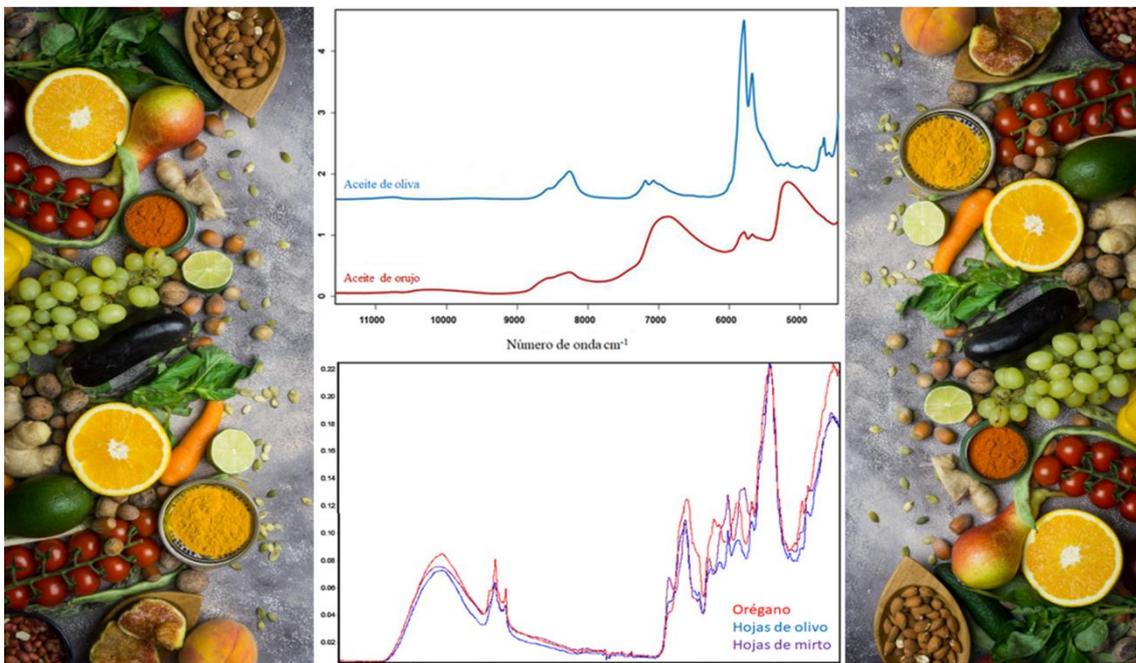




FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA



APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN EL ANÁLISIS DE ALIMENTOS



TRABAJO FIN DE GRADO

Clara Téllez Mesa



Universidad de Sevilla
Facultad de Farmacia
Grado en Farmacia
Departamento de Química Analítica

APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN EL ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Clara Téllez Mesa

TRABAJO FIN DE GRADO

Revisión Bibliográfica

Tutora: Noelia Tena Pajuelo

Sevilla, Septiembre 2019

RESUMEN

En los últimos años, la preocupación por la calidad y seguridad alimentaria ha aumentado debido a las crisis alimentarias surgidas. Para solventar estos problemas, las técnicas analíticas espectroscópicas de infrarrojo cercano NIR y medio MIR se presentan como una metodología prometedora. Son técnicas rápidas, no destructivas y poseen una ventaja muy importante al englobarse dentro de las técnicas de química verde. Con el desarrollo de nuevos métodos quimiométricos y los avances en la instrumentación su potencial está aumentando. Además, existen accesorios como las celdas de transmisión, los cristales de reflectancia total atenuada (ATR) y el microscopio FTIR que diversifican aún más sus aplicaciones.

En la industria alimentaria, las aplicaciones de la espectroscopía NIR y MIR se pueden agrupar en diferentes líneas. En cuanto a la detección de fraudes alimentarios, una de las aplicaciones más característica consiste en garantizar la autenticidad de los alimentos, por ejemplo, la detección de adulteraciones en aceites de oliva vírgenes y en hierbas y especias de uso alimentario. Por otra parte, estas técnicas analíticas también ayudan a asegurar la calidad y seguridad alimentaria, evitando incidentes como la crisis de encefalopatía espongiforme bovina (EEB). Así, estas técnicas permiten detectar la presencia de ciertos contaminantes en alimentos como altos niveles de melamina en leche para bebés o MCPD en aceite de palma. La preocupación por asegurar la calidad de los alimentos está aumentando en los últimos años, tanto por parte del productor, como del consumidor. La espectroscopía de infrarrojo se presenta como un método rápido en el estudio de los parámetros de calidad de los alimentos. Además esta técnica analítica, al ser una técnica no dirigida y proporcionar una información global del alimento analizado, es utilizada para contrastar la trazabilidad de los alimentos. Diferentes métodos se han desarrollado para determinar el origen geográfico de distintos ingredientes alimentarios.

Palabras clave: FTIR, NIR, espectroscopía infrarroja, seguridad y calidad alimentaria, trazabilidad.

ABSTRACT

In the last few years, the concern about food safety and quality has risen due to food crises. To solve these problems, near and mid infrared spectroscopic analytical techniques (NIR and MIR) are presented as a promising methodology. They are rapid techniques, non-destructive with an important advantage because of they are included within the green chemistry techniques. The potential of these techniques is increasing because of the new developments in chemometric methods and in the instrumentation. In addition, there are accessories such as; transmission cells, total attenuated reflectance crystals (ATR) and the FTIR microscope that further diversify their applications.

The applications of NIR and MIR spectroscopy can be grouped into different lines in the food industry. In the frame of the detection of food fraud, one of the most characteristic application is the study of food authenticity, for example, the detection of adulteration of virgin olive oils and herbs and spices used for food. On the other hand, these analytical techniques also help to ensure the food quality and safety avoiding incidents such as Bovine Spongiform Encephalopathy crisis (BSE). Thus, they allow the detection of the presence of certain contaminants in foods such as high levels of melamine in baby milk or MCPD in palm oil. Concern of ensuring the food quality is increasing in the last years. Consumers and producers demand new analytical techniques that allow guaranteeing this quality. The infrared spectroscopy is presented as a rapid method to determine the food quality parameters. Furthermore, this analytical technique to be a non-targeted technique and provides a general information “fingerprint” of the analyzed food, is used to contrast the traceability of food. Different methods have been developed to determine the geographical origin of diverse food ingredients.

Keywords: FTIR, NIR, infrared spectroscopy, food safety and quality, traceability.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA	1
1.2. FUNDAMENTO TEÓRICO DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA 1	
1.2.1. Espectroscopía de infrarrojo medio MIR.....	4
1.2.2. Espectroscopía de infrarrojo cercano NIR	5
1.2.3. Instrumentación	6
1.2.3.1. Fuente de radiación.....	7
1.2.3.2. Compartimento de muestra	8
1.2.3.3. Sistema de selección de longitud de onda	10
1.2.3.4. Detectores	13
1.2.4. Potencial de la espectroscopía infrarroja.....	14
2. OBJETIVOS	15
3. METODOLOGÍA	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA DETECCIÓN DE FRAUDES EN ALIMENTOS	17
4.2. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA PARA GARANTIZAR LA SEGURIDAD ALIMENTARIA	21
4.3. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN DETERMINAR LA TRAZABILIDAD DE ALIMENTOS.....	27
4.4. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ALIMENTOS.....	31
5. CONCLUSIONES	35
6. BIBLIOGRAFÍA	36

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SEGURIDAD Y CALIDAD ALIMENTARIA.

El fraude alimentario, ya sea intencionado o no, es un grave problema y genera una gran preocupación en la industria alimentaria. Las crisis alimentarias surgidas en los últimos años como la encefalitis espongiforme bovina, la leche contaminada con melamina y el incidente de la carne de caballo en Europa han contribuido a que los fabricantes y las autoridades reguladoras se centren más en la prevención del fraude. Para detectar estos fraudes es necesario implementar en el control de calidad y seguridad de los alimentos aplicaciones analíticas basadas en métodos no dirigidos (non-targeted) que permitan detectar cualquier cambio en la composición química de los alimentos. Los nuevos avances en la instrumentación analítica, unidos a la innovación en el procesado de datos, están permitiendo crear bases de datos que permiten comparar y detectar cualquier posible modificación en la composición del alimento. Los métodos basados en la espectroscopía infrarroja por su naturaleza no destructiva, su rapidez y su no especificidad, se presentan como una alternativa prometedora para garantizar la calidad y seguridad de los alimentos y para detectar rápidamente cualquier alteración en la composición de los mismos. La decisión de utilizar pruebas analíticas para mitigar el riesgo de fraude no es sencilla. Dicha decisión está influenciada por muchos factores, entre ellos, la naturaleza del fraude, la probabilidad de que ocurra y el coste económico de las pruebas. La espectroscopía infrarroja, por sus numerosas ventajas, se presenta como una gran opción para dar respuesta a estos factores.

1.2. FUNDAMENTO TEÓRICO DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA.

El espectro electromagnético es el conjunto de todas las radiaciones electromagnéticas de diferentes longitudes de onda que se extiende desde los rayos gamma hasta las ondas de radio (Figura 1).

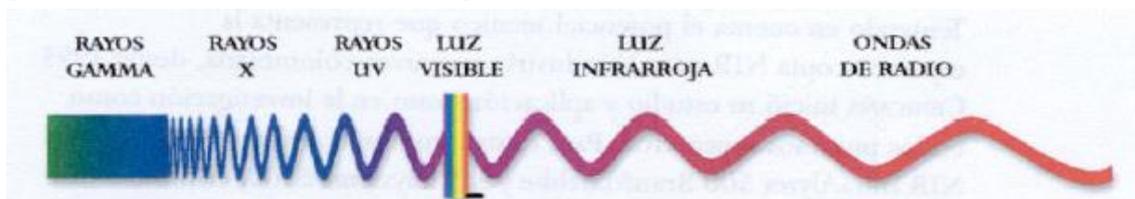


Figura 1. El espectro electromagnético.

La región infrarroja del espectro electromagnético se sitúa entre $12500\text{-}10\text{ cm}^{-1}$ enmarcada por el espectro visible y la región de microondas. Se divide en tres zonas (Figura 2): IR cercano (NIR): $12500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ (800-2500 nm); IR medio (MIR): 4000-

400 cm^{-1} ; IR lejano (FIR): 400-10 cm^{-1} , siendo las regiones espectrales del infrarrojo cercano NIR e infrarrojo medio MIR donde se enmarcan la mayoría de las aplicaciones en el análisis de alimentos. Las naturalezas de sus absorciones y la instrumentación utilizada son diferentes en ambas regiones (García-González et al., 2013).

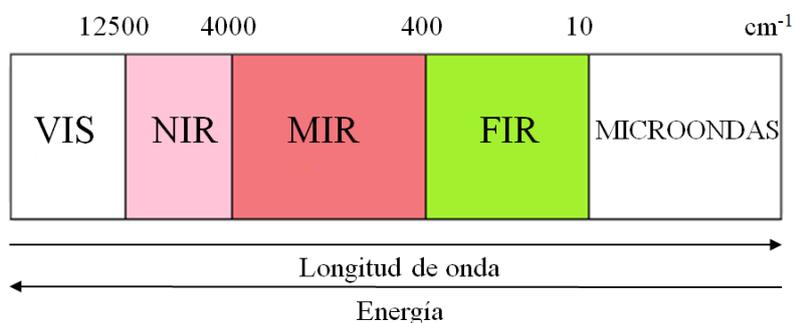


Figura 2. La región infrarroja.

Una molécula absorbe radiación IR cuando la energía de la radiación incidente coincide con la diferencia de energía entre dos estados energéticos y se produce un cambio en el momento dipolar de la molécula por movimientos vibratorios. Éstos pueden ser de dos tipos: (1) de estiramiento: producen un cambio en la distancia interatómica a lo largo del eje de enlace entre dos átomos; y (2) de flexión: producen un cambio en el ángulo de enlace (Figura 3).

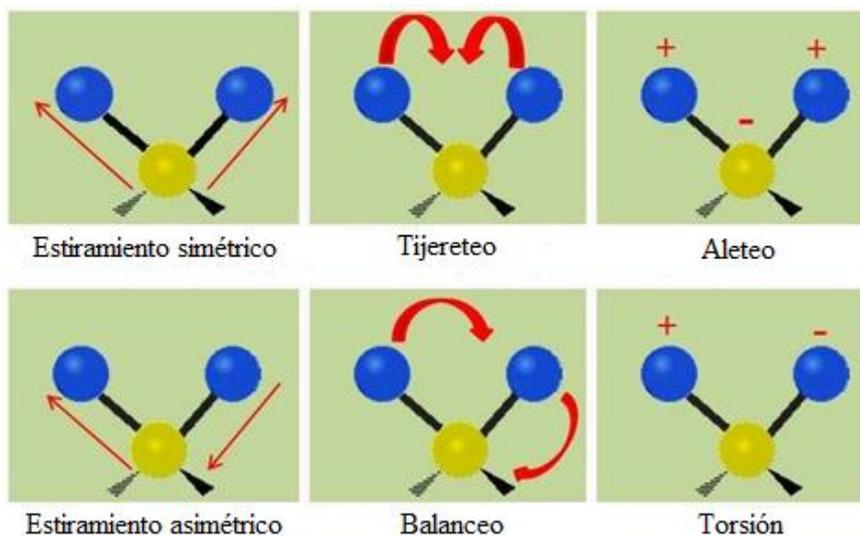


Figura 3. Tipos de vibraciones moleculares.

Nota: + indica un movimiento del plano de la página hacia el lector, - indica un movimiento del plano de la página alejándose del lector.

