación normalizada propuesta por el Grupo de Trabajo sobre Citas, coincidiendo con la Conferencia del Banco de Datos de Nutrientes de los Estados Unidos:

Citar en el texto entre paréntesis a los creadores del programa informático cuando se menciona por primera vez. En las citas de los programas informáticos deben figurar el nombre, el número de versión y la fecha de publicación del programa, así como el nombre y lugar de residencia (ciudad y estado) de su creador. Si el programa informático incorpora una base de datos de nutrientes, ha de facilitarse en el texto información acerca de dicha base. Ha de figurar la fecha en que se hizo pública la base de datos, una descripción de las modificaciones sustanciales introducidas en ella y una explicación de la manera en que se ha actuado cuando faltaban datos de nutrientes de los alimentos (es decir, indicar si se extrapolaron los valores y evaluar los efectos de los valores ausentes en los totales de la dieta para los nutrientes de interés).

Sería conveniente que adoptaran esta práctica todas las revistas que publican estudios de alimentación humana. Si no se facilita dicha información, nunca se podrá replicar de manera independiente un estudio tal como se ha publicado.

La calidad de las bases de datos futuras solamente mejorará si todos los usuarios están bien capacitados y se mantienen alerta.

Limitaciones de la utilización de las bases de datos de composición de alimentos

En varios estudios se han comparado los valores obtenidos del análisis químico de dietas mixtas con valores calculados utilizando tablas o bases de datos de composición de alimentos, con resultados muy desiguales (Stock y Wheeler, 1972; Acheson *et al.*, 1980; Stockley *et al.*, 1985; Wolf, 1981; McCullough *et al.*, 1999). Arab (1985) demostró lo difícil que resultaba establecer comparaciones internacionales, debido a las variaciones tanto en la nomenclatura como en la composición de los alimentos. Las limitaciones en el uso de las bases de datos de composición de alimentos se pueden resumir como sigue:

- a) variabilidad en la composición de los alimentos;
- b) cobertura parcial o limitada de productos alimenticios;
- c) cobertura parcial o limitada de nutrientes;
- d) bases de datos o valores de composición de alimentos inapropiados;
- e) errores surgidos durante la utilización de la base de datos;
- f) incompatibilidad entre bases de datos;
- g) diferencias en los programas informáticos;
- h) limitaciones de los métodos de medición de la ingesta de alimentos.

Variabilidad en la composición de los alimentos

Por su condición de materiales biológicos, los alimentos muestran variaciones naturales en la cantidad de nutrientes que contienen. Esta variabilidad aumenta con los distintos métodos de explotación agrícola y ganadera, almacenamiento, transporte y comercialización. A pesar de estar sujetos a controles de calidad durante la producción, los alimentos elaborados también presentan variaciones, debido en parte a la diversa composición de ingredientes, pero también a los cambios en la formulación y la producción. Algunos alimentos compuestos, como las margarinas, se reformulan sistemáticamente con el procedimiento de menor costo que mantenga las cualidades tecnológicas del producto dentro de una gama de precios definida, pero se puede alterar el contenido de nutrientes.

Para muchos alimentos no están definidos los límites de la variación natural de los nutrientes. Asimismo, las variaciones introducidas a medida que el alimento pasa de la producción a la venta al por menor y al consumo no son conocidas para muchos nutrientes, debido a la escasa prioridad que se otorga a la investigación de la composición de los alimentos y a la consecuente falta de recursos. Sin embargo, existe suficiente información para respaldar algunas afirmaciones generales acerca de las principales fuentes de variación en la composición nutricional de los alimentos.

Carnes. Las principales fuentes de variación en los productos animales son la proporción de tejido magro con respecto al graso y la proporción de material comestible en relación con el no comestible (hueso, cartílagos). La distinción entre comestible y no comestible está sujeta a idiosincrasias culturales y personales. La razón magro:grasa afecta a los niveles de la

mayor parte de los demás nutrientes, que se distribuyen de manera diferente en las dos fracciones.

Frutas y hortalizas. En los alimentos de origen vegetal, la genética, las prácticas agrícolas y el almacenamiento son fuentes importantes de variación. El contenido de agua se ve particularmente afectado por las condiciones de almacenamiento y las variaciones en dicho contenido van acompañadas de cambios en todos los demás componentes, fundamentalmente como consecuencia de las variaciones en la densidad de nutrientes. Las condiciones de explotación, la geoquímica (composición del suelo) y la utilización de fertilizantes alteran el contenido de vitaminas y minerales, especialmente los oligoelementos; los niveles de iluminación influyen en la concentración de azúcares, ácidos orgánicos, carotenoides y vitamina C. El nivel de sustancias fitoquímicas varía aun más que los de nutrientes, debido a que depende en gran medida de factores como las plagas y los plaguicidas (Eldridge y Kwolek, 1983).

Cereales. Las harinas y granos varían menos que las frutas y hortalizas debido a que solamente se pueden almacenar si tienen un contenido muy bajo de agua. Sin embargo, su contenido de proteínas puede variar en un factor de dos, en función de la variedad y los fertilizantes aplicados. Naturalmente, el fertilizante y el tipo de suelo dan lugar a algunas variaciones en el contenido de minerales. Las prácticas de enriquecimiento de los cereales de algunos países influyen notablemente en el contenido de vitaminas B, hierro, calcio y folato.

Leche. La principal variación corresponde al contenido de grasas y vitaminas liposolubles. La mayoría de los países industrializados tienen normas rígidas sobre el contenido de grasas y la recogida de leche de grandes hatos reduce al mínimo las diferencias debidas a la etapa de lactación. Es considerable la variación en la composición de la leche de los hatos pequeños, la mayor parte de los cuales están en los países en desarrollo. Las concentraciones de carotenos en la leche pueden presentar variaciones notables, en función de la época del año y de que los hatos se alimenten a base de piensos concentrados o de pasto. En algunos países se enriquece la leche, por ejemplo, con vitaminas A y D.

Alimentos elaborados. Son habituales las variaciones en los ingredientes y la formulación, aunque la mayor parte de los fabricantes tienen especificaciones rigurosas en cuanto a los ingredientes y utilizan procedimientos de control de calidad que en ocasiones se refieren a los niveles de nutrientes. Sin embargo, lo que se exige en muchos casos es el mantenimiento de niveles específicos de nutrientes y la mayoría de las adiciones incluyen un «excedente» para cubrir las pérdidas durante la manipulación y el almacenamiento. A pesar del control de calidad, muchos alimentos elaborados muestran las mismas variaciones que se observan en los alimentos «naturales».

Platos mixtos. En la alimentación humana se utiliza una amplia variedad de platos mixtos, preparados por servicios de comidas (como restaurantes o comedores en los lugares de trabajo)

o en el hogar. Los platos mixtos muestran las mayores variaciones en cuanto a la composición, por lo que representan los datos menos fidedignos de una base de datos de alimentos. No obstante, si se va a utilizar una base de datos en estudios nutricionales de las personas como miembros de grupos, se necesitarán los datos relativos a estos alimentos. Las principales fuentes de variación son la formulación de las recetas y el método de cocción.

Datos de composición calculados. Los resultados de los cálculos incorporan a los datos analíticos de los ingredientes utilizadas variaciones como las enumeradas más arriba, así como variabilidad en los factores de rendimiento y de retención.

Las variaciones que se resumen más arriba constituyen un obstáculo importante para la utilización de las bases de datos de composición de alimentos. Es poco probable que una base de datos prediga dentro de unos límites estrechos la composición de una muestra particular de alimento, debido a que los límites varían en función del producto alimenticio y del nutriente. Además, los límites solamente se pueden definir si el valor de cada nutriente va acompañado de algún tipo de medida de la variación dentro de ese alimento. Beaton (1987) realizó cálculos de simulación con datos de composición de alimentos de los Estados Unidos (para los cuales se publicaron datos del error estándar) utilizando modelos de dieta. La variabilidad parecía producir un sesgo menor en la ingesta de nutrientes para la dieta formada por numerosos alimentos que para la formada por un pequeño número de ellos. Este estudio también puso de manifiesto la necesidad de analizar o replicar los análisis de los alimentos que suministran una cantidad importante de nutrientes en la dieta.