El número de modos independientes de vibración en una molécula poliatómica se calcula de acuerdo con los grados de libertad. Cada modo de vibración tiene asignado una frecuencia que corresponde a una banda de absorción en el infrarrojo. Para calcular el

número de bandas que producirá una molécula se debe conocer el número de coordenadas requeridas para describir el momento total de la molécula. Se necesitan tres coordenadas para determinar la posición de un átomo en el espacio, es decir, tres grados de libertad. En el plano sólo se necesitarían dos. Dos átomos en el espacio tienen 6 grados de libertad y N átomos tienen 3N grados de libertad. Una molécula biatómica tiene 6 grados de libertad de los cuales tres son traslacionales, dos rotacionales y uno vibracional. Para una molécula lineal con N átomos, de los 3N grados de libertad, 3N-5 son vibracionales, en los 5 están incluidos los tres traslacionales y los dos rotacionales. En el caso de una molécula no lineal se necesitan tres grados de libertad rotacionales. Por tanto, en una molécula de N átomos no lineales, tendremos 3N grados de libertad y 3N-6 grados de libertad vibracionales (Osborne, 2006).

Un enlace covalente entre dos átomos se comporta como un muelle. Cuando el enlace se alarga o se comprime y a continuación se deja en libertad, los átomos vibran. La frecuencia de vibración depende de las masas atómicas y de las constantes de fuerza del enlace y se obtiene mediante la ley de Hooke dada por la ecuación 1 y 2:

$$\nu = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{\kappa}{\mu}} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2} \quad (2)$$

Siendo ν la frecuencia de vibración; κ la constante de fuerza del enlace; y μ la masa reducida. Esta teoría clásica explica las diferentes frecuencias de absorción entre distintos grupos funcionales.

A pesar de su éxito, se encontraron limitaciones en algunos aspectos (Serrano Martínez, 2009) y se definió la energía permitida para un oscilador armónico según la ecuación 3:

$$E(n) = \left(n + \frac{1}{2}\right) h\nu \quad (3)$$

Donde E es la energía de un fotón; $n = 0, 1, 2, \dots$ es el número cuántico vibracional; y h es la constante de Planck.

Por último, hablar también de los osciladores anarmónicos. La separación entre niveles se hace más pequeña conforme aumenta el número cuántico y pueden ser observadas transiciones de tipo $n = \pm 2, \pm 3, \dots$ las cuales son conocidas como sobretonos

apareciendo generalmente en la región NIR junto con las bandas de combinación de vibraciones moleculares (Tabla 1).

Tabla 1. Bases físicas de la absorbancia de la región del espectro infrarrojo.

Región	Frecuencia (cm⁻¹)	Origen de la absorción
IR cercano (NIR)	12500-4000	Sobretonos y bandas de combinación de vibraciones moleculares.
IR medio (MIR)	4000-400	Vibraciones moleculares fundamentales.
IR lejano (FIR)	400-10	Rotaciones moleculares.

1.2.1. Espectroscopía de infrarrojo medio MIR.

La espectroscopía infrarroja es una técnica rápida y no destructiva usada entre otras aplicaciones en el análisis de muestras de alimentos. Junto con la espectroscopía de infrarrojo cercano NIR, se utiliza la región de infrarrojo medio MIR para desvelar información sobre los enlaces moleculares dando detalles de los tipos de moléculas que se encuentran en el alimento.

La absorción molecular en la zona del espectro MIR produce la excitación de los modos vibracionales fundamentales y cambios en la energía rotacional. En la región entre 4000-400 cm⁻¹, región del infrarrojo medio, se observan bandas que corresponden a cada estado vibracional. Además, las intensidades de las bandas en el espectro IR son proporcionales a la concentración (ley de Lambert-Beer) lo que hace que la espectroscopía de infrarrojo medio sea susceptible de ser utilizada en análisis cuantitativo (Van de Voort, 1992).

En el espectro, los sobretonos y tonos de combinación incrementan el número de bandas haciendo que muy raramente se pueda ver el número teórico de vibraciones fundamentales. Otros fenómenos tienen el efecto contrario, reducir el número teórico de estas bandas como son (Serrano Martínez, 2009):

- La ausencia de ciertas vibraciones fundamentales en el espectro a causa de la falta de variaciones en el momento dipolar de la molécula. Es necesario para absorber radiación IR que la vibración produzca un cambio en el momento dipolar de la molécula (N=N inactivo; C=O activo).

- En moléculas de gran simetría son frecuentes que pares o triadas de modos sean idénticos. Se llaman modos de vibración degenerados y dan lugar a una sola banda.
- Las frecuencias fundamentales de fuera de la región observada.
- Las bandas fundamentales de poca intensidad para ser observadas.
- Las vibraciones que tienen frecuencias muy cercanas se solapan y aparecen como una sola banda.

La aplicación de la espectroscopía MIR enfocada al análisis de los alimentos ha sido limitada debido a las fuertes absorciones de agua en todo el espectro del infrarrojo medio, por lo que resulta difícil la preparación y manejo de la muestra. Estos problemas se agravan en instrumentos dispersivos que, mayoritariamente, no están equipados con sistemas adecuados de adquisición y procesamiento de datos, para facilitar información cuantitativa (Van de Voort, 1992). Sin embargo, con el desarrollo de instrumentos que incorporan la transformada de Fourier (FTIR), se ha producido un gran avance al mejorar la calidad de los espectros y minimizar el tiempo necesario para la obtención de datos (Serrano Martínez, 2009). Además, con el desarrollo de diferentes accesorios como es el caso de las células de reflectancia total atenuada (ATR) se ha solucionado el problema de la absorción del agua. Estas células se fabrican con materiales cristalinos insolubles en agua con altos índices de refracción (Thompson, 2018).

1.2.2. Espectroscopía de infrarrojo cercano NIR.

La espectroscopía de infrarrojo cercano NIR utiliza el rango espectral de 12500 a 4000 cm^{-1} (800-2500 nm). Las muestras ya sean sólidas, líquidas o gaseosas, pueden absorber parte de la radiación incidente a longitudes de onda específicas. Al igual que ocurre en el infrarrojo medio, la espectroscopía de infrarrojo cercano es una técnica espectroscópica vibracional que se basa en la absorción producida cuando la frecuencia de vibración es igual a la frecuencia de la radiación infrarroja dirigida a la molécula. Ésta tiene que experimentar un cambio en su momento dipolar para que exista absorción de la luz incidente (Cozzolino, 2016).

La superposición de muchas vibraciones de armónicos y combinaciones de modos vibracionales de los enlaces químicos C-H, N-H y O-H dan como resultado bandas anchas con baja selectividad estructural en los espectros. Como se ha comentado anteriormente, las vibraciones moleculares son el origen de las bandas de absorción fundamentales

localizadas en la región MIR. En el infrarrojo cercano se ven bandas de absorción que corresponden con sobretonos y bandas de combinación de vibraciones fundamentales. Estas últimas surgen por la interacción de dos o más vibraciones que tienen lugar simultáneamente y su frecuencia es la suma de los múltiplos de las frecuencias fundamentales relevantes. Por lo tanto, una molécula triatómica con 3 bandas fundamentales podría tener 3 primeros armónicos, 3 segundos armónicos, etc y 6 bandas de combinación (Osborne, 2006).

La intensidad de absorción disminuye cuando aumenta el nivel de armónicos. Sin embargo, la espectroscopía NIR proporciona información estructural más compleja que la espectroscopía MIR por su mayor energía de radiación y la implicación de las vibraciones de combinación (Cozzolino, 2016).

La posición de la banda de absorción depende de propiedades tanto químicas como físicas, es decir, factores como la temperatura, humedad, carácter cristalino o tamaño de las partículas de la muestra influyen en el espectro obtenido. (Benito et al., 2008).

1.2.3. Instrumentación.

Existen dos tipos de espectrómetros: dispersivo y con transformada de Fourier. El dispersivo tiene la ventaja de ser portátil, utilizar un filtro de interferencia para la selección de longitud de onda y una óptica de doble haz. En la Figura 4 se observan las diferencias entre un espectrómetro dispersivo y un espectrómetro por transformada de Fourier.

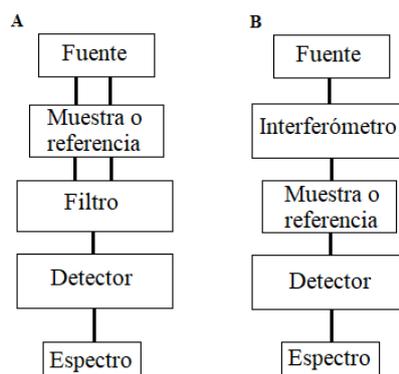


Figura 4. A: Espectrómetro IR dispersivo para medida de un solo analito. B: Espectrómetro basado en un interferómetro de Michelson (con Transformada de Fourier).

En la Figura 5 se muestra un espectrómetro infrarrojo y las partes fundamentales de éste: fuente de radiación, compartimento de muestra, sistema de selección de longitud de onda como un monocromador, detector y un sistema informático (Lin et al., 2009).

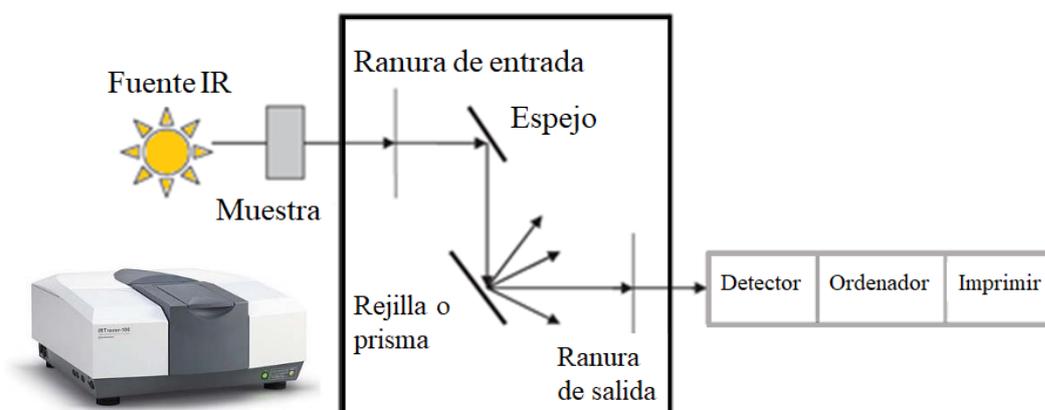


Figura 5. Espectrómetro infrarrojo y partes fundamentales de un espectrómetro dispersivo. Dispersión de un haz IR.

1.2.3.1. Fuente de radiación.

Una fuente de radiación ideal consta de los siguientes requisitos: amplio rango de longitud de onda que abarque la zona NIR o MIR, una intensidad de luz fuerte y estable durante un corto y largo periodo de tiempo y una fuente de alimentación que aporte una energía estable y constante. Las fuentes continuas y las fuentes de línea son los dos tipos principales de fuentes de radiación que se utilizan en espectroscopía infrarroja (Lin et al., 2009). La Figura 6 muestra las diferentes fuentes de radiación utilizadas en espectroscopía infrarroja junto con algunos ejemplos y sus características (Lin et al., 2009).

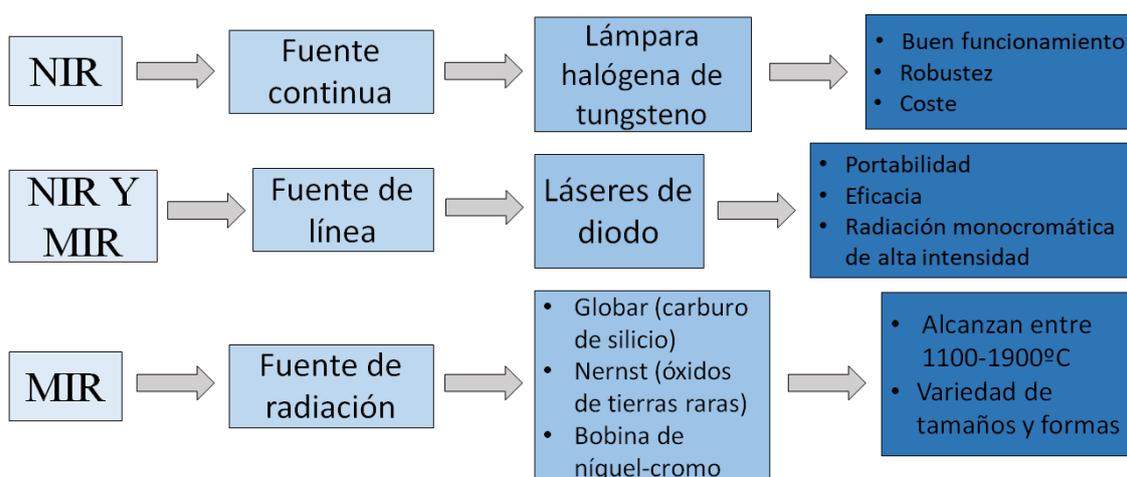


Figura 6. Fuentes de radiación infrarroja, ejemplos y sus características.

1.2.3.2. Compartimento de muestra.

Es la parte del espectrómetro más versátil, ya que puede ser adaptada a cualquier tipo de muestra ya esté en estado sólido, líquido o gaseoso. Así, se pueden realizar medidas para múltiples tipos de muestra variando el sistema de medida. Existen accesorios de presentación de muestras, como son las celdas de transmisión y los cristales de reflectancia total atenuada (ATR), entre otras.

Las ventanas de las celdas deben ser transparentes al infrarrojo y su material resistente a la muestra que, puede ser líquida o gaseosa. La Tabla 2 muestra algunos de los materiales de ventanas más comunes y sus características (García-González et al., 2013).

Tabla 2. Materiales más comunes de las ventanas y sus características.