Lo ideal sería que todas las bases de datos de composición de alimentos contuvieran estimaciones de la variabilidad. Así pues, la base de datos de composición ideal se tendría que derivar de un número de valores analíticos suficiente para permitir la definición de los límites naturales de la variación y la distribución de la varianza. Se están preparando bases de datos que pueden cumplir estos requisitos estadísticos (ILSI, 2003). Sin embargo, incluso una base de datos ideal de esta índole sólo podría predecir el cambio previsto de composición para cada alimento en particular.

Es necesario, pues, que todos los usuarios conozcan las variaciones naturales de los alimentos en todos los sectores, ya que limitan la exactitud de las predicciones en los cálculos de la ingesta de nutrientes. Además, al utilizar una base de datos de composición con fines normativos o para definir patrones con los cuales se pueda comparar una muestra de alimento concreta, hay que tener presente esta variación natural.

Para algunos nutrientes, la base de datos es, en el mejor de los casos, una guía cuantitativa aproximada. Como ejemplo cabe mencionar la vitamina C y los folatos, así como el sodio (y el cloruro) debido a la amplia utilización de la sal como aditivo. En muchos casos solamente se puede hacer una predicción semicuantitativa de los oligoelementos.

Cobertura parcial o limitada de productos alimenticios

En los países industrializados, el número de alimentos elaborados de marca disponibles es del

orden de 10 000; además, continuamente se introducen nuevos productos. El número total de alimentos consumidos, si se incluyen los platos mixtos, es probablemente del orden de 100 000. Por consiguiente, es poco probable que una base de datos pueda ser verdaderamente exhaustiva más allá de un breve período de tiempo. Es evidente que hay que evaluar las prioridades al seleccionar los alimentos para su inclusión. No obstante, los usuarios necesitan una cantidad creciente de datos sobre nombres de marcas en las bases de datos de composición de alimentos, debido a que muchos productos alimenticios manufacturados tienen características únicas de composición o bien carecen de un equivalente genérico (McDowell, 1993).

Si se aplican a la selección los criterios examinados en el Capítulo 3, la base de datos contendrá información de los alimentos genéricos o los principales tipos de productos. De esta manera las galletas se pueden identificar por el nombre de marca y el tipo (dulces, semi-dulces, etc.), y una galleta se puede asignar a un tipo si no está incluida la marca específica. En la mayor parte de los estudios nutricionales, el error debido a este sistema es aceptable. Para una aplicación de una base de datos informatizada, probablemente se pueda elaborar un programa informático que guíe al usuario hacia el artículo alternativo más apropiado. Un registro acumulativo de artículos para los cuales se buscaran alternativas serviría de ayuda para evaluar las prioridades con respecto a los artículos que han de incorporarse a la base de datos.

Cobertura parcial o limitada de nutrientes

La asignación de prioridades a nutrientes específicos para su inclusión en una base de datos se ha examinado en el Capítulo 4. La cobertura completa de todos los nutrientes requiere un nivel elevado de dotación de instrumentos de laboratorio y muchos nutrientes siguen planteando problemas desde el punto de vista analítico. Por consiguiente, no es frecuente la cobertura completa de todos los nutrientes en muestras bien documentadas. Además, el interés por los nutrientes cambia con el tiempo. Así, por ejemplo, en 1967-68 la mayoría de los dietistas del Reino Unido no requerían valores de los «carbohidratos no disponibles» (fibra dietética), mientras que en 1974 todos trataban de conseguir esos datos con ahínco. En algunos casos el interés por los nutrientes sigue un camino paralelo a la metodología analítica; la llegada de los cromatógrafos de gases permitió conseguir una caracterización detallada de la composición de ácidos grasos, la cromatografía líquida automática hizo que aumentara el interés por los aminoácidos y la cromatografía líquida de alta presión por el análisis de los azúcares libres. Gracias a las mejoras del análisis inorgánico mediante el uso de la espectroscopia de absorción atómica ha aumentado el interés por los oligoelementos.

Si se concede la máxima prioridad a los nutrientes proximales e importantes (como se indica en el Capítulo 4), las nuevas bases de datos carecerán de ciertos datos correspondientes a algunos años. Aunque se intente aplicar un programa analítico amplio en gran escala, habrá que seguir asignando prioridades en función de la importancia de cada alimento en el suministro de un nutriente. La evaluación basada en la concentración probable no es suficiente por sí sola; los niveles de nutrientes bajos en un alimento que se consume habitualmente son más importantes que los niveles elevados en otro que se consume en raras ocasiones como

artículo de lujo. Hay que valorar tanto la frecuencia del consumo como la concentración del nutriente en comparación con la gama normal de ingesta total del nutriente de que se trate. Esta evaluación pone de manifiesto a menudo que un determinado alimento contribuye de manera prácticamente insignificante al consumo total del nutriente en cuestión, por lo que es difícil justificar la labor analítica sobre dicho alimento en relación con ese nutriente.

Sin embargo, los valores ausentes pueden ser fuente de errores graves. Stockley (1988) examinó diversos estudios de errores asociados con valores ausentes en las bases de datos, citando subestimaciones de la ingesta de vitamina B que iban del 1,5 por ciento al 14,3 por ciento. Además, solamente se obtenía el 69 por ciento de los ácidos poliinsaturados totales analizados en dietas duplicadas, mejorando hasta el 89 por ciento cuando se cumplimentaban las tablas con los valores ausentes. Cowin y Emmett (1999) compararon la ingesta de nutrientes de un estudio de ingesta de alimentos realizado en el Reino Unido calculada a partir de la quinta edición de las tablas del Reino Unido (Holland *et al.*, 1991) con la calculada a partir de la misma base de datos después de rellenar los valores ausentes con «estimaciones conjeturales». Comprobaron que de los 1 027 alimentos registrados en la encuesta alimentaria había 540 que carecían de datos para uno o varios nutrientes. La ingesta de nutrientes correspondiente a más del 90 por ciento de las personas estaba alterada por el uso de la base de datos rellenada con estimaciones conjeturales. La subestimación utilizando la base de datos sin corregir oscilaba entre el 0,04 por ciento y el 14,7 por ciento, siendo el efecto de la falta de datos proporcionalmente mayor en el extremo inferior de la distribución de la ingesta de nutrientes. Además, en el proyecto de Investigación prospectiva europea sobre cáncer y nutrición (EPIC) (Riboli *et al.*, 2002) se encontraron diferencias de hasta un 25 por ciento para la ingesta de fibra dietética cuando los valores ausentes se consideraban cero (Charrondiere, Vignat y Riboli, 2002). Este tipo de discrepancia da lugar a una clasificación errónea de las personas en una distribución de la ingesta de nutrientes.

Es evidente, pues, que no se debe utilizar el valor cero para los valores que faltan en los cálculos. Si los compiladores de la base de datos no han proporcionado estimaciones conjeturales, una alternativa práctica consistiría en que el usuario asignara valores estimados para llenar estas lagunas, o bien utilizara promedios derivados de valores conocidos para alimentos del mismo tipo. Las estimaciones preparadas mediante una interpretación cuidadosa de los datos sobre alimentos conexos son aceptables en los estudios nutricionales, siempre que se señale con claridad su utilización. Si se han de efectuar los cálculos de la ingesta utilizando el cero para los valores ausentes, en la suma debe señalarse mediante el signo «igual o mayor que» y el programa debe escribirse en consecuencia.

Slimani, Riboli y Greenfield (1995) han señalado que en los estudios de epidemiología nutricional son necesarias bases de datos específicamente adaptadas para ellos; entre los ejemplos de elaboración de dichas bases de datos se citaban las de Hankin *et al.* (1995) para las Islas del Pacífico (utilizando datos analíticos prestados, calculados y encargados), las de Salvini *et al.* (1996) para un estudio italiano y las de Schakel (2001). En un documento interesante de Buzzard, Schakel y Ditter-Johnson (1995) se describen procedimientos para el control de calidad en el mantenimiento y la utilización de las bases de datos.

Valores inapropiados de las bases de datos o la composición de alimentos

Es posible que la base de datos que se utiliza sea inapropiada debido a la falta de conocimientos o de organización para un fin concreto. Las tablas de composición de alimentos de los Estados Unidos y el Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte son probablemente las más utilizadas «por defecto» en todo el mundo, debido a su disponibilidad en presentación informatizada y su amplia cobertura de alimentos y nutrientes.

En Australia se presentó una oportunidad de someter a prueba las bases de datos cuando se preparó, a mediados de los años ochenta, la primera base de datos totalmente australiana de datos analíticos originales para los alimentos australianos analizados en laboratorios australianos; antes se habían utilizando datos del Reino Unido o los Estados Unidos. En una comparación de los datos del suministro de alimentos para 1990-91 en las nuevas tablas australianas (Departamento de Servicios Comunitarios y Salud, 1989-91) con los de las tablas del Reino Unido y los Estados Unidos, se comprobó que en estas últimas se sobreestimaba la grasa de las carnes en un 60 por ciento y la grasa total en un 15–22 por ciento. En ellas también se sobreestimaban el hierro, el zinc, la actividad del retinol, la vitamina C y el magnesio en el suministro de alimentos de Australia, mientras que el calcio era un 35 por ciento más alto utilizando los datos del Reino Unido y la tiamina un 59 por ciento más elevada utilizando los datos de los Estados Unidos (Cashel y Greenfield, 1995). La disparidad se debía a diferencias en la composición bruta de los alimentos, así como en la composición de nutrientes.

Otro problema es la utilización de bases de datos de composición de alimentos con información atrasada. En un interesante estudio de Hulshof *et al.* (1996) se investigaron los motivos del cambio en la alimentación observado entre la primera Encuesta nacional neerlandesa sobre el consumo de alimentos, llevada a cabo en 1987-88, y la segunda, de 1992. La disminución aparente de 13 g en la ingesta de grasas por persona y día durante ese período se redujo a 11 g cuando se identificaron en la base de datos de composición de alimentos cambios debidos a elementos extraños. Aproximadamente la mitad de la reducción de la ingesta de grasas se debía a cambios verdaderos en la elección de los alimentos y la otra mitad a cambios verdaderos en los productos alimenticios. Todas las bases de datos de composición de alimentos tienden a quedar «atrasadas», a la vista de los inevitables retrasos entre las etapas de recolección de alimentos para el análisis y de introducción de los datos validados sobre composición de nutrientes en el sistema de gestión de la base de datos, y en el estudio mencionado se indicaba que era necesario preparar y actualizar cuidadosamente una base de datos antes de utilizarla para las referencias nacionales en los estudios sobre alimentación. También se ilustraba la utilidad de contar con un seguimiento de comprobación de los datos, es decir, un sistema de registro de los cambios en los datos y de los motivos de dichos cambios.

Errores surgidos durante la utilización de las bases de datos

Danford (1981) y Hoover (1983a) describieron una serie de estudios en los que se encontraban diferencias considerables entre los resultados del consumo de nutrientes en un solo día si se elaboraban en varias bases de datos de composición de alimentos diferentes, aun cuando todas ellas estuvieran basadas en el manual de valores de la composición de los alimentos

del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Estos problemas se han reproducido en estudios más recientes, siendo ahora la situación aún más complicada debido a la proliferación de programas informáticos de cálculo en los Estados Unidos, cada uno de ellos con distintas modificaciones de la base de datos de nutrientes (Lee, Nieman y Rainwater, 1995; McCullough *et al.*, 1999). Así pues, a la lista indicada inicialmente por Hoover (1983a) hay que añadir las diferencias en los programas informáticos como fuente de error en la utilización de las bases de datos: diferencias en la conversión de las mediciones en los hogares a pesos normalizados, codificación errónea de los artículos alimenticios y problemas para su identificación exacta. En estudios análogos realizados en Francia (Herbeth *et al.*, 1991) se señalaron las diferencias en las bases de datos disponibles en el país como la principal fuente de error.

Hoover y Perloff (1983, 1984) prepararon una serie de procedimientos para verificar la exactitud de la utilización de una base de datos de composición de alimentos, a saber, procedimientos para la actualización de la base de datos, para el cálculo de nutrientes en una receta sencilla, para la notificación de los datos de referencia, para la notificación de los nutrientes correspondientes a diversos tamaños de porciones y para la realización del cálculo de un registro de ingesta dietética. Este instrumento de control de calidad se puede adaptar a distintos tipos de bases de datos de nutrientes. y constituye asimismo un modelo útil en campo didáctico.

La utilización de estos procedimientos normalizados puso de manifiesto que la inclusión de detalles descriptivos abundantes de los productos alimenticios reducía la discordancia entre los alimentos y los artículos alimenticios de la base de datos (Hoover y Perloff, 1983). Esta indicación de que la confusión en la nomenclatura alimentaria es una fuente importante de error al utilizar las bases de datos pone de relieve la necesidad de mejorar los métodos de nomenclatura alimentaria.

Entre los errores que surgen durante la utilización de las bases de datos cabe mencionar los siguientes:

- a) no registrar suficientes detalles relativos al alimento (por ejemplo, método de cocción o de elaboración);
- b) no indicar si se pesó el alimento total o solamente la porción comestible;
- c) utilizar datos de los nutrientes de los alimentos crudos en lugar de cocinados;
- d) errores en el cálculo de la ingesta de ácidos grasos debidos a la utilización de ácidos grasos por 100 g de ácidos grasos totales en lugar de por 100 g de alimento, o bien a la utilización de un factor de conversión incorrecto;
- e) no efectuar un ajuste para las pérdidas de agua, vitaminas y minerales al calcular la ingesta de nutrientes a partir de una receta;
- f) no indicar la identidad de las grasas y aceites utilizados en los alimentos de las recetas o los alimentos cocinados en grasa;
- g) no incluir los compuestos de la provitamina A al calcular la ingesta de vitamina A;
- h) no reconocer la diferencia de valores debida a las definiciones de los nutrientes, por ejemplo, carbohidratos disponibles en contraposición a los totales;

- i) errores en la equiparación de alimentos nutricionalmente diferentes al sustituir alimentos que faltan en las tablas o bases de datos;
- j) equivocaciones en las conversiones (de volumen a peso, de la descripción de la porción a peso).

Incompatibilidades entre bases de datos

Los epidemiólogos se muestran a menudo preocupados por las comparaciones de la dieta entre países o entre poblaciones. La incompatibilidad de las bases de datos limita con frecuencia las conclusiones que se pueden extraer de dichas comparaciones. Deharveng *et al.* (1999) compararon las tablas de composición de alimentos de los nueve países europeos que participaron en el proyecto EPIC en cuanto a disponibilidad, definición, métodos analíticos y forma de expresión de los nutrientes de interés para el estudio epidemiológico. Aunque la mayor parte de los nutrientes de las tablas se habían analizado y expresado de manera compatible, algunos no eran comparables (por ejemplo, el folato, la fibra dietética, los carbohidratos, los carotenos). Otros problemas que se encontraron fueron los métodos analíticos anticuados y la inclusión de datos de alimentos recopilados hacía más de 20 años. Los autores llegaron a la conclusión de que se necesitaban tablas de composición de alimentos preparadas al efecto para analizar el elevado volumen de información sobre alimentación que figuraba en el proyecto EPIC.