Material	Rango(cm^{-1})	Ventajas	Desventajas
Bromuro de potasio (KBr)	43500-400	-Bajo costo. -Buena resistencia.	-Muy higroscópico. -No puede usarse con disoluciones acuosas.
Cloruro sódico (NaCl)	40000-600	-Barato (muy utilizado). -Se pule con facilidad.	-Higroscópico. -No puede usarse con disoluciones acuosas.
Yoduro de cesio (CsI)	42000-200	-Amplio intervalo espectral.	-Higroscópico. -No puede usarse con disoluciones acuosas. -Difícil de pulir.
Cloruro de plata (AgCl)	25000-434	-Insoluble en agua, hidróxido sódico sulfato amónico y cianuro potásico.	-Se oscurece con la radiación UV. -Muy blando.
Bromuro de plata (AgBr)	22000-286	-Insoluble en agua, acetona, nitrobenzeno, metanol y alcoholes saturados. -No se oscurece tanto como el AgCl con la radiación UV.	-Más caro que el AgCl. -Se oscurece con el tiempo con la radiación UV.

Además de la gran variedad de compartimentos de muestras, existen varios sistemas de medida: transmitancia, reflectancia difusa, reflectancia interna total y transflectancia. En la transmisión se tiene en cuenta la radiación transmitida/absorbida,

en la reflectancia difusa y reflectancia interna total, se tiene en cuenta la radiación reflejada y, en la transfectancia, ambas al mismo tiempo. La transmisión suele emplearse para muestras gaseosas, líquidas o semilíquidas, mientras que la reflectancia suele ser empleada para sólidos. La transfectancia, caso intermedio, se emplea para muestras líquidas o semilíquidas. Los esquemas del comportamiento de la radiación en cada caso se muestran en la Figura 7 (Benito et al., 2008).

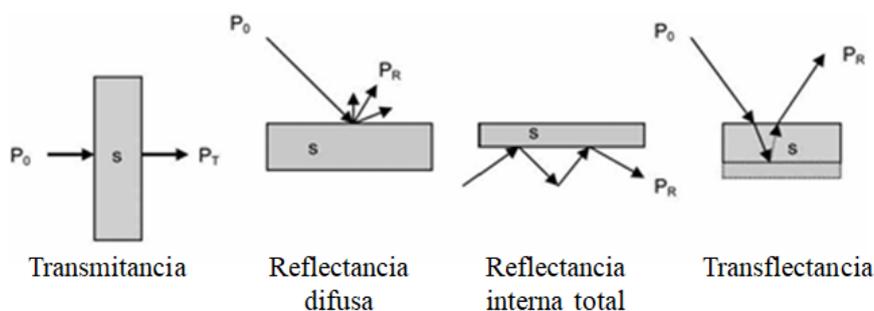


Figura 7. Tipos de medida donde S representa la muestra, P_0 es la potencia de la radiación incidente, P_T es la potencia de la radiación transmitida y P_R es la potencia de radiación reflejada.

También existe la reflectancia total atenuada o ATR, que es una de las técnicas de muestreo más potentes y versátiles que hay disponibles en espectroscopía infrarroja. Permite abordar tanto muestras líquidas (alternativa a su dilución en un disolvente adecuado, en cubeta estrecha de NaCl) como sólidas (alternativa a su medida en pastillas de KBr). La técnica es no destructiva y requiere poca o ninguna preparación de la muestra. Su principal ventaja es que no se satura ninguna de las regiones del espectro (Thompson, 2018).

En la Figura 8 se muestra el esquema típico de la reflectancia total atenuada. La radiación IR pasa a través de un cristal de ATR e incide en la muestra con un ángulo de 45° . El cristal está construido con un material de muy alto índice de refracción, como el seleniuro de zinc (ZnSe), el germanio (Ge) o el diamante. Los cristales de diamante son de un único rebote mientras que los otros cristales, pueden ser de uno o varios rebotes. Múltiples reflexiones totales internas producen una onda evanescente que penetra en la muestra ($\sim 1 \mu\text{m}$), siempre que se mantenga el contacto íntimo con el cristal. En las regiones del infrarrojo en el que la muestra se absorbe, la onda evanescente se atenúa. La radiación atenuada se refleja en pasos sucesivos. El rayo IR que sale por el extremo

opuesto del cristal una vez medido, genera un espectro de absorción, que es muy similar al obtenido por transmisión. (Thompson, 2018).

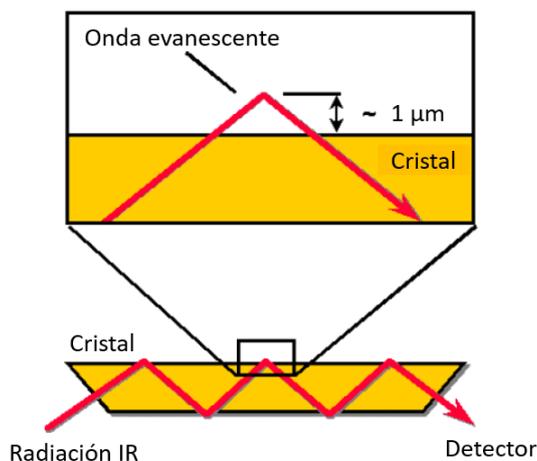


Figura 8. Esquema de la reflectancia total atenuada.

La introducción del microscopio FTIR como accesorio comercial fue un avance muy significativo en las técnicas de micromuestreo FTIR. En un microscopio FTIR típico, el rayo infrarrojo viaja a través de la muestra que se encuentra en la plataforma del microscopio. Luego, el haz se recoge y se enfoca en un detector MCT que se enfría con nitrógeno líquido. La muestra se ve a través del objetivo de baja potencia del microscopio y se enfoca antes de obtener el espectro de la zona deseada.

1.2.3.3. Sistema de selección de longitud de onda.

En el diseño instrumental infrarrojo, el mecanismo de separación de la luz es muy importante y es el que determina el tipo de instrumentación que se va a emplear, dispersiva o interferométrica. Los sistemas de selección de longitudes de onda se clasifican como instrumentos basados en: filtros, monocromadores, prismas, instrumentos de transformada de Fourier y otros (Lin et al., 2009). A continuación, se indica brevemente en que consiste cada uno de los tipos más utilizados:

Existen dos tipos principales de filtros usados en NIR para seleccionar las longitudes de onda de la luz: filtros de interferencia óptica y filtros ajustables electrónicamente. El filtro ajustable de cristal líquido (LCTF) y el filtro ajustable acústico-óptico (AOTF) son dos de los filtros ajustables electrónicamente que predominan (Lin et al., 2009).

En cuanto a los monocromadores (Figura 5) son dispositivos ópticos que sirven para medir la composición de la luz según su distribución en longitudes de onda. Un

monocromador está compuesto por: prismas y rejillas que son elementos de dispersión o propagación de la radiación de luz IR, una ranura de entrada y una ranura de salida, y lentes o espejos que se utilizan para enfocar la luz IR.

Los prismas tienen un gran inconveniente ya que su rango de longitud de onda útil es limitado. Por lo tanto, en los espectrómetros NIR y MIR modernos, los prismas han sido reemplazados por interferómetros de Michelson que funcionan aplicando la transformada de Fourier. En la Tabla 3 se muestran las diferencias entre los instrumentos dispersivos y los interferométricos.

Tabla 3. Diferencias entre los instrumentos dispersivos e interferométricos.

Dispersivos	Interferométricos
Gran número de partes móviles con sus tolerancias desgastes y problemas mecánicos.	Sólo se mueve un espejo durante las medidas.
Sólo se ve un pequeño elemento de frecuencia cada vez, necesitando entre 10-15 minutos para el espectro.	Se ven simultáneamente todas las frecuencias, disponiendo del espectro en menos de un segundo.
Velocidad lenta, no utilizable en ensayos de cinéticas.	Velocidad rápida, permitiendo monitorizar las cinéticas.
Rendijas para aumentar la resolución.	No hay rendijas para definir resolución.
Sin referencia interna para la precisión de la medida de la frecuencia.	La utilización de un láser He-Ne proporciona un sistema de calibrado interno con exactitud de $0,01 \text{ cm}^{-1}$.
Luz difusa dentro del equipo origina lecturas erróneas de la absorbancia.	No afecta la luz difusa debido a la modulación de cada frecuencia.
La muestra está cerca de la fuente IR, problemas de calentamiento.	La muestra está alejada, no existen estos problemas.
Cualquier emisión de la muestra es registrada en el detector lo que complica el espectro.	Las emisiones (si las hay) no se modulan y no se observan en el detector.

Un espectrómetro interferométrico de infrarrojo de transformada de Fourier (Figura 9) consta de un espejo móvil, un espejo fijo y un divisor de haz. La radiación de la fuente infrarroja es colimada por un espejo y el rayo resultante se divide en el divisor del haz. La mitad del rayo pasa al espejo fijo y la otra mitad se refleja sobre el espejo móvil. Después de reflejarse, los dos rayos se recombinan en el divisor del haz. Empiezan a aparecer interferencias constructivas o destructivas, dependiendo de las posiciones

relativas del espejo móvil y del fijo. El uso de un rayo láser de helio-neón ayuda a determinar el desplazamiento exacto del espejo móvil en todo momento. El haz resultante atraviesa la muestra, donde se absorben las bandas correspondientes y continúa hacia el detector. La señal resultante en el detector se conoce como interferograma y contiene toda la información requerida para reconstruir el espectro por medio de un procedimiento matemático conocido como transformación de Fourier (Willard et al, 1991).

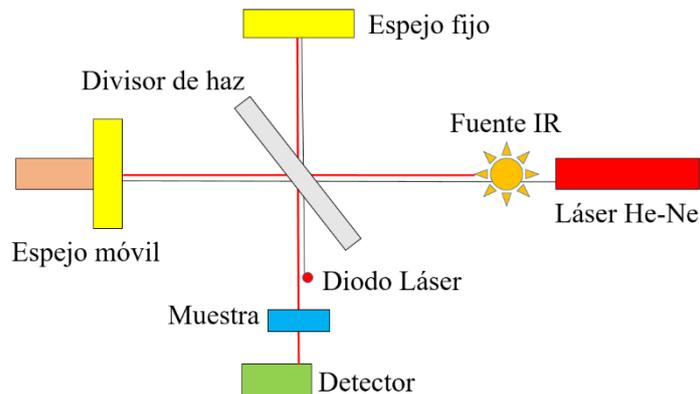


Figura 9. Esquema de un interferómetro de transformada de Fourier.

La adquisición del espectro de absorción se basa en obtener dos interferogramas, con y sin la muestra. Ambos interferogramas son procesados con la transformada de Fourier para obtener dos espectros. Se les realiza una substracción para eliminar absorciones debidas a CO₂ y humedad. La Figura 10 (García-González et al, 2013) muestra el proceso básico para obtener los espectros de transmisión y absorción a partir del interferograma registrado por un interferómetro de Michelson.

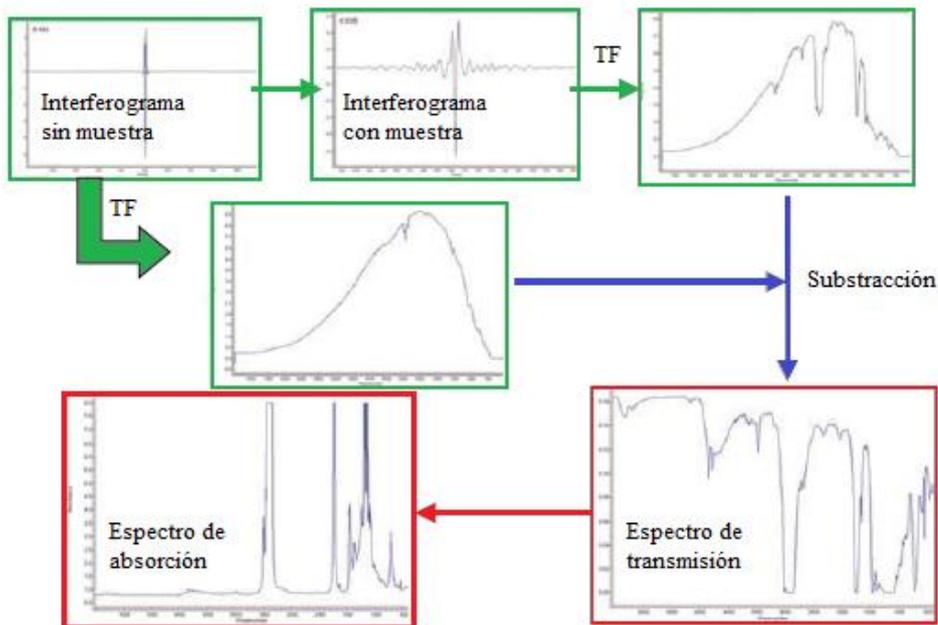


Figura 10. Esquema general de la adquisición de un espectro infrarrojo de transmisión y absorción. Nota: TF, transformada de Fourier.

1.2.3.4. Detectores.

La selección del detector a utilizar depende del rango de longitud de onda que se quiera medir. Generalmente se colocan dentro del instrumento IR y su rendimiento depende de factores como: velocidad de respuesta, respuesta espectral, límite de detección y temperatura de operación.

Los métodos de detección preferidos en el extremo de longitudes de onda cortas (NIR) son los mismos que los que se usan para la radiación del visible y del ultravioleta. Los detectores utilizados a longitudes de onda mayores (MIR) pueden clasificarse en dos grupos (Willard et al, 1991):

- Detectores térmicos: la radiación del infrarrojo produce un efecto de calentamiento que altera alguna propiedad física del detector. Sus desventajas son, un lento tiempo de respuesta y una baja sensibilidad relativa a otros tipos de detectores.
- Detectores fotónicos: usan efectos cuánticos de la radiación del infrarrojo para cambiar las propiedades eléctricas de un semiconductor. Dependiendo de la configuración del semiconductor, se pueden tener dispositivos fotoconductores o fotovoltaicos.

La Tabla 4 muestra diferentes tipos de detectores con distintos niveles de respuesta, detección y características.

Tabla 4. Tipos de detectores y sus características.