Diferencias en los programas informáticos

En la actualidad, la mayoría de los usuarios no pertenecientes a los principales centros de investigación que pueden permitirse crear sus propios programas de cálculo utilizan la base de datos de nutrientes integrada en el programa informático que compran. De ahí la necesidad de identificar el programa informático y la base de datos por separado en las publicaciones. Los productores de programas informáticos incorporan con frecuencia alimentos o componentes adicionales a sus bases de datos o pueden seleccionar ciertos datos de nutrientes (por ejemplo, la niacina exclusivamente, en lugar de los equivalentes de niacina, al calcular la situación de la niacina dietética). Esto significa que los usuarios deben estar capacitados para evaluar los programas informáticos antes de comprarlos, especialmente cuando los vaya a utilizar un número elevado de usuarios (por ejemplo, en todo un sistema de asistencia sanitaria, como un grupo de hospitales, o para una aplicación relacionada con la salud en toda una provincia o estado).

La variedad de funciones que se necesitan ahora en los instrumentos de análisis dietético es enorme y se examina con detalle en Weiss (2001) y Stumbo (2001). Entre ellas cabe mencionar las siguientes: incorporación de registros de clientes; instalaciones para actualizar las bases de datos de composición de alimentos; búsqueda y presentación de los alimentos indicando la composición de nutrientes por 100 g y por tamaños de las porciones normales; clasificación de los alimentos en función del suministro de nutrientes; cálculo del contenido de nutrientes en las recetas, las comidas, las dietas, las ingestas de alimentos (procedentes de registros dietéticos o de cuestionarios sobre la frecuencia de la alimentación) y los menús; multiplicación o división de la ingesta de alimentos y nutrientes por factores como días,

comidas u otras variables de interés; comparaciones de la ingesta de nutrientes con las recomendaciones dietéticas; realización de cálculos como, por ejemplo, promedios o división en deciles de los datos de la ingesta de grupos para los alimentos y nutrientes; impresión o presentación de los resultados en forma de tablas, listas o gráficos; almacenamiento de los registros calculados o su transferencia para realizar nuevos análisis estadísticos; cálculo e impresión de las etiquetas de los productos con los nutrientes, los ingredientes y las comparaciones con referencias dietéticas; cálculo de los costos de los productos, las comidas y las dietas; impresión de las etiquetas para las comidas y los clientes; preparación de dietas, menús y listas de compra de alimentos con fines de investigación, terapéuticos u hospitalarios en función de los distintos costos; ajuste de los menús para alcanzar los objetivos nutricionales.

Limitaciones de los métodos de medición de la ingesta de alimentos

La manera más exacta de evaluar la ingesta de nutrientes de una persona es analizar un duplicado exacto de los alimentos consumidos durante el período del examen. Rara vez se utiliza este sistema, debido a problemas prácticos evidentes, además de los costos y el tiempo que se requieren para los análisis. El método normal consiste en la estimación de la ingesta de nutrientes mediante la aplicación de los datos del consumo de alimentos a los datos de su composición. En efecto, los cálculos de este tipo probablemente constituyan la principal aplicación de las bases de datos de composición de alimentos en la actualidad.

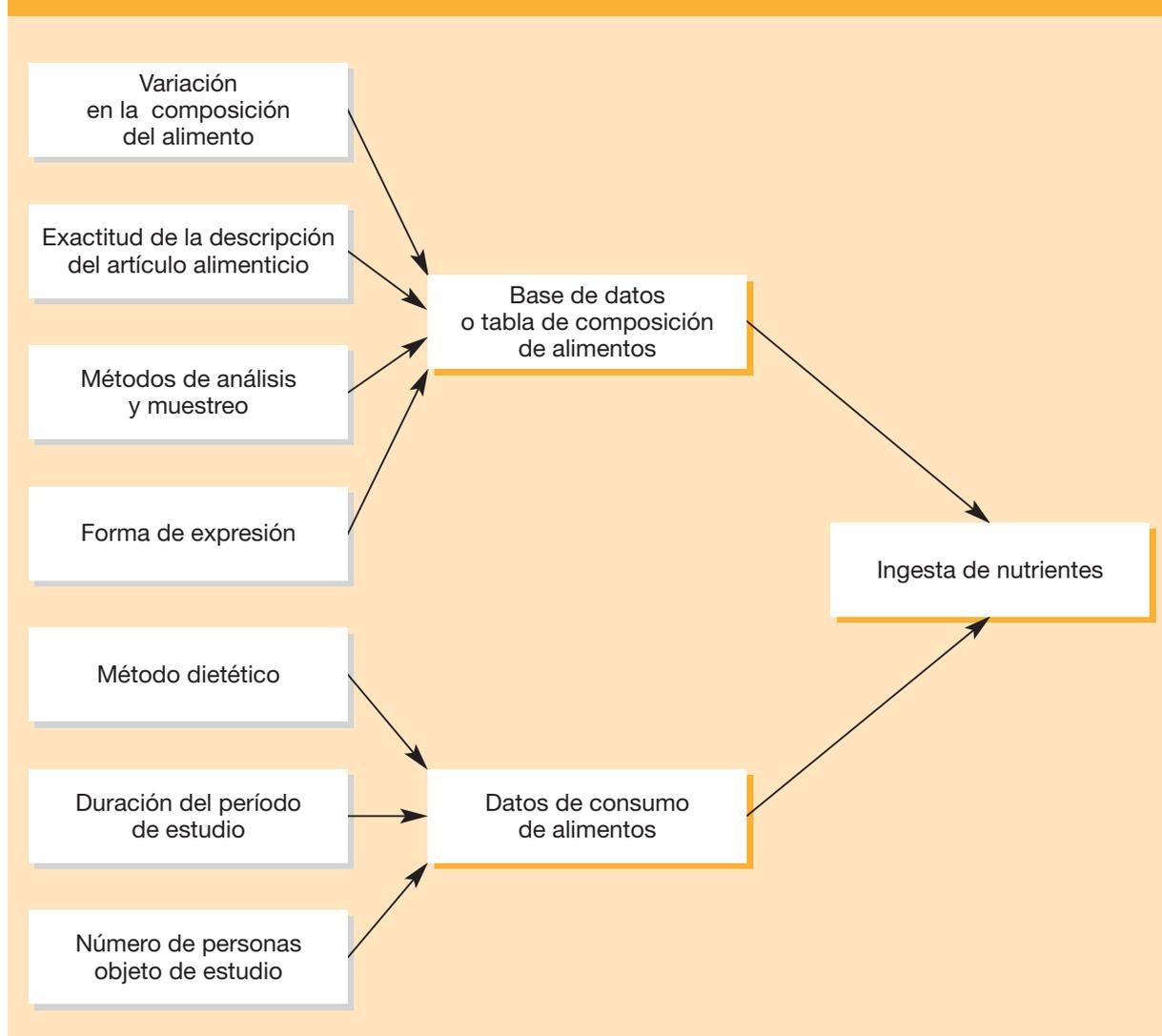
Todas las maneras de estimar las cantidades de alimentos consumidos están asociadas con algún grado de error. El examen completo de este tema queda fuera del ámbito de la presente obra, pero los lectores interesados pueden consultar varias publicaciones (Bingham, 1987, 1991; Gibson, 1990; Willett, 1998; Margetts y Nelson, 1997). Un problema que llama la atención en todos los métodos dietéticos es la elevada prevalencia de notificaciones incompletas, que según las estimaciones de Macdiarmid y Blundell (1998) llega al 70 por ciento en determinados grupos.

Es evidente que los errores en la medición de la ingesta de alimentos se suman a los que se derivan de las diferencias entre la composición del producto alimenticio consumido y los valores registrados en la base de datos. Al mismo tiempo, la exactitud de las ingestas de nutrientes calculadas a partir de los datos de composición de alimentos no se puede mejorar prestando atención exclusivamente a la base de datos. La calidad de los resultados depende de la calidad de la base de datos, la exactitud con la que se puedan identificar los alimentos, la calidad de los datos del consumo de productos alimenticios y la exactitud con la que se utilicen la base de datos de composición de alimentos y los programas (o los cálculos) (Figura 11.1).