Detectores	Nivel de respuesta	Nivel de detección	Notas informativas
DTGS	Lenta	Bajo	Respuesta plana pero relativamente insensible y se puede estropear por UV, trabaja mejor a ν bajas, velocidad del espejo lenta.
PbSe	Intermedia	Intermedio	Extremadamente no lineal
PbS	Lenta	Intermedio	Respuesta inversamente proporcional a frecuencia de modulación.
InSb	Rápida	Muy alto	Se debe enfriar con N ₂ líquido.
MCT	Rápida	Muy alto	Se debe enfriar con N ₂ líquido, trabaja mejor con altas ν , y velocidad del espejo rápida.

1.2.4. Potencial de la espectroscopía infrarroja.

La espectroscopía infrarroja presenta un enorme potencial para la caracterización de una gran variedad de productos utilizados en la industria en diferentes áreas: alimentación, agricultura, biotecnología, cosmética, control ambiental, ciencia forense, medicina y producción farmacéutica, entre otras. Su versatilidad es una de sus grandes ventajas, permitiendo estudiar casi cualquier muestra, independientemente del estado en que se encuentre: gases, líquidos, disoluciones, polvos, pastas, fibras, etc. Es una herramienta óptima para analizar la materia prima, controlar los procesos de fabricación y validar los productos manufacturados. Desde un punto de vista teórico, esta técnica no tiene límites y con el desarrollo de nuevos métodos quimiométricos (métodos matemáticos y estadísticos sobre datos químicos) e informáticos, su potencial está aumentando. En la industria alimentaria, las aplicaciones de la espectroscopía MIR y NIR se pueden agrupar en diferentes líneas; la detección de fraudes alimentarios, caracterización y calidad de alimentos, estudios de trazabilidad, seguridad alimentaria, análisis de alimentos, entre otros.

En la Tabla 5 se pueden observar ventajas y algún inconveniente de la espectroscopía NIR y MIR (Büning-Pfaue, 2003; Cen and He, 2007; Cozzolino, 2015).

Tabla 5. Ventajas e inconvenientes de la espectroscopía de infrarrojo cercano y medio comparado con los métodos tradicionales.

Características generales	NIR/MIR	Métodos tradicionales
Preprocesamiento de la muestra (extracción, dilución, molienda)	No requerido o mínimo	Requerido
Coste	Relativamente bajo	Medio a alto
Velocidad de análisis	Alta	Baja a media
Necesidad de normas	No requerido	Requerido
Análisis e interpretación de datos	Se necesita quimiometría	Simple
Análisis cuantitativo	Si (calibración con muestras conocidas)	Si
Análisis cualitativo	Si	Si
Técnica multianalítica	Si	No

Además, pero no por ello menos importante, la espectroscopía de infrarrojo presenta como ventaja que se puede englobar perfectamente dentro de las técnicas de química verde, al ser una técnica no destructiva y libre de la utilización de compuestos químicos perjudiciales para las personas y el medio ambiente. Tampoco produce desechos. Sin embargo, la falta de sensibilidad y selectividad son algunos de sus inconvenientes más característicos.

2. OBJETIVOS

Garantizar la seguridad y calidad alimentaria supone una gran preocupación para la industria alimentaria. Por este motivo, el objetivo principal de este trabajo es el estudio de las diversas aplicaciones de la espectroscopía de infrarrojo en el análisis de alimentos. Para la consecución de este objetivo se propusieron los siguientes sub-objetivos:

- Conocer los problemas de seguridad y calidad de los alimentos en la actualidad.
- Estudiar el fundamento teórico de la espectroscopía infrarroja profundizando en las regiones espectrales con mayor aplicación en el análisis de alimentos. Evolución de la instrumentación y utilización de diferentes accesorios.
- Buscar y clasificar diferentes aplicaciones de la espectroscopía infrarroja que han dado respuesta a problemas de seguridad y calidad en alimentos.
- Clasificación de la información obtenida en diferentes líneas: Detección de fraudes, preservación de la seguridad alimentaria, garantizar la trazabilidad de los alimentos y evaluar la calidad de los mismos.
- Discutir el potencial de la espectroscopía infrarroja en el análisis de alimentos respecto a los métodos tradicionales utilizados.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo de revisión bibliográfica sobre las aplicaciones de la espectroscopía infrarroja en el análisis de alimentos, se ha recurrido a diferentes fuentes de información en las que se incluyen bases de datos, libros, capítulos de libros, artículos científicos y páginas webs.

Para la primera parte, en la que se pone de manifiesto la importancia de la seguridad y calidad alimentaria, se ha consultado la página web “Food Integrity”. En la explicación del fundamento teórico de la espectroscopía infrarroja, la búsqueda se ha centrado en varios artículos científicos y capítulos de libros. Se emplearon palabras clave como: “near infrared spectroscopy”, “mid infrared spectroscopy”, “food analysis” y “FTIR spectroscopy”. En el resto de la introducción, basada en la instrumentación de esta técnica, la información se ha obtenido mayoritariamente del capítulo “Espectrometría de infrarrojo” del libro “Métodos instrumentales de análisis” de Willard y del libro “Infrared spectroscopy” de Thompson.

Para la segunda parte, en la que se habla en profundidad de las aplicaciones de esta técnica de espectroscopía infrarrojo se escogieron casos en los que la espectroscopía de infrarrojo diese respuesta a problemas de seguridad y calidad alimentaria que hubiesen tenido un alto impacto en la sociedad. Se recurre a artículos científicos buscados en bases de datos como Scopus, Google académico y Sciencedirect usando como filtros las palabras claves “NIR”, “fishmeal“, “melamine adulteration“, “DDGS“, “oregano adulteration“, “FTIR”, “MCPD”, entre otras.

Tras la lectura del título de los artículos encontrados en cada una de las búsquedas se hizo una primera selección escogiéndose aquellos que utilizaban la técnica analítica de estudio. Para la siguiente selección se procedió a la lectura del resumen, hasta recopilar artículos suficientes con información atractiva para el desarrollo del trabajo. Se leyeron con detenimiento dichos artículos, seleccionando lo importante para los objetivos del trabajo.

En cuanto a las figuras y tablas, hay que destacar que la gran mayoría son adaptadas de artículos o de elaboración propia, diseñadas basándose en información contenida en libros y bases de datos anteriormente mencionadas.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la industria alimentaria, la espectroscopía MIR y la espectroscopía NIR son ampliamente utilizadas en el análisis cualitativo y cuantitativo de alimentos. Como ya se ha comentado anteriormente, las aplicaciones de estas técnicas analíticas son diversas. A

continuación, se va a detallar aplicaciones concretas en distintos alimentos englobadas cada una de ellas en diferentes líneas dentro de la seguridad y calidad de alimentos.

4.1. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA DETECCIÓN DE FRAUDES EN ALIMENTOS.

Una de las aplicaciones más característica de la espectroscopía infrarroja, es el estudio de la autenticidad de diversos alimentos para determinar si la muestra es genuina en cuanto a su descripción y origen geográfico. Dicho estudio se basa en el análisis discriminante, comparando el espectro de la muestra con una colección de espectros de muestras genuinas, obtenidos previamente, que se utilizarán de referencia. Esta colección de espectros debe contener espectros de muestras auténticas y adulteradas conocidas para que proporcione resultados concluyentes (Cozzolino, 2016).

En los últimos 50 años el consumo de aceite de oliva se ha visto triplicado debido a sus apreciadas características organolépticas y a sus propiedades nutricionales. Como consecuencia, en la actualidad, la producción de aceite de oliva se ha incrementado, pero en ocasiones, esta producción está sujeta a intentos de comercialización de mezclas fraudulentas con aceites de baja calidad o adulterados. Para detectar la presencia de diferentes aceites vegetales en aceite de oliva virgen extra (AOVE) es necesario llevar a cabo diferentes análisis cromatográficos para determinar su composición en ácidos grasos, esteroides y alcoholes, tocoferoles..., determinaciones costosas, que consumen tiempo y disolventes y que necesitan personal especializado para la interpretación de los resultados (Baeten et al., 2005; Freitas et al., 2019). Otras técnicas analíticas, sin tales problemas, sirven como herramienta de detección en la lucha contra el fraude. Por ejemplo, para la identificación de AOVE adulterado con mezclas de diferentes aceites vegetales (soja, girasol, maíz y aceite de canola) es útil la aplicación de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR). Los espectros se registraron en el rango de 3200 a 650 cm^{-1} para todas las muestras (Figura 11) y sus diferencias espectrales se revelaron principalmente en tres regiones comprendidas entre diferentes intervalos de número de ondas que proporcionan bandas características. Las bandas a aproximadamente 3005 y 1654 cm^{-1} indican la presencia de ácidos grasos insaturados. Las diferentes proporciones de ácidos grasos de las muestras afectan a la posición de esta banda, generando cambios en el espectro. Esta diferencia se debe a la composición de ácidos grasos de los aceites, ya que los aceites de semilla tienen una mayor proporción de ácidos grasos linoleico y linolénico, a diferencia del aceite de

oliva, que presenta una mayor proporción de ácido graso oleico. Esta técnica ATR-FTIR presenta como principal ventaja que no satura ninguna de las regiones del espectro y además, es una alternativa muy conveniente en términos de tiempo, alta reproducibilidad de los resultados y posibilidad de automatización (Freitas et al., 2019).

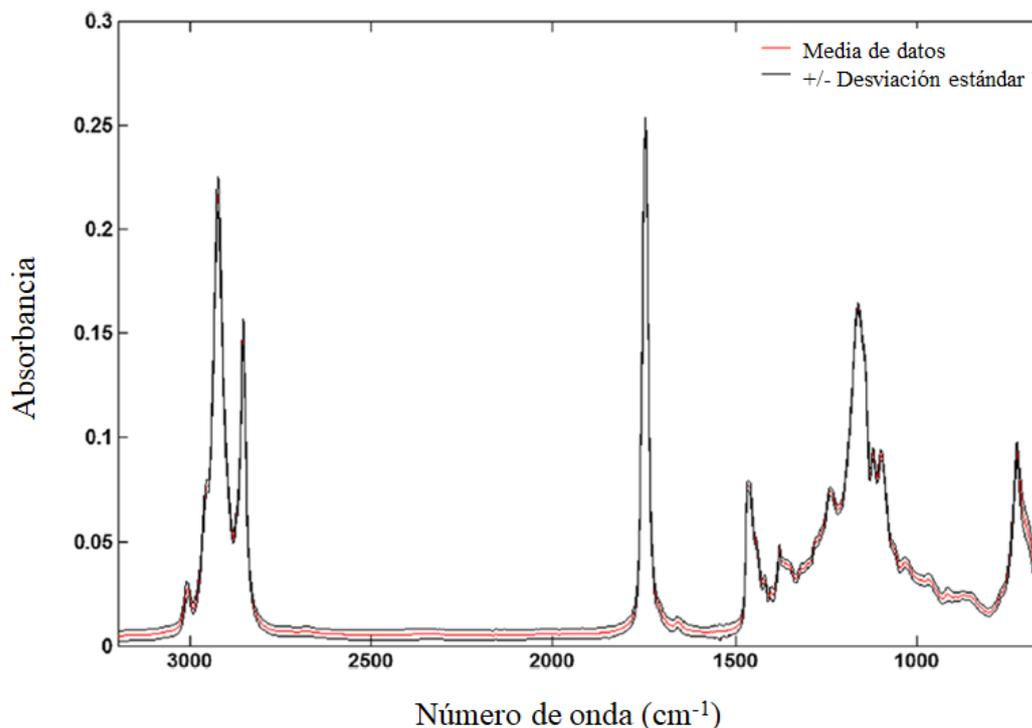


Figura 11. Promedio y desviación estándar de los espectros FTIR del aceite de oliva y los aceites de soja, girasol, maíz y canola entre 3200 y 650 cm^{-1}

Con esta técnica de espectroscopía de infrarrojo también se puede detectar la presencia de aceite de avellana en el aceite de oliva. En el caso de esta adulteración, la adición de aceite refinado de avellana al aceite de oliva puede detectarse mediante un método estándar basado en la cuantificación de estigmastadienos. Sin embargo, no hay un método estándar que detecte la presencia de aceite de avellana refinado en aceite de oliva refinado en porcentajes inferiores al 20%. Para dar solución a este problema, se han propuesto técnicas cromatográficas que cuantifican los compuestos químicos que se eliminan durante el proceso de refinación. Como se ha mencionado anteriormente, estas técnicas requieren mucho tiempo y personal especializado por lo que la espectroscopía infrarroja se presenta como una buena alternativa a estos métodos. El análisis espectroscópico consiste en obtener espectros de todo el aceite y de su materia insaponificable. Las mezclas estudiadas están compuestas de aceites de oliva vírgenes de varios orígenes geográficos (Grecia, Italia, Marruecos, España, Túnez y Turquía) y de dos tipos de aceites de avellana (refinados y crudos) de Francia, Italia, España y Turquía.

La Figura 12 muestra los espectros FTIR (900-4000 cm^{-1}) del aceite y de la materia insaponificable de una muestra de aceite de oliva (Baeten et al., 2005).

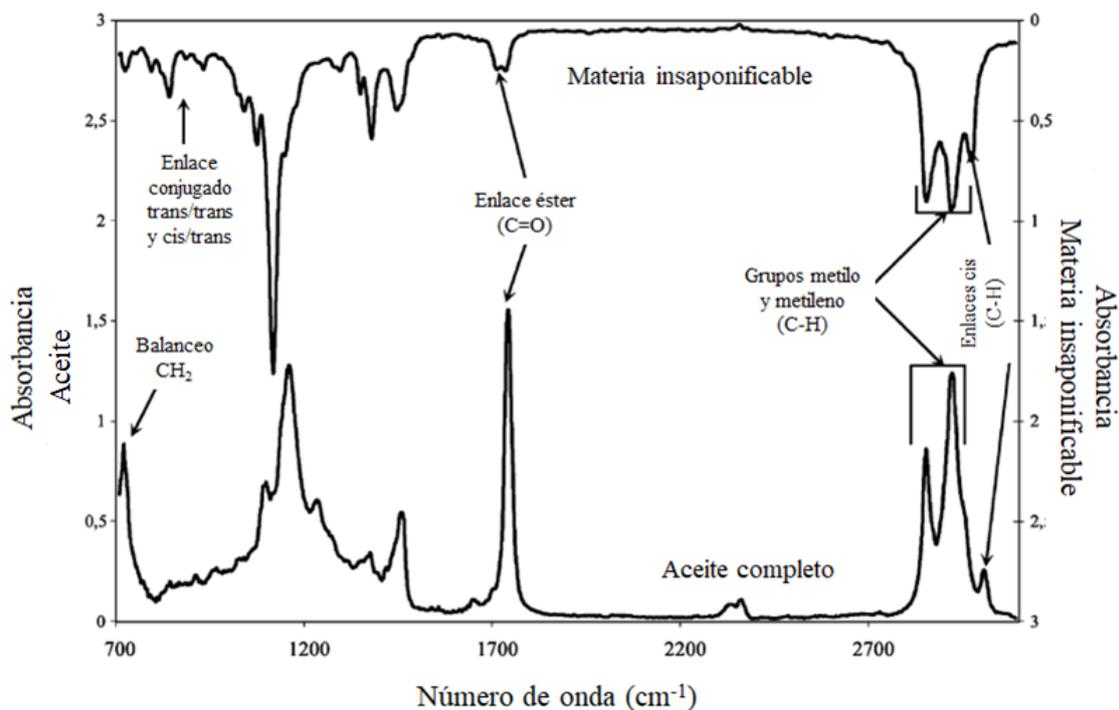


Figura 12. Espectro FTIR del aceite y de su materia insaponificable.

La obtención de modelos estadísticos con los datos del espectro FTIR permite obtener una discriminación completa entre los aceites de oliva y avellana. Los límites de detección no fueron satisfactorios para las mezclas con aceites no procedentes de Turquía y mezclas de aceites de avellana turcos y aceites de oliva europeos. Sin embargo, el límite de detección para mezclas de aceites de avellana y oliva turcos fue sólo del 8% (Baeten et al., 2005).

Por otra parte, las hierbas y especias de uso alimentario son muy proclives a sufrir adulteración fraudulenta al tratarse de ingredientes caros y que forman parte de cadenas de suministros complejas. Desempeñan un papel significativo en dietas y son importantes en multitud de alimentos, bebidas, medicamentos y cosméticos por lo que ha aumentado su demanda enormemente. Las técnicas analíticas comunmente utilizadas como la cromatografía de capa fina (CCF), la cromatografía de gases (GC) y la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) son ineficaces en la detección de estas adulteraciones, a no ser que previamente se sepa de que tipo de adulteración se trata (análisis dirigido). Son necesarios métodos más rápidos y no dirigidos, eficientes en la detección de diferencias inesperadas en la composición química de los alimentos. Los espectros infrarrojos combinados con el análisis quimiométrico de los datos, se presentan como una

alternativa prometedora para la autenticación de hierbas y especias de uso alimentario (Sasikumar et al., 2016).

Concretamente, el orégano es una hierba culinaria comúnmente asociada con pizzas y otros platos mediterráneos existiendo diferentes géneros botánicos. La combinación de la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y la cromatografía líquida con espectrometría de masas de alta resolución (LC-HRMS), unido a un tratamiento de datos multivariante apropiado, presenta la capacidad de procesar un gran número de muestras (Black et al., 2016). La Figura 13 representa los espectros FTIR de orégano puro, hojas de olivo y hojas de mirto. Aunque se observa una superposición entre las bandas en el espectro del orégano y las bandas de los espectros de los adulterantes, hay diferencias observables en la región entre 900 y 1800 cm^{-1} . Las bandas FTIR se atribuyen a las vibraciones de estiramiento y flexión que caracterizan a los grupos funcionales. Las regiones de interés se muestran en la Tabla 6 (Black et al., 2016).

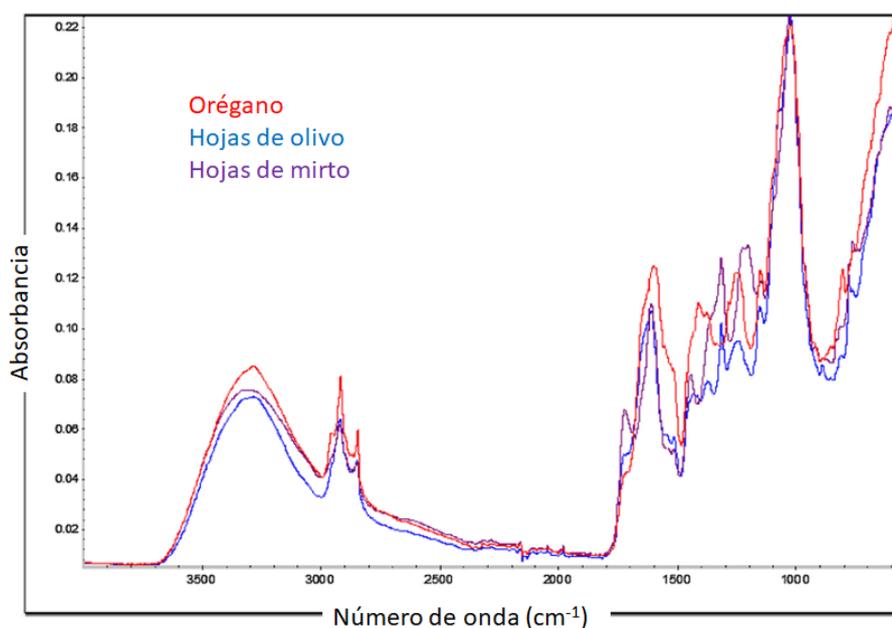


Figura 13. Espectros FTIR del orégano y los adulterantes hojas de olivo y hojas de mirto.

Tabla 6. Regiones de interés de los espectros FTIR del orégano, hojas de olivo y hojas de mirto.

Región espectral (cm^{-1})	Asignación
1100-1400	Vibración C-O grupo hidroxilo del alcohol.
1400-1500	Vibraciones de estiramiento C-O y C-C grupos fenilo.
1500-1600	Vibraciones aromáticas y flexión N-H.
1600-1740	Flexión N-H, estiramiento C=O (aldehídos, cetonas, ésteres, ácidos grasos libres y glicéridos).

Los resultados obtenidos después del análisis de datos, mostraron que, aproximadamente el 24% de las muestras de orégano analizadas estaban adulteradas y el porcentaje de adulteración varía entre un 30% a más del 70%. Es de destacar que en el estudio se analizaron dos muestras que prácticamente no tenían orégano presente. Los adulterantes más comunes encontrados fueron las hojas de olivo y las hojas de mirto. Estos resultados satisfactorios obtenidos para la detección de la adulteración del orégano refuerzan la utilidad de implantar estas técnicas para controlar la adulteración de otras hierbas y especias de uso alimentario (Black et al., 2016).

4.2. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA PARA GARANTIZAR LA SEGURIDAD ALIMENTARIA.

La espectroscopía infrarroja en todo su rango espectral, se presenta como una potente alternativa para dar respuesta a diferentes problemas relacionados con la seguridad alimentaria. A continuación se profundiza en algunas de sus aplicaciones.

Para asegurar un control efectivo de la legislación vigente enfocada a proteger la seguridad alimentaria, se han desarrollado diferentes aplicaciones de la espectroscopía NIR, la microscopía de infrarrojo cercano (NIRM) y la espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) con diferentes fines.

En el caso de la espectroscopía de infrarrojo cercano NIR, técnica comúnmente utilizada para determinar los parámetros de calidad de los ingredientes y piensos, se desarrolló una aplicación analítica para dar soporte a una regulación europea. En este caso la instrumentación propuesta fue la microscopía de infrarrojo cercano NIRM, que se utilizó para identificar y diferenciar entre distintas clases de subproductos animales (harinas ricas en proteínas) utilizados en la elaboración de piensos. Esto permitió desarrollar un método analítico que diferencia entre la harina de carne y hueso de animal terrestre (MBM) de la harina de pescado. Según algunos autores, la metodología de microscopía NIR basa su capacidad de discriminación en las diferencias en el contenido y la composición de la grasa de estos ingredientes (Cozzolino, 2016; Tena et al., 2014; Yang et al., 2011). Sin embargo, un estudio de robustez del método, en el que las muestras antes de ser analizadas fueron desgrasadas, probó que la capacidad de discriminación seguía intacta a pesar de la ausencia de grasa (Tena et al., 2014).

La Figura 14 representa los espectros NIR de diferentes MBM y de la harina de pescado. Las bandas de absorción a 1490 nm (6771 cm^{-1}) y 1944 nm (5144 cm^{-1}) se

asocian con el contenido de agua, mientras que las bandas a 2060 nm (4854 cm^{-1}) y 2168-2280 nm ($4613\text{-}4587\text{ cm}^{-1}$) muestran una alta correlación con la proteína cruda. El contenido en grasa se relacionó con las regiones de absorción de aproximadamente 1700-1730 nm ($5882\text{-}5780\text{ cm}^{-1}$) y de 2300-2310 nm ($4348\text{-}4329\text{ cm}^{-1}$) (Yang et al., 2011).

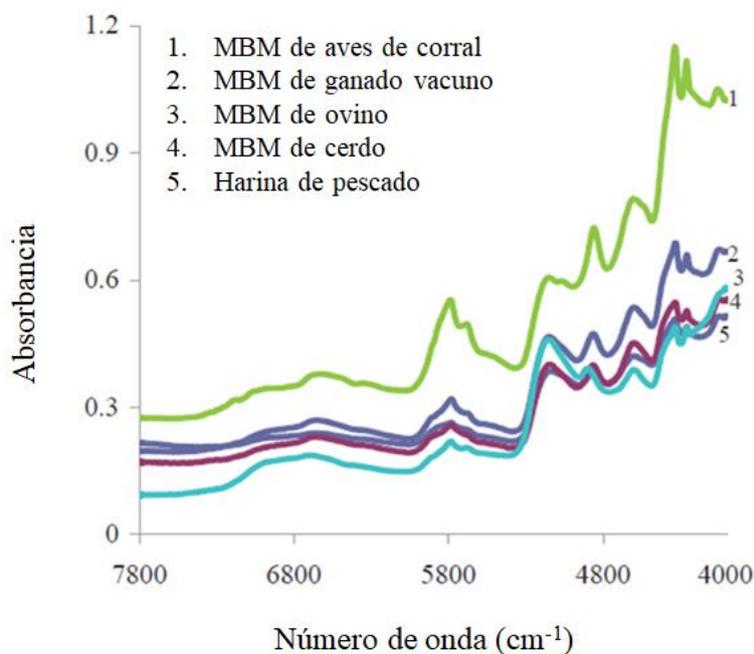


Figura 14. Espectros NIR de las partículas PAP.

Esta metodología aplicada a este tipo de análisis se desarrolló para dar respuesta a una legislación europea que entró en vigor con el objetivo de evitar la propagación de la encefalopatía espongiforme bovina (EEB) o la llamada “enfermedad de las vacas locas”. La encefalopatía espongiforme bovina es una afección degenerativa incurable del sistema nervioso central de los bovinos, caracterizada por la aparición de síntomas nerviosos en los animales adultos. Apareció por primera vez en el Reino Unido en 1985 siendo el causante una proteína (prion), que se encontraba en las harinas elaboradas con carne y hueso animal. Esta enfermedad detectada en los bovinos, despertó una alarma debido a que se descubrió que podía afectar a los seres humanos a través del consumo de ciertas partes del vacuno infectado denominadas MER (partes nerviosas, sesos, intestinos, etc) surgiendo así un nuevo mal: la variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. Los dos primeros casos de encefalopatía espongiforme bovina fueron diagnosticados en España en el año 2000, lo que ocasionó un gran despliegue para controlar la epidemia en el ganado y así garantizar una ingesta de carne de vacuno a la población libre de problemas de salud (Babín, 2006).

A raíz de la crisis de la EEB, la Unión Europea prohíbe el uso de la gran mayoría de las proteínas animales procesadas (PAP) y harina de carne y hueso, excepto algunas excepciones, como fuente de proteína en la elaboración de piensos (Tena et al., 2014). El desarrollo de esta aplicación basada en microscopía NIR brinda una alternativa a la metodología tradicional basada en la microscopía clásica, que depende fundamentalmente de la experiencia del analista. El método basado en microscopía de infrarrojo cercano permite la detección de la presencia de estas proteínas, ya estén desgrasadas o no, sin necesidad de que el analista tenga experiencia previa. La metodología consiste en el uso de un espectrómetro de infrarrojo cercano de transformada de Fourier con un microscopio. El microscopio captura una imagen de la muestra, una sección circular de un centímetro de diámetro, dicha imagen se mapea y se registran espectros de diferentes partículas. En no más de 20 minutos se obtienen espectros de más de 2500 partículas por muestra. Los espectros presentan algunas diferencias entre harina de carne y hueso de animal terrestre y harina de pescado. La región espectral entre 1712 y 1731 nm está relacionada con las vibraciones de C-H unidas a los dobles enlaces. Alrededor de 1726 nm se encuentran los grupos metileno (-CH₂-) que son más abundantes en grasas saturadas. La harina de carne y hueso tiene mayor contenido en grasas saturadas y a esto se debe la mayor intensidad de su banda en comparación con la harina de pescado que contiene más ácidos grasos poliinsaturados (Tena et al., 2014).