Evaluación de la base de datos, las tablas o el programa informático

Una tarea que inevitablemente corresponde al nutricionista profesional, en particular el que interviene en un proyecto de investigación, es la elección de una base de datos. Debido al elevado

Figura 11.1 Factores que influyen en la exactitud de la estimación de la ingesta de nutrientes



número de programas comerciales de análisis de la dieta que existen ahora para el cálculo de la ingesta de nutrientes, los nutricionistas necesitan capacitación en la evaluación y selección de las bases de datos; es más, dicha capacitación debería formar parte de todos los cursos universitarios o de formación profesional sobre nutrición. En general, las opciones que tiene a su disposición el nutricionista son las siguientes (adaptadas de las propuestas por Perloff [1983]):

1. Informatizar una serie de tablas o crear una base de datos informatizada a partir de varias series de tablas que estén disponibles (en este caso se deben indicar los criterios para la selección de los valores. Los programas para el cálculo de la ingesta de nutrientes deben figurar por escrito).
2. Conectarse a una base de datos informatizada ya existente mediante un módem.
3. Comprar una base de datos informatizada en disco, CD o en línea y preparar programas de computadora para calcular la ingesta de nutrientes a partir de la base más los datos de consumo.

4. Comprar una base de datos y los programas.
5. Contratar el suministro de datos de consumo con un usuario de una base de datos que calcule los datos de la ingesta de nutrientes cobrando una tarifa.

Al examinar estas opciones, la principal preocupación del usuario ha de ser, en primer lugar, elegir una base de datos que sea apropiada, que contenga datos fidedignos para alimentos muy parecidos a los consumidos y que cuente con programas exactos.

La idoneidad de la base de datos puede determinarse utilizándola en tareas normalizadas basadas en las funciones expuestas más arriba (Hoover y Perloff, 1983, 1984). Otros aspectos relevantes serán el costo, la velocidad, la facilidad y comodidad de utilización, el grado de capacitación que necesita el operador y las necesidades de equipo informático.

Capítulo 12

Necesidades actuales y orientaciones para el futuro

Desde la publicación de la primera edición de este libro (Greenfield y Southgate, 1992), se han registrado en el mundo cambios espectaculares de gran importancia para los sectores de la producción, gestión y utilización de los alimentos. Estos cambios se exponen a continuación.

En primer lugar, merece especial mención el hecho de que en el informe final de la Conferencia Internacional sobre Nutrición (CIN) se incluyera una Declaración Mundial y un Plan de Acción para la Nutrición (FAO/OMS, 1992), con referencias constantes a la necesidad de datos de composición de nutrientes de los alimentos, especialmente en los apartados de la Sección IV, «Estrategias y acciones». En concreto, en la Sección IV, 9, j, se lee lo siguiente: «Respaldar y alentar [...] la elaboración y utilización de información local sobre composición de alimentos». Como seguimiento de la CIN, los países elaboraron sus planes de acción para la nutrición y posteriormente informes sobre la aplicación de estos planes. En el Plan de Acción Nacional de Nueva Zelandia para la Nutrición (MOH, 1996) se señalaba que «la composición de los alimentos proporciona información esencial para una vigilancia eficaz de la alimentación y la nutrición. Con el fin de mantenerse al día, es necesario seguir actualizando y ampliando los datos de composición de alimentos para incluir nuevos valores locales e internacionales que sean apropiados sobre dicha composición».

En segundo lugar, las actividades de la INFOODS han registrado ahora un desplazamiento, con la centralización de esta importante función en la FAO. La FAO había reducido anteriormente su participación en la labor relativa a la composición de alimentos tras la publicación de las tablas de composición de alimentos para el Cercano Oriente (FAO, 1982), pero en 1994 renovó su compromiso de mejorar la calidad y la disponibilidad de datos de composición de alimentos en los países en desarrollo. Como parte de esta nueva actividad, la FAO se unió a la UNU en la coordinación de la INFOODS. Con la fusión de las actividades de la UNU y la FAO, la INFOODS comenzó a funcionar desde la Sede de la FAO en Roma en 1998 (véase el Capítulo 1).

En tercer lugar, en 1993 se celebró en Sydney (Australia) la Primera Conferencia Internacional sobre Bases de Datos de Alimentos (vinculada oficialmente al Congreso Internacional de Nutrición de la Unión Internacional de Ciencias de la Nutrición [IUNS]) y se publi-

caron las actas (Greenfield, 1995). La serie de conferencias internacionales sobre datos de alimentos ha proseguido y se han publicado las actas de cada una de ellas: Finlandia en 1995 (Finglas, 1996), Roma en 1999 (Burlingame, 2000), Eslovaquia en 2001 (Burlingame, 2002) y Estados Unidos en 2003 (Pennington y Stumbo, 2004). En 1997, la IUNS estableció un Grupo de Acción para la Conferencia Internacional sobre Datos de Alimentos, encargado de supervisar los mecanismos para la selección de los coordinadores y los lugares de celebración y prestar asistencia en relación con la publicidad y la dotación de recursos (IUNS, 2003). Estas conferencias y sus actas publicadas han contribuido mucho a promover la investigación internacional sobre composición de alimentos. La INFOODS (2003) acoge la página web de la Conferencia Internacional sobre Datos de Alimentos.

En cuarto lugar, se consiguió un acceso casi universal a computadoras personales; las amplias posibilidades de acceso a Internet a comienzos de los años noventa abrieron un número ilimitado de posibilidades en cuanto a la disponibilidad de información sobre composición de alimentos en todo el mundo. La primera edición de este libro (que se elaboró entre 1983 y 1992) se preparó en su mayor parte mediante el envío de mensajes por télex y el intercambio de proyectos por correo aéreo, mientras que la presente edición se ha preparado casi en su totalidad mediante el intercambio de correspondencia y anexos por correo electrónico. Ahora se tiene acceso a muchos datos o bases de datos de composición de alimentos o se pueden descargar de Internet. Algunos son gratuitos, por ejemplo, en el caso de la Sociedad de Nutrición de Malasia (2003), la LATINFOODS (2003) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2003a). Otros se pueden comprar en línea, por ejemplo, la base de datos alemana (Souci-Fachmann-Kraut, 2003). En Australia y Nueva Zelanda, se puede obtener gratuitamente por Internet una base de datos de composición de alimentos simplificada correspondiente a los productos alimenticios del país, que permite realizar cálculos con fines de etiquetado nutricional (FSANZ, 2003; Crop & Food Research, 2003), y muchos programas de composición de alimentos tienen sus propias páginas web, por ejemplo, el Banco de Datos de Composición de Alimentos Danés (Danish Veterinary and Food Administration, 2003). También se pueden comprar en la web programas informáticos de usuarios, con la posibilidad de descargarlos directamente. Las bases de datos y los programas informáticos se pueden descargar incluso en computadoras de bolsillo.

Aunque existe siempre el peligro de que la disponibilidad de datos de composición de alimentos en Internet pueda dar lugar a la descarga de datos inapropiados o la incorporación bien de datos de escasa calidad, bien de datos sin una fuente identificada, no obstante Internet representa una fuerza positiva potencial de alcance ilimitado en la esfera de la composición de los alimentos.

Burlingame *et al.* (1995a) fueron los primeros en documentar el enorme potencial de las imágenes de los productos alimenticios como instrumento de apoyo en la elaboración de datos de composición de alimentos. Sería particularmente útil ver en la web más datos unidos a imágenes tanto de alimentos como de etiquetas. Una página ejemplar es la de la *Regulatory fish encyclopedia* [Enciclopedia normativa de los peces] de la FDA, organismo de productos alimenticios y farmacéuticos de los Estados Unidos (FDA, 2003), que muestra

fotografías de los alimentos acuáticos en su estado natural crudo y crudos preparados para la venta al por menor, junto con información taxonómica e imágenes de las bandas en gel por focalización isoelectrica para una identificación única. Aunque esta página no está enlazada con datos de composición de los peces, demuestra las interesantes posibilidades que existen para los alimentos en general.

El siguiente paso esencial parece ser la organización de cursos de capacitación en línea sobre obtención, gestión y utilización de datos de composición de alimentos.