Otra aplicación de la espectroscopía infrarroja desarrollada para garantizar la seguridad de los alimentos utiliza tanto espectroscopía de infrarrojo medio, cercano e incluso con otras técnicas vibracionales. Todas ellas han demostrado ser útiles en la detección de este tipo de contaminación.

En esta ocasión la espectroscopía de infrarrojo cercano NIR y la espectroscopía de infrarrojo medio MIR fueron evaluadas para detectar la presencia de melamina en diferentes alimentos. La melamina, a pesar de no ser una proteína, es rica en nitrógeno. Los métodos tradicionales para estimar los contenidos de proteínas en productos lácteos, Kjeldahl y Dumas, son capaces de cuantificar el nitrógeno, independientemente de si se origina a partir de proteínas o no. Esta naturaleza inespecífica de las pruebas no logra detectar la melamina agregada a la leche. Por este motivo, se introducen métodos que aportan especificidad y sensibilidad como la cromatografía líquida, espectrometría de masas estándar (LC-MS/MS) y cromatografía de gases (GC-MS/MS). Estos métodos específicos son capaces de cuantificar una propiedad (por ejemplo, la concentración) para

un adulterante específico y compararla con un límite preestablecido, pero al tratarse de un método dirigido no detectarían adulterantes previamente desconocidos. Métodos no dirigidos, como la espectroscopía de infrarrojo cercano NIR y la espectroscopía de infrarrojo medio MIR, sí detectarían estos adulterantes. En general, los métodos de espectroscopía infrarroja se han utilizado con éxito en la detección de la adulteración para una amplia variedad de productos alimenticios complejos (Jawaid et al., 2013; Limm et al., 2018; Lu et al., 2009).

En particular, en 2008 tuvo lugar en China uno de los casos más graves y mediáticos de contaminación de alimentos en los últimos tiempos. Varios fabricantes de leche en polvo para lactantes adulteraron fórmulas de leche con melamina, que es una sustancia química que contiene gran cantidad de nitrógeno, utilizada principalmente como material para la fabricación de resinas sintéticas. El objetivo era incrementar el contenido proteico de la leche. La ingestión de la leche contaminada con melamina causó la muerte de seis niños y la hospitalización de miles. Los análisis realizados mostraron que la leche en polvo contenía 500 veces el nivel máximo permitido de melamina. La ingesta de esta sustancia en pequeñas dosis no se considera muy tóxica en adultos, siendo una concentración mucho menor suficiente para causar graves problemas en bebés. Entre sus consecuencias más dañinas destacan las infecciones del tracto urinario y la formación de cálculos renales (Sharma y Paradakar, 2010).

La FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de EEUU) estableció un umbral de 2,5 ppm para la melamina en la leche. La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) es capaz de distinguir entre muestras de leche no adulterada y las que contenían 2,5 ppm de melamina (Jawaid et al., 2013). El límite de detección del método propuesto es más sensible que algunas técnicas mencionadas anteriormente y el tiempo de ensayo es de 2 minutos, bastante más rápido en comparación con la mayoría de métodos comunes. Las ventajas de ATR-FTIR demuestran su prometedora utilidad en la detección rápida de melamina en la leche. La Figura 15 representa los espectros ATR-FTIR de la melamina y la Tabla 7 su interpretación (Jawaid et al., 2013).

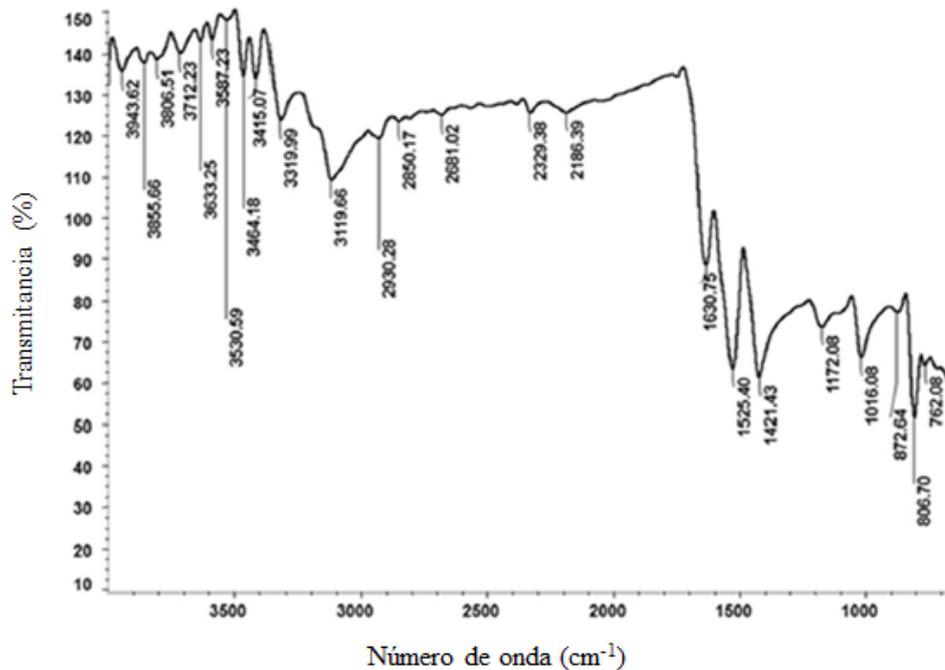


Figura 15. Espectro ATR-FTIR de la melamina

Tabla 7. Bandas más características del espectro de la melamina e interpretación.

Región espectral (cm ⁻¹)	Asignación
1100-1630	Vibración de estiramiento C-N, C≡N y anillos aromáticos.
~1630	Vibraciones de estiramiento >C-N del anillo de triazina de la melamina.
3000-3633	Vibración de estiramiento N-H.

De igual forma, la técnica ATR-FTIR se ha evaluado para detectar otros contaminantes en alimentos como el monocloropropanodiol (MCPD) en aceite de palma. Los ésteres de ácidos grasos de MCPD se encuentran, principalmente, en aceites y grasas vegetales, apareciendo en una proporción más elevada en el aceite y grasa de palma. Son contaminantes generados durante la fase de desodorización del refinado de aceites vegetales a máxima temperatura (200-300 °C) o mediante blanqueo con tierras decolorantes naturales (Bosch Collet et al., 2018; Willits, 2013). En los últimos años, estudios realizados con animales han revelado que el 3-MCPD libre es carcinógeno e induce infertilidad y el mal funcionamiento de ciertos órganos. Por lo tanto, el 3-MCPD ha sido clasificado como carcinógeno no genotóxico, con una ingesta diaria tolerable (TDI) de 2 µg/kg de peso corporal por día (Hua et al., 2019; Ming et al., 2019).

Es difícil analizar los ésteres de 3-MCPD en ausencia de un cromóforo adecuado, un alto punto de ebullición y un bajo peso molecular. Tanto la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección ultravioleta o de fluorescencia como la cromatografía de gases (GC), no proporcionan resultados favorables. Son métodos sin derivatización que muestran una baja sensibilidad (Hua et al., 2019). Sin embargo, el método convencional para determinar el contenido de 3-MCPD en los alimentos, la cromatografía de gases con detección de espectrometría de masas (GC-MS), no presenta necesidad de derivatizar pero requiere una preparación intensiva de la muestra. Dado los peligros potenciales del 3-MCPD, existe la necesidad de desarrollar un método rápido para detectar y cuantificar el contenido de 3-MCPD en los aceites comestibles como alternativa a GC-MS (Ming et al., 2019). La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) en combinación con la quimiometría, se presenta como una técnica potencial y flexible para este objetivo. Los resultados de varios estudios demuestran que se trata de un método alternativo rápido y confiable. (Ming et al., 2019; Hua et al., 2019). La región espectral entre 700 y 800 cm^{-1} corresponde al enlace C-Cl y es importante para la predicción de MCPD. En la Figura 16 se muestra un espectro FTIR típico de un aceite de palma y en la Tabla 8 sus bandas características (Ming et al., 2019).

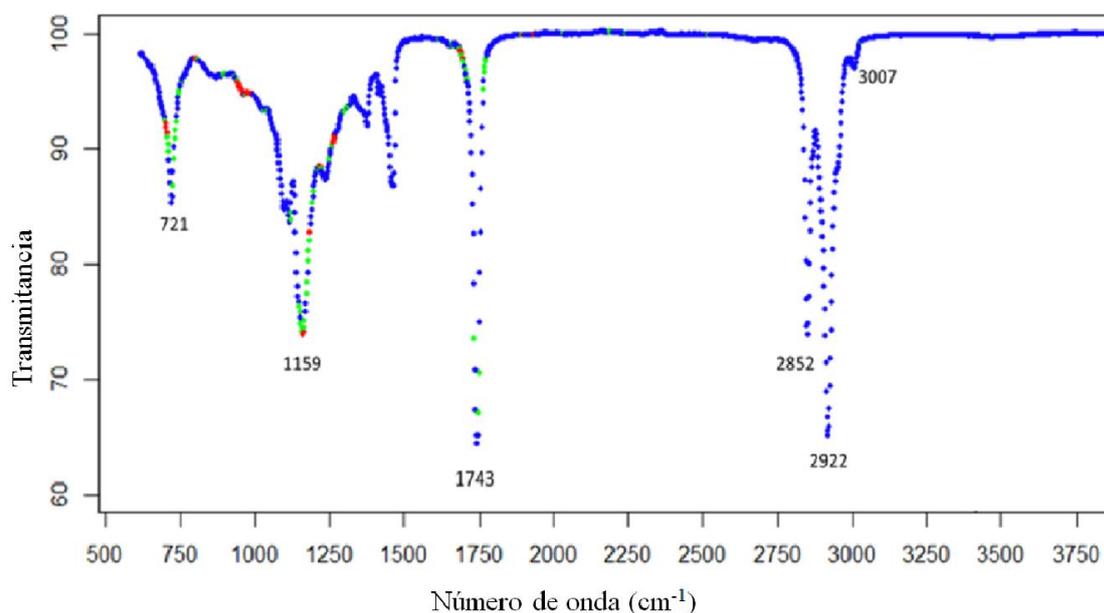


Figura 16. Espectro FTIR representativo de un aceite de palma. Los números indican los números de onda de los picos correspondientes a los grupos funcionales.

Tabla 8. Regiones de interés del espectro FTIR de un aceite de palma y su asignación.

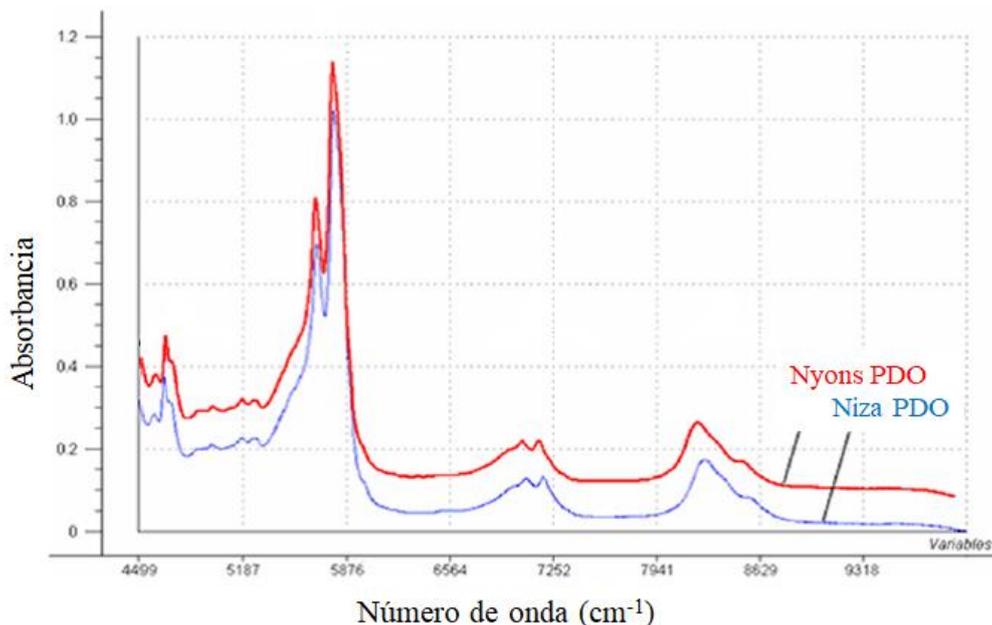
Región espectral (cm⁻¹)	Asignación
700-800	Enlace C-Cl, banda funcional MCPD.
900-990	Enlace CH=CH.
1150-1300	Movimiento CH ₂ .
1450-1470	Flexión CH ₃ .
1743, 2852 y 2922	Estiramiento C=O ésteres, estiramiento asimétrico CH del CH ₂ y estiramiento simétrico CH del CH ₂ .
3000-3100	Estiramiento CH de los enlaces dobles cis.

4.3. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN DETERMINAR LA TRAZABILIDAD DE LOS ALIMENTOS.

En determinados alimentos, declarar su origen geográfico en la etiqueta es un reclamo para el consumidor que considera ese origen geográfico un valor añadido. Así, recientemente, las declaraciones en la etiqueta del origen geográfico de algunos alimentos, se han convertido en una posible actividad fraudulenta con el objetivo de obtener un beneficio económico. En general, estos engaños con respecto al origen geográfico de los alimentos, tienen pocas implicaciones para la salud pero representan un fraude comercial. Los consumidores pagan un producto etiquetado con una producción característica de una región específica, pudiendo ser esta etiqueta una garantía de un proceso de fabricación tradicional y quizás más saludable. En respuesta a esta circunstancia, la Unión Europea ha introducido tres indicaciones en el etiquetado de productos alimenticios: denominación de origen protegida (DOP), indicación geográfica protegida (IGP) y especialidad tradicional garantizada (ETG) (Casale y Simonetti, 2014).

Actualmente, para la determinación del origen geográfico de diversos aceites de oliva se realizan multitud de análisis químicos que incluyen determinaciones de ácidos grasos, esteroides, triacilglicérols, ... Sin embargo, estas técnicas no garantizan completamente su origen ya que la composición química de los aceites está sujeta a cambios climáticos y ambientales. Para superar este obstáculo y dar respuesta a esta nueva demanda se ha estudiado la aplicabilidad de la espectroscopía de infrarrojo (Casale et al., 2012). Un estudio sobre aceites de oliva virgen franceses demostró que la determinación de su origen se puede hacer mediante tratamientos quimiométricos de los espectros NIR,

y no requerir determinaciones de compuestos químicos mediante técnicas analíticas como GC y HPLC. La Figura 17 refleja los espectros NIR típicos de dos muestras de aceite de



oliva virgen franceses con denominación de origen protegida (DOP) (Galtier et al., 2007).

Figura 17. Espectros de infrarrojo cercano NIR de dos muestras de AOV franceses.

Además, es posible distinguir entre aceites de oliva vírgenes (AOV) de denominaciones de origen muy similares y geográficamente cercanas. Los AOV de “Siurana” y “Les Garrigues” (Cataluña) fueron un claro ejemplo. Se utilizaron espectros NIR en el rango de 1100-2260 nm, ya que la saturación del detector se hizo evidente en longitudes de onda más largas. Dos técnicas quimiométricas se emplearon como herramientas de clasificación aplicadas a estos espectros NIR. Los resultados obtenidos fueron bastante satisfactorios en ambos casos, a pesar de la similitud entre las dos denominaciones de origen. Sólo una pequeña variación de señal apareció entre 1850 y 1989 nm (Bertran et al, 2000).

La espectroscopía de infrarrojo medio MIR también se usa para determinar el origen geográfico de aceites, siendo incluso más precisa en algunos casos que la espectroscopía de infrarrojo cercano NIR. Esto se demostró en un estudio que analizó aceites de oliva virgen extra (AOVE) italianos. El conjunto de muestra estaba compuesto por aceites de oliva virgen extra monovarietales y aceites de oliva virgen extra industriales (producidos a partir de una mezcla de variedades de cada área geográfica). Ambas técnicas permitieron la clasificación de las muestras de aceites en función de su origen

geográfico. Sin embargo, la espectroscopía MIR permitió una clasificación más correcta de las muestras ya que pudo clasificar los AOVE monovarietales e industriales a diferencia de la espectroscopía NIR, que sólo pudo clasificar los AOVE industriales (Sinelli et al, 2008).

Otra aplicación de la espectroscopía infrarroja, relacionada con la trazabilidad de los alimentos, es la diferenciación de los granos de destilería secos con solubles (DDGS) según su origen geográfico y/o botánico. Estos DDGS se consideran valiosas fuentes de proteínas y fibra para la elaboración de piensos en nutrición animal. Son un subproducto de la producción de etanol. Durante la fermentación, el almidón de los granos se convierte en combustible y dióxido de carbono, lo que conduce a un mayor contenido en los DDGS de nutrientes clave como proteínas, fibras y grasas. El contenido de estos nutrientes puede variar a causa de los diferentes orígenes botánicos de los granos, condiciones de fermentación o el clima. Además, también puede haber efectos adversos del uso de DDGS en la nutrición animal debido a la presencia de antibióticos. En consecuencia, la trazabilidad de los DDGS en términos de su origen botánico y geográfico es muy importante para el sector de piensos. Esto ha desencadenado el desarrollo de varias aplicaciones analíticas que permiten identificar los orígenes botánicos y geográficos de los DDGS. Estas aplicaciones utilizan la microscopía de infrarrojo cercano (NIRM) y la espectroscopía por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada (ATR-FTIR) (Tena et al., 2015; Vermeulen et al., 2015; Zhou et al., 2015).

La microscopía NIR, consiste en el uso de un espectrómetro de infrarrojo cercano por transformada de Fourier equipado con un microscopio que utiliza la técnica de mapeo. En total, se obtienen 625 espectros por muestra. Para la evaluación de estos espectros NIR, se requiere llevar a cabo análisis multivariante de los datos y obtener modelos matemáticos capaces de discriminar entre los orígenes botánicos y geográficos de las muestras. Dos modelos diferentes fueron propuestos en este estudio, con el fin de discriminar entre muestras de DDGS de maíz y trigo, y diferenciar DDGS de maíz de China, EEUU y Europa. Los resultados demuestran que el modelo para el origen botánico funciona perfectamente y es muy sólido en comparación con el modelo para clasificar las muestras según su origen geográfico. Entre las diversas clasificaciones con respecto al origen geográfico, sólo se obtienen excelentes resultados para la discriminación de muestras de China respecto a las muestras de EEUU y Europa. Todo esto concluye en que dicho método analítico es aplicable en el área de trazabilidad de las muestras de

DDGS, especialmente en la clasificación según el origen botánico (Tena et al., 2015). Otra alternativa para garantizar la trazabilidad de los DDGS utilizando espectroscopía infrarroja de infrarrojo medio, consiste en utilizar un ATR de diamante que permite la extracción in situ del aceite de DDGS y su posterior análisis. La originalidad de este estudio radica en la forma innovadora de extracción del aceite, sin usar solventes o transformación química, evitando así posibles influencias en su composición y reduciendo el tiempo de análisis. La Figura 18 representa el espectro ATR-FTIR típico de la grasa de los DDGS después de la extracción in situ de aceite de DDGS de trigo y maíz. Esta figura muestra claramente que el espectro obtenido corresponde con el espectro característico de un ácido graso (Vermeulen et al., 2015). En la Tabla 9 se observan las regiones espectrales más características con sus correspondientes asignaciones (Vermeulen et al., 2015).

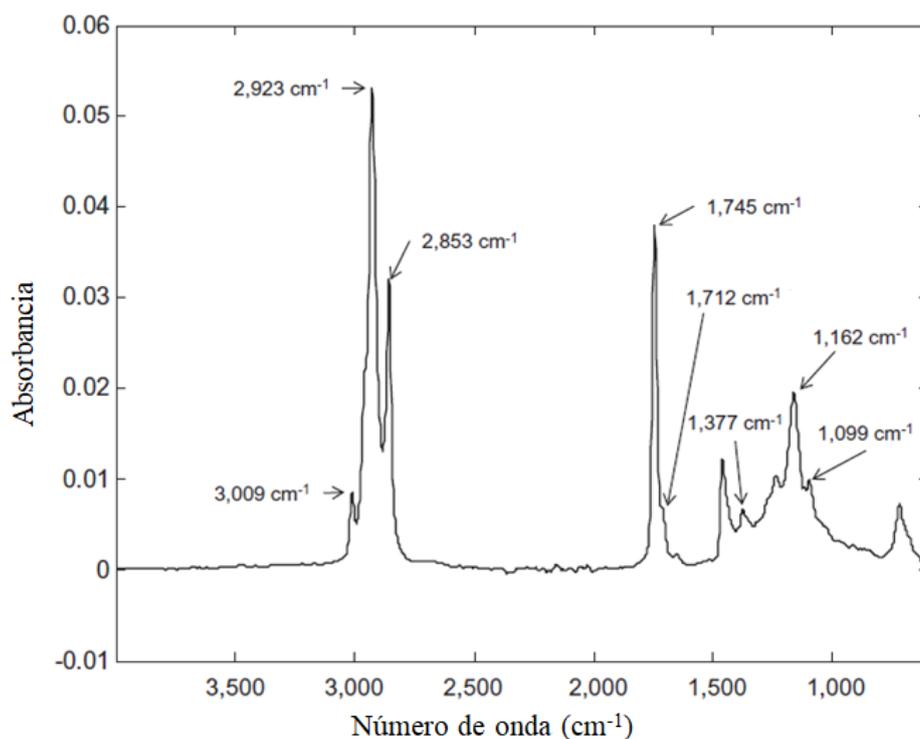


Figura 18. Espectro típico ATR-FTIR obtenido después de la extracción in situ de aceite de DDGS.

Tabla 9. Bandas más características del espectro ATR-FTIR después de la extracción in situ del aceite de DDGS.

Región espectral (cm ⁻¹)	Asignación
-3009	Vibración de estiramiento C-H de los dobles enlaces cis CH=CH- en ácidos grasos monoinsaturados o poliinsaturados.
-2923 y -2853	Absorción de estiramiento C-H en grupos CH ₂ acíclicos de triglicéridos.
-1745	Doble enlace C=O éster del triglicérido.
-1712	Doble enlace C=O del ácido graso libre.
-1377	CH ₃ y deformaciones simétricas y asimétricas de CH ₂ .
-1162 y -1099	Estiramiento C-O o C-C.
-966	Banda trans del grupo insaturado CH=CH-

4.4. APLICACIONES DE LA ESPECTROSCOPIA INFRARROJA EN LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CALIDAD DE LOS ALIMENTOS.

En la actualidad la sociedad está más preocupada por la calidad, la seguridad y las propiedades nutricionales de los alimentos. Esto ha motivado un creciente interés por parte de los productores de alimentos que demandan aplicaciones analíticas que les permitan garantizar a los consumidores la calidad de sus productos. En particular, el aceite de oliva virgen (AOV) es un aceite comestible altamente valorado por sus características sensoriales y sus propiedades nutricionales. Sin embargo, estas características y propiedades pueden sufrir cambios durante el almacenamiento, por lo que conocer la frescura y la calidad del aceite en cada momento se ha convertido en un nuevo reto para el análisis de alimentos. El principal proceso de alteración que causa efectos adversos en la calidad y composición química del AOV es la oxidación. Puede deberse a la exposición de los aceites a la luz o a altas temperaturas o simplemente ser consecuencia del proceso de autooxidación, es decir, los compuestos orgánicos reaccionan con el oxígeno molecular que hay disponible durante el almacenamiento. Todo esto ha llevado a los productores y reguladores a demandar un mayor control de los procesos de alteración, solicitando que se desarrollen técnicas analíticas capaces de predecir el deterioro que tendrán los aceites bajo unas condiciones moderadas de almacenamiento (Casale y Simonetti, 2014; Tena et al., 2017). Hasta ahora lo que hay son métodos que brindan

información sobre el estado de oxidación del aceite en el momento del análisis: el índice de peróxidos y los coeficientes de extinción espectrofotométrica (K232 y K270). Además, también existe el análisis predictivo Rancimat, que se basa en la evolución del proceso de oxidación a altas temperaturas, pero no tiene en cuenta la fotooxidación y sus resultados no se correlacionan bien con el deterioro que sufren los aceites a temperaturas moderadas (Tena et al., 2017).

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) junto con un nuevo accesorio, una celda de malla, se presenta como una técnica innovadora que permite evaluar la estabilidad del aceite de oliva virgen (AOV) debido a la importancia de controlar los cambios químicos que ocurren durante el almacenamiento. El aceite de oliva se almacena en celdas de malla a diferentes temperaturas (23 °C, 35 °C, 65 °C) simulando las condiciones reales durante el almacenamiento y transporte, y a diferentes intensidades de luz (400 lx, 1000 lx, 7000 lx) para evaluar la resistencia de las muestras a la fotooxidación. Las muestras depositadas en las celdas de malla están expuestas a estas condiciones durante 328 horas. Este accesorio permite amplificar las señales espectrales en regiones específicas, siendo su principal ventaja el control de los cambios químicos que sufrirá el AOV durante el transporte y almacenamiento como consecuencia de la luz y temperatura. Este estudio permite identificar el grado de deterioro del aceite ya que proporciona información sobre productos de oxidación primarios y secundarios. Esta técnica proporciona información sobre diferentes familias de compuestos agrupados simultáneamente por sus grupos funcionales. Las Figuras 19, 20 y 21 representan los espectros de un aceite de oliva virgen almacenado en celdas de malla en diferentes condiciones con información sobre la asignación de sus bandas. (Tena et al., 2017).

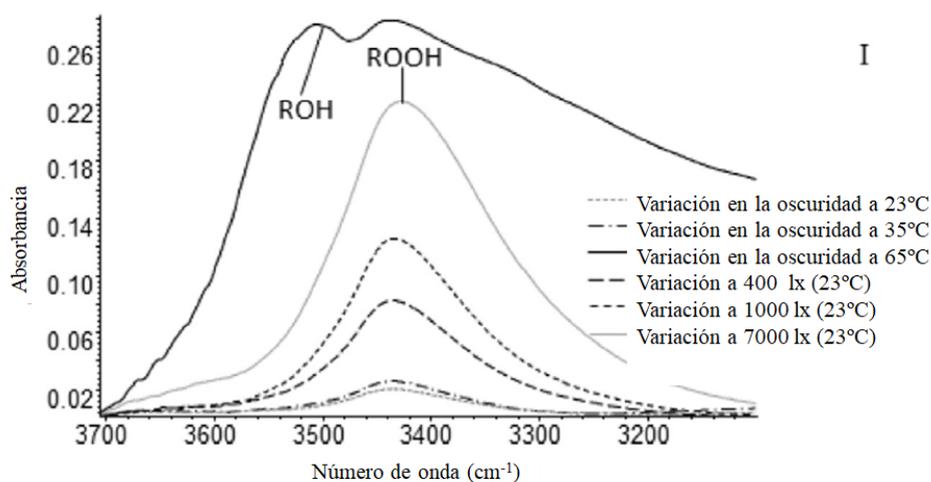


Figura 19. Espectro de un aceite de oliva virgen almacenado en celdas de malla en diferentes condiciones. Región espectral I (3700-3100 cm^{-1}): región de estiramiento OH.