En quinto lugar, el creciente interés por la epidemiología nutricional sigue siendo una fuerza impulsora de la demanda de más y mejores datos de composición de alimentos. Los principales estudios epidemiológicos prospectivos están comenzando a dar resultados que demuestran la importancia de este enfoque para analizar las relaciones entre los alimentos y la salud. Para los estudios epidemiológicos es necesario preparar bases de datos adaptadas a este fin (Slimani, Riboli y Greenfield, 1995). Los estudios multinacionales realizados en centros múltiples requieren bases de datos de composición de alimentos específicas que permitan obtener resultados comparables, es decir, no atribuibles a diferencias artificiales entre las distintas bases de datos nacionales (Deharveng *et al.*, 1999; Charrondiere *et al.*, 2002).

En sexto lugar, la elaboración de normas internacionales y la creciente tendencia hacia la armonización de la reglamentación alimentaria en todo el mundo han tenido una influencia notable en la elaboración de métodos perfeccionados de análisis y programas de garantía de calidad para asegurarse de que los datos de todas las partes del mundo sean más fidedignos y compatibles. La Comisión Mixta FAO/OMS del Codex Alimentarius se ha convertido en el punto de referencia mundial para todos los países por lo que se refiere a formular y armonizar normas alimentarias y velar por su aplicación en todo el mundo (FAO/OMS, 1999). Otros acontecimientos, por ejemplo, la fusión de los mercados alimentarios en Europa, han dado lugar a la necesidad de armonizar la legislación alimentaria y observarla (Goenaga, 1994). Buss *et al.* (1998) determinaron las prioridades y los recursos para la composición de alimentos en relación con la Unión Europea, al mismo tiempo que un grupo trabajaba de manera muy activa en Europa comparando los métodos analíticos y preparando materiales de referencia certificados (Finglas, 1996; Vahteristo *et al.*, 1996; van den Berg *et al.*, 1996), y lo mismo ha hecho otro en Asia (Puwastien, 2000). Estas novedades han contribuido mucho a mejorar los resultados de laboratorio y la calidad de los datos.

El principal objetivo de la iniciativa de la INFOODS (con cuyo patrocinio se ha preparado este libro) es la creación de una red internacional de sistemas de datos de alimentos, dependiente de la elaboración y la integración potencial de colecciones locales, nacionales y regionales compatibles de datos de composición de alimentos. En el Apéndice 1 figura una lista de centros regionales de datos de la INFOODS.

La compatibilidad no exige la adopción del mismo formato ni la elaboración de un sistema de bases de datos único que satisfaga todas las necesidades presentes y futuras; simplemente significa que los datos pueden utilizarse juntos (Southgate, 1985) e intercambiarse e interpretarse sin ambigüedades ni pérdida de información (Klensin, 1992). Aunque hay algunas características esenciales que deben ser iguales, como las formas de expresión y la

nomenclatura de los alimentos y nutrientes, uno de los requisitos más importantes para la compatibilidad es que los datos sean de una calidad elevada: un usuario debe tener la seguridad de que se ajustan a la tarea de la que se ocupa.

La tesis que se exponía en la primera edición de este libro era que la obtención de datos de composición fidedignos dependía de una serie integrada de actividades, con la participación de los usuarios de los datos, los analistas que los generan y los compiladores de las bases de datos. La calidad de los datos fidedignos debe formar parte del programa desde su comienzo. Como se expone a lo largo de esta obra, se han realizado algunos avances considerables hacia la consecución de este objetivo.

Necesidad de nuevos estudios

La preparación de la edición revisada de las presentes directrices puso de manifiesto varios temas cuyo estudio ulterior permitiría avanzar en el perfeccionamiento de las bases de datos de composición. Se exponen a continuación, siguiendo su orden de aparición en estas directrices.

Datos de composición de alimentos como base de estudios de nutrición cuantitativos

Es esencial reconocer que una base de datos de composición fidedigna que sea exhaustiva y al mismo tiempo representativa de los alimentos disponibles es un instrumento básico fundamental prácticamente para todas las investigaciones cuantitativas de la nutrición, para la evaluación dietética y para la formulación de políticas en materia de alimentación y nutrición.

La validez de los estudios epidemiológicos nutricionales depende de la disponibilidad de datos exactos sobre el consumo de alimentos y la composición de los productos alimenticios. A menudo no se comprenden las relaciones entre dieta y salud o enfermedad debido a deficiencias en los datos de composición o consumo de alimentos. Así pues, un programa de bases de datos de composición de alimentos debe formar parte integrante de todo programa nacional de investigación sobre la nutrición tal y como ocurre, por ejemplo, con el Programa de Nutrición Humana del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2003d), donde se establece:

El cometido del Programa de Nutrición Humana es realizar investigaciones básicas y aplicadas para determinar y comprender de qué manera afectan a la salud los nutrientes y otros componentes bioactivos de los alimentos. El objetivo último de esta investigación agrícola basada en los alimentos es determinar los alimentos y las dietas, junto con la genética y la actividad física, que mantienen y mejoran la salud a lo largo de todo el ciclo biológico. Entre los componentes de investigación de este programa cabe mencionar los siguientes: necesidades nutricionales; dieta, genética, estilo de vida y prevención de la obesidad y la enfermedad; vigilancia de la nutrición; composición de los alimentos; estrategias de intervención para la promoción de la salud destinadas a poblaciones específicas; propiedades de los alimentos de origen vegetal y animal para la promoción de la salud; biodisponibilidad de nutrientes y componentes de los alimentos (por ejemplo, fitonutrientes y productos fitoquímicos).

Armonización internacional de los programas de composición de alimentos

Los programas utilizados para la recopilación de datos de composición de alimentos presentan grandes variaciones entre los distintos países, reflejando a menudo diferencias históricas en la manera en que ha evolucionado la nutrición en cada una de las comunidades. La necesidad internacional de este gran volumen de información exigía cierto grado de armonización y la elaboración de normas compatibles sobre calidad de los datos, para lo cual era necesario a su vez formular algunos principios comunes aplicables a la organización de los estudios de composición de nutrientes de los alimentos.

Durante las lecturas y las consultas para la revisión de estas directrices, se puso de manifiesto que el principio estructural más importante seguía siendo la integración de las actividades de los usuarios (reales y potenciales), de quienes se ocupaban del muestreo y el análisis y de los compiladores. La participación de estos tres importantes elementos en todas las etapas del programa es probablemente la manera más efectiva de conseguir datos de una calidad elevada. Los compiladores pueden «incorporar» calidad a los datos en una etapa posterior, pero este sistema provoca invariablemente el rechazo de trabajo que si se hubiera incorporado antes se habría ajustado a las normas deseadas. Los programas de garantía de calidad en el laboratorio de análisis son esenciales, pero hay que incorporarlos al programa en conjunto. Esto es tan válido ahora como cuando se escribió la primera edición.

Alimentos que requieren investigación

La cobertura de alimentos en todas las bases de datos existentes es muy limitada, en comparación con el número de productos alimenticios que se consumen. Es probable que esta situación persista en un futuro próximo, debido a que los recursos necesarios para preparar bases de datos realmente exhaustivas son considerables. Por consiguiente, es imprescindible que se evalúen debidamente las prioridades al planificar los estudios analíticos futuros y que sólo se realicen nuevos análisis cuando haya pruebas convincentes que indiquen cambios nutricionalmente significativos en la composición o cuando se necesite nueva información sobre los nutrientes.

Hay tres grandes grupos de alimentos para los cuales la información es manifiestamente limitada y que merecería la pena someter a una labor analítica.

Alimentos no cultivados. Estos alimentos ocupan un lugar destacado en muchas comunidades y pueden adquirir gran importancia en momentos de escasez de productos alimenticios tras la pérdida de cultivos. Los estudios sistemáticos de la composición de alimentos no cultivados sirven ahora de ayuda a los estudios sobre la nutrición de las poblaciones que los consumen (por ejemplo, Brand-Miller *et al.*, 1993; Kuhnlein, Calloway y Harland, 1979; Kuhnlein *et al.*, 2002). Tales estudios también pueden proporcionar información sobre especies que pueden ser idóneas para un mejoramiento ulterior (por ejemplo, Dawson, 1998).

Cultivares individuales. Muchos estudios han demostrado que los distintos cultivares de la misma especie pueden tener un contenido de nutrientes muy diferente (Huang, Tanudjaja y

Lum, 1999). Con los avances de la biotecnología alimentaria, la documentación de la composición de la biodiversidad alimentaria existente, cultivar por cultivar, debe tener carácter prioritario (Kennedy y Burlingame, 2003) y constituir un requisito previo antes de poner en marcha la obtención de cultivares modificados genéticamente, como recomendó recientemente la Comisión Internacional del Arroz (FAO, 2002; Kennedy, Burlingame y Nguyen, 2003).

Alimentos cocinados y platos mixtos. Los alimentos casi siempre se consumen de esta forma. En la mayoría de las bases de datos, la información analítica directa es limitada, por lo que se depende de cálculos a partir de las recetas. Si bien este sistema tiene sus aplicaciones, es necesario complementarlo y, a ser posible, sustituir los valores calculados por otros analíticos. Tales estudios requerirán una atención cuidadosa a la hora de formular los protocolos de muestreo.

Nutrientes que requieren investigación

La generación de valores analíticos para llenar las lagunas que hay en la mayor parte de las bases de datos de nutrientes depende en parte de la disponibilidad de métodos idóneos, que se examinarán más adelante. Las prioridades nutricionales determinan qué nutrientes se deben estudiar. En la actualidad hay datos disponibles en todo el mundo para los carbohidratos y la fibra dietética, aunque sigue habiendo lagunas para muchos alimentos en la mayoría de los países. Los métodos para el análisis de los ácidos grasos ya están bien arraigados y se dispone de muchos nuevos datos de ácidos grasos y sus compilaciones (Quigley *et al.*, 1995; Exler, Lemar y Smith, 2003; Mann *et al.*, 2003). Sigue siendo absolutamente necesaria la obtención de información sobre los valores de los folatos en los alimentos, especialmente teniendo cuenta el reconocimiento de la importancia de los folatos en el desarrollo neurológico del feto y la introducción del enriquecimiento obligatorio o voluntario de los productos alimenticios con ácido fólico. En las bases de datos se ha compilado más información sobre los carotenoides (tanto los que tienen actividad provitamina A como otros que no son precursores de la vitamina A) (Chug-Ahuja *et al.*, 1993), así como sobre los fitoestrógenos, aunque tales datos proceden en su mayor parte sólo de un pequeño número de fuentes. Pennington (2002) ha resumido otros componentes bioactivos de gran interés y que requieren investigación.

Las investigaciones sobre la masa ósea y la osteoporosis han puesto de manifiesto la necesidad imperiosa de datos sobre la vitamina D en los alimentos. El interés por esta vitamina se ha reavivado en los últimos años y ahora se reconoce que algunas compilaciones de datos están anticuadas y que sólo se obtienen nuevos datos muy lentamente (J.M. Holden, Laboratorio de Datos de Nutrientes de los Estados Unidos, comunicación personal, 2002). También se necesitan más datos de la vitamina K en los alimentos, dada la creciente sensibilización acerca de la importancia de este nutriente en la salud de los huesos (Buttriss, Bundy y Hughes, 2000; Bolton-Smith *et al.*, 2000; Shearer y Bolton-Smith, 2000).

Estudios de investigación sobre el muestreo

Para la formulación de protocolos de muestreo se requiere una base experimental. A pesar de la importancia de la variabilidad dentro de los alimentos, los estudios institucionales sobre

los factores que intervienen en la variabilidad de los componentes de los productos alimenticios y la magnitud de sus efectos se han limitado a un pequeño número de productos básicos importantes y rara vez se han realizado por motivos nutricionales. Sería provechoso incorporar dichos estudios a los que se realizan sobre los factores que influyen en la composición de nutrientes de numerosos productos alimenticios importantes.

Durante el estudio de la composición de los alimentos se examinan con frecuencia los efectos de la manipulación de las muestras, pero sería conveniente realizar estas investigaciones de manera más académica, preparando la información obtenida para su publicación. Dicha información sería útil para todos los que se ocupan de trabajos análogos.

Nomenclatura de los alimentos

Los estudios detallados de la nomenclatura de los alimentos realizados por McCann *et al.* (1988) y por Truswell *et al.* (1991) y los estudios sistemáticos de clasificación de los alimentos realizados para el sistema Eurocode (Arab, 1985; Arab, Wittler y Schettler, 1987) fueron fundamentales para controlar una fuente importante de error en el uso de datos de nutrientes, a saber, la identificación de los artículos alimenticios. Este trabajo evolucionó ulteriormente con el sistema LanguaL (Pennington *et al.*, 1995; Møller e Ireland, 2000b). Estos sistemas pueden adquirir cierto grado de «complejidad elegante» que dificulta su utilización de manera exacta y coherente. Por consiguiente, es importante elaborar algunos procedimientos institucionales para evaluar los sistemas de nomenclatura a medida que evolucionan. Algunos autores consideran que un solo sistema de nomenclatura de los alimentos aceptable internacionalmente puede ser un objetivo inalcanzable (Burlingame, 1998). No obstante, esta importante labor prosigue por medio de un comité técnico internacional convocado por la INFOODS, con la tarea de supervisar y orientar el trabajo realizado sobre la clasificación y la descripción de los alimentos a fin de conseguir la mayor armonización posible (INFOODS, 2003).

Necesidad de métodos analíticos perfeccionados

Desde la publicación de la primera edición de este libro en 1992, han proliferado los nuevos métodos analíticos, estimulados en particular por la aceptación actual en todo el mundo de las normas de composición para los alimentos y las prescripciones en materia de etiquetado nutricional en muchos países (Gobierno del Canadá, 2002; CE, 1990; United States Code of Federal Regulations, 2003; FAO/OMS, 2001). Debido a esta proliferación, es difícil que un analista aislado sea experto en todos los métodos, por lo que es más urgente que nunca que los analistas, compiladores y usuarios de bases de datos de nutrientes compartan sus conocimientos e información.

Se necesita con urgencia validar los métodos de análisis de las vitaminas, especialmente para los carotenoides (tanto los que tienen actividad de vitamina A como los que carecen de ella), los folatos y la vitamina D. En todos los casos se requieren procedimientos que permitan separar y medir las distintas formas. Esta información, junto con las estimaciones de la actividad biológica de distintos vitámeros, permitiría establecer estimaciones de la actividad vitamínica de los alimentos más apropiadas que las disponibles en la actualidad. Todos los métodos

de análisis de las vitaminas son prolongados y, en consecuencia, costosos; hay que conceder la máxima prioridad a la búsqueda de procedimientos específicos más rápidos.

Para algunos nutrientes inorgánicos, la especiación es un factor determinante importante de la biodisponibilidad y su medición puede resultar útil (por ejemplo, el hierro hemo y no hemo).

La metodología para la determinación de la fibra dietética está evolucionando con rapidez; es más, durante la preparación de las presentes directrices se han registrado progresos considerables. Sin embargo, todavía no se ha llegado a la etapa en la que puedan aplicarse sistemáticamente los métodos a una amplia variedad de matrices; éste es el objetivo lógico de la investigación.

En muchos métodos es preciso ampliar la gama de matrices alimentarias abarcadas, no necesariamente porque los métodos sean inapropiados, sino simplemente porque no se ha evaluado su aplicabilidad más amplia. Un estudio de composición de alimentos comprende con frecuencia una gran variedad de productos alimenticios, por lo que sería útil que la aplicabilidad de algunos métodos se pudiera extender a una variedad mayor de matrices. Se necesitan métodos bien verificados con una aplicabilidad amplia. A largo plazo, es de esperar que se puedan perfeccionar ulteriormente métodos instrumentales no destructivos o invasivos del alimento: los métodos como la RMN, la NIR, etc., son los que ofrecen mayores posibilidades en este sentido.

El análisis nutricional es una sección especializada del análisis de los alimentos y desde la publicación de la primera edición de esta obra han aparecido muchos nuevos libros de texto y manuales amplios y extraordinariamente útiles sobre los análisis (véase el Apéndice 7).

Garantía de calidad de los datos

En el Capítulo 8 se ha explicado la importancia que reviste un programa de garantía de calidad en el laboratorio de análisis. Dichos programas se han beneficiado de más estudios en colaboración y de la mayor disponibilidad de normas y de MRN, como se ha señalado más arriba, pero es necesario seguir trabajando en esto.

Hay que seguir ampliando la gama de los MRN examinados en el Capítulo 8, en particular para los nutrientes más lábiles y para los «nuevos» componentes de interés, como los productos fitoquímicos.

Sistemas de gestión de las bases de datos

Las tablas de composición de alimentos mecanografiadas y preparadas en hojas de cálculo, con su formato bidimensional que deja margen a una documentación escasa o nula para cada valor, se están sustituyendo. Los sistemas de gestión de bases de datos relacionales proporcionan mecanismos para la compilación de información sobre composición de alimentos perfectamente documentada, incorporando desde valores analíticos hasta el nivel más alto de desglose. Estos sistemas pueden proporcionar interfaces de usuarios flexibles para seleccionar, consultar y editar los datos y la información documental en formatos cómodos y válidos para los usuarios. La información se almacena en estructuras de datos diseñadas para reducir al

mínimo la redundancia y respaldar las ampliaciones de la información documental cuando se conviertan en directrices de gestión de datos. Asimismo, los mecanismos de cálculo y manipulación de los valores de los componentes se ampliarán de acuerdo con las necesidades de los usuarios, preferiblemente en forma de directrices aceptadas internacionalmente (Unwin y Becker, 2002). La aceptación en gran escala de normas internacionales para el intercambio de datos de composición de alimentos también facilitará el intercambio rápido y sencillo de dichos datos (Klensin, 1992).

Necesidades de investigación para el proceso de compilación

Lo que se necesita con mayor urgencia es que se publiquen más datos de composición de alimentos en la bibliografía científica y se mejore el nivel de los datos publicados. Esto se podría conseguir solicitando más documentación de las muestras de alimentos analizadas y, de manera específica, una selección más rigurosa de los métodos analíticos en el proceso de examen por árbitros. También se deben dar detalles de las medidas adoptadas en relación con la garantía de calidad. En la actualidad, las secciones de muchas publicaciones relativas a los métodos casi nunca llegan a cumplir ni siquiera el criterio básico de proporcionar suficientes detalles para que un trabajador competente pueda repetir el procedimiento descrito. Es importante mantener este nivel mínimo y, a ser posible, mejorarlo.

Es necesario seguir perfeccionando los procedimientos institucionalizados para el examen de los datos analíticos procedentes de fuentes tanto publicadas como inéditas. De dicha investigación deberían derivarse índices más objetivos de la calidad de los datos para estimar la probabilidad de que los datos sean válidos. Ahora se pueden producir errores si se manipulan los índices intuitivos de la calidad de los datos como si fueran números reales. El análisis oficial de los juicios de valor aplicados en el proceso de compilación debe llevar a evaluaciones más objetivas y coherentes de la calidad de los datos. Ya se han dado algunos pasos hacia estos objetivos, por ejemplo, con la elaboración de sistemas de evaluación de datos de nutrientes múltiples (Holden, Bhagwat y Patterson, 2002).

La aplicación de los requisitos para unas buenas prácticas científicas al proceso de compilación proporcionará la base para conseguir datos de calidad. Dichos requisitos son los siguientes: replicación independiente de los datos; mantenimiento de normas profesionales; documentación de los datos; prácticas óptimas en la gestión de los datos; cuestionamiento de los propios datos, y documentación y conservación completas de todas las fuentes de datos (Office of Science and Technology, 1998; Office of Research Integrity, 1998).

Utilización de los datos de composición de alimentos

Las bases de datos se pueden consultar de varias maneras; la más sencilla consiste en seleccionar la composición de un solo artículo alimenticio para obtener información o realizar un examen, pero en la mayoría de los casos se requieren datos de combinaciones de artículos alimenticios. La exactitud con la que una base de datos predice la composición de dichas combinaciones de alimentos es un aspecto que sigue siendo necesario investigar en la actualidad. Todas las bases de datos tienen límites en cuanto a la exactitud de las predicciones,

determinados por las variaciones de la composición de los alimentos. Es necesario seguir investigando para definir estos límites y superarlos. Además, para los estudios epidemiológicos en gran escala (Riboli, 1991) hay necesidades particulares en cuanto al uso de las bases de datos de composición de alimentos. Por ejemplo, la necesidad de analizar los datos de la ingesta de alimentos tomando como base los distintos ingredientes en lugar de los alimentos compuestos puede exigir aplicaciones especializadas.

En este momento, las evaluaciones intuitivas parecen indicar que los principales requisitos son la disponibilidad de mejores datos sobre las variaciones en la composición de nutrientes de los principales productos alimenticios, la eliminación de las lagunas de datos y la inclusión de más artículos alimenticios en la base de datos. Sin embargo, se requieren estudios oficiales para estimar la importancia de estos tres elementos antes de destinar un volumen sustancial de recursos a su solución.

En los países en los que es habitual el etiquetado nutricional de los alimentos, los datos fidedignos de la industria alimentaria pueden ser un factor importante para mejorar la exactitud de la base de datos que se utiliza.

Capacitación y educación

Tal vez lo más importante sea que los objetivos de la armonización internacional de los datos de composición de alimentos y la gestión de los datos solamente se pueden alcanzar mediante la capacitación y la educación. Los programas de educación y capacitación crearán una red de trabajadores con objetivos y normas comunes que contribuirán a la elaboración de enfoques también comunes para la organización de los programas de composición de alimentos, la nomenclatura de los alimentos y el análisis y la expresión de los nutrientes, así como para los programas de muestreo y garantía de calidad de los datos de los alimentos. Los datos serán más compatibles a medida que mejore su calidad.

Para la capacitación de químicos analíticos, bromatólogos, nutricionistas y dietistas son cada vez más frecuentes los cursos sobre análisis de los nutrientes de los alimentos, incluso en la enseñanza universitaria. Además, el acercamiento de la INFOODS al programa de trabajo básico de la FAO ha dado lugar a la organización de cursillos internacionales sobre análisis de los alimentos y, en colaboración con la Universidad de Wageningen, sobre datos de composición de alimentos y su obtención, gestión y utilización.

La próxima novedad largamente esperada será la adopción del análisis de nutrientes de los alimentos como componente esencial de la capacitación básica de los profesionales de la alimentación, como los dietistas y nutricionistas, porque a menudo son éstos los compiladores de las bases de datos, así como sus principales usuarios. La capacitación en línea sería un nuevo elemento muy conveniente para el futuro, posible gracias a la evolución de Internet, la disponibilidad generalizada de computadoras y el hecho de que los conocimientos de informática forman ahora parte integrante de la educación escolar.

Conclusión

Para acabar, puede afirmarse que sigue siendo necesario un cambio fundamental de actitud en relación con el lugar que ocupa el trabajo sobre composición de alimentos en las propias ciencias nutricionales. Los datos cuantitativos sobre la composición de los productos alimenticios constituyen prácticamente la base de toda la investigación cuantitativa sobre la nutrición humana y de la formulación de políticas alimentarias y nutricionales a nivel nacional e internacional. Las bases de datos de composición de alimentos representan el recurso científico primordial del que emanan otros estudios. Para que las ciencias nutricionales evolucionen es imprescindible que este recurso básico se mantenga y mejore como parte de la actividad de investigación sobre la nutrición considerada en conjunto.