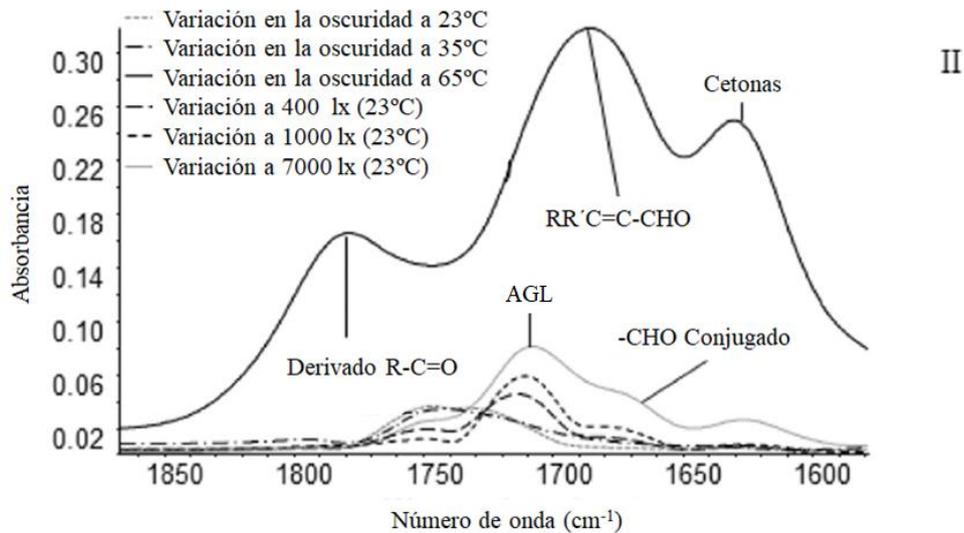


Figura 20. Espectro de un aceite de oliva virgen almacenado en celdas de malla en diferentes condiciones. Región espectral II (1850-1550 cm^{-1}): región de estiramiento C=O.

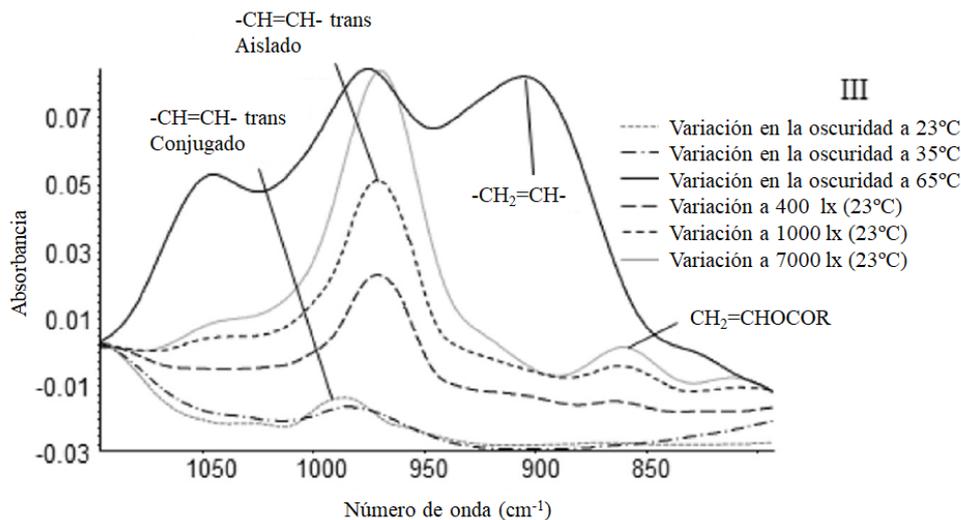


Figura 21. Espectro de un aceite de oliva virgen almacenado en celdas de malla en diferentes condiciones. Región espectral III (1000-800 cm^{-1}): región de vibración de deformación de alquenos.

Por otro lado, para garantizar a los consumidores la calidad del aceite de oliva, hay que llevar a cabo un elevado número de determinaciones analíticas. Estos procesos son tediosos y necesitan de personal especializado. Sin embargo, la espectroscopía de infrarrojo se presenta como una técnica prometedora que permite evaluar algunos de los parámetros de calidad y pureza. La Figura 22 representa el espectro de infrarrojo cercano de diferentes aceites de oliva que comprenden bandas anchas correspondientes a armónicos y combinaciones de modos de vibración de enlaces químicos C-H y O-H. Estos espectros proporcionan una gran cantidad de información que tratada adecuadamente

mediante quimiometría, es útil para la clasificación y cuantificación de sus diferentes parámetros de calidad (Armenta et al., 2010).

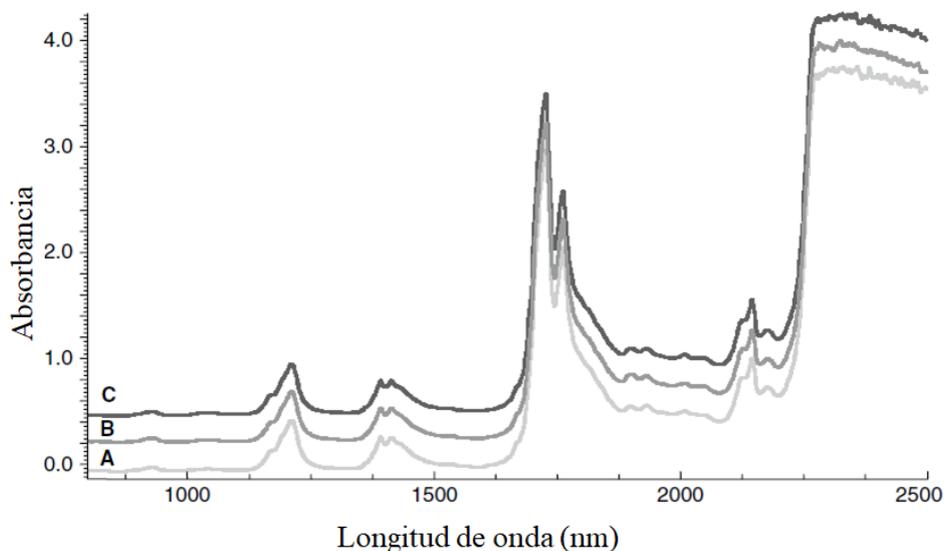


Figura 22. Espectro NIR de un aceite de oliva virgen extra (A), aceite de oliva virgen (B) y aceite de orujo de oliva (C).

En concreto, la acidez libre (Figura 20) y el índice de peróxido (PV) (Figura 19) están relacionados con la manipulación del aceite y ambos son indicativos de su deterioro. El primero, es indicativo de reacciones de hidrólisis y el segundo, es indicativo de procesos de oxidación. Los métodos oficiales para su determinación consisten en técnicas clásicas de valoración que requieren mucho tiempo, son laboriosas y usan grandes cantidades de solventes, lo que provoca un aumento de los costos y riesgos potenciales para la salud y el medio ambiente. Como alternativa a estas técnicas, se introduce la espectroscopía de infrarrojo (Armenta et al., 2007).

Una gran ventaja de este método de espectroscopía de infrarrojo es que permite proporcionar información en tiempo real sobre la composición de los aceites durante el proceso. Además, controla automáticamente los parámetros tecnológicos como la temperatura y el tiempo de batido (Mora-Ruiz et al., 2017). Esta técnica puede ser también utilizada para determinar compuestos fenólicos polares en muestras de aceite de oliva virgen (AOV), en sólo unos segundos (Mora-Ruiz et al., 2017). Estos compuestos son responsables de la estabilidad de los aceites y de sus propiedades sensoriales. Están relacionados con la variedad de aceituna y con los factores ambientales (latitud y altitud) y de cultivo (intensivo o superintensivo) (Casale y Simonetti, 2014). La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es el método tradicional empleado para determinarlos (Mora-Ruiz et al., 2017).

La espectroscopía Vis-NIR se presenta como una forma rápida de predicción cuantitativa de carotenoides y pigmentos de clorofila en AOV. Se observan diferencias espectrales en los rangos de longitud de onda 450-1000 nm y 1800-2300 nm por los diferentes contenidos de estos pigmentos en diversas muestras (Casale y Simonetti, 2014). El método tradicional de determinación de pigmentos en aceite de oliva virgen es la cromatografía líquida por HPLC. Estos pigmentos son responsables de que el aceite de oliva virgen varíe de verde a amarillo, dependiendo de la madurez de la fruta. Presentan actividad oxidante en presencia de luz y carácter antioxidante en la oscuridad y es por esto que tienen una relación indirecta con la calidad del aceite. La clorofila puede actuar previniendo el deterioro oxidativo, actuando como antioxidante si el aceite no se expone a la luz y se almacena a baja temperatura.

5. CONCLUSIONES

- Las técnicas espectroscópicas de infrarrojo empleadas para el análisis de alimentos, unidas al tratamiento quimiométrico de los datos espectroscópicos, presentan ventajas respecto a los métodos tradicionales proporcionando resultados precisos y veraces.
- Se ha demostrado la utilidad de la espectroscopía ATR-FTIR en la detección de adulteraciones en aceites de oliva vírgenes o fraudes en hierbas y especias de uso alimentario.
- La microscopía NIR se presenta como una alternativa para dar soporte a la legislación europea vigente y evitar la propagación de la EEB, mientras que, la espectroscopía ATR-FTIR, es útil para detectar la presencia de ciertos contaminantes en alimentos.
- La espectroscopía infrarroja se ha utilizado ampliamente en el estudio de trazabilidad de alimentos. Se ha demostrado su potencial en la discriminación del origen geográfico y botánico de diferentes alimentos tales como el aceite de oliva o los DDGS.
- El desarrollo de nuevos accesorios y el pretratamiento de muestras permite a la espectroscopía infrarroja determinar distintos parámetros de calidad en los alimentos de una forma rápida y fiable como es el caso de; la estabilidad de los AOV, la determinación de la acidez, índice de peróxidos, fenoles y pigmentos.

6. BIBLIOGRAFÍA

Armenta S, Garrigues S, de la Guardia M. Determination of edible oil parameters by near infrared spectrometry. *Anal Chim Acta*. 2007; 596: 330–7.

Armenta S, Moros J, Garrigues S, De La Guardia Cirugeda M. Determination of Olive Oil Parameters by Near Infrared Spectrometry. En: Preedy V y Watson R, editores. *Olives and Olive Oil Health and Disease Prevention*. 1ª ed. Massachusets, EEUU: Elsevier; 2010. p.533–44.

Babin Vich FA. Encefalopatía espongiforme bovina : el “ mal de las vacas locas ”. *Rev Adm Sanit*. 2006; 4: 655-73.

Baeten V, Fernández Pierna JA, Dardenne P, Meurens M, Garcia-González DL, Aparicio-Ruiz R. Detection of the Presence of Hazelnut Oil in Olive Oil by FT-Raman and FT-MIR. *J Agric Food Chem*. 2005; 53: 6201-06.

Benito MT, Bosch C, Sánchez F. Process Analytical Chemistry: Applications of Near Infrared Spectrometry in Environmental and Food Analysis: An Overview. *Appl Spectrosc Rev*. 2008; 43: 452-84.

Bertran E, Blanco M, Coello J, Itturiaga H, MasPOCH S, Montoliu I. Near infrared spectroscopy and pattern recognition as screening methods for the authentication of virgin olive oils of very close geographical origins. *J Near Infrared Spectrosc*. 2000; 8: 45-52.

Black C, Haughey SA, Chevallier OP, Galvin-king P, Elliott CT. A comprehensive strategy to detect the fraudulent adulteration of herbs : The oregano approach. *Food Chem* 2016; 210: 551–7.

Bosch Collet J, Timoner Alonso I, Vicente Tascón E, Castell Garralda V, Domingo Roi JL, Nadal Lomas M, et al. Contaminantes de proceso. Estudio de dieta total en Catalunya. 3-MCPD, 2-MCPD, sus ésteres de ácidos grasos y los ésteres glicidílicos. 2015. 1ª ed. Barcelona: Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria; 2018.

Büning-Pfaue H. Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. *Food Chem*. 2003; 82: 107-15.

Casale M, Oliveri P, Casolino C, Sinelli N, Zunin P, Armanino C, et al. Characterisation of PDO olive oil Chianti Classico by non-selective (UV-visible, NIR and MIR spectroscopy) and selective (fatty acid composition) analytical techniques. *Anal Chim Acta*. 2012; 712: 56-63.

Casale M, Simonetti R. Review: Near infrared spectroscopy for analysingolive oils. *J Near Infrared Spectrosc*. 2014; 22: 59–80.

Cen H, He Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. *Trends Food Sci Technol*. 2007; 18: 72-83.

Cozzolino D. Infrared Spectroscopy as a Versatile Analytical Tool for the Quantitative Determination of Antioxidants in Agricultural Products, Foods and Plants. *Antioxidants*. 2015; 4: 482-97.

Cozzolino D. Near Infrared Spectroscopy and Food Authenticity. En: Espiñeira M y Santaclara F, editores. *Advances in Food Traceability Techniques and Technologies*:

- Improving Quality Throughout the Food Chain. Duxford, United Kingdom: Elsevier; 2016. p.119-36.
- Freitas P, Flores L, Fornasier F, de Cassia R, Helfer GA, Tischer B, et al. Fast Methodology for Identification of Olive Oil Adulterated with a Mix of Different Vegetable Oils. *Food Anal Methods*. 2019; 12: 293–304.
- Galtier O, Dupuy N, Le Dréau Y, Ollivier D, Pinatel C, Kister J, et al. Geographic origins and compositions of virgin olive oils determined by chemometric analysis of NIR spectra. *Anal Chim Acta*. 2007; 595: 136-44.
- García-González DL, Baeten V, Fernández Pierna JA, Tena N. Infrared, Raman and Fluorescence Spectroscopies: Methodologies and Applications. En: Aparicio R y Harwood J, editores. *Handbook of Olive Oil: Analysis and Properties*. 2ªed. Nueva York: Springer; 2013. p.336-83.
- Hua Y, Ming K, Abas F, Maulidiani M, Lin K, Arbi I, et al. Rapid quantification of 3-monochloropropane-1,2-diol in deep-fat frying using palm olein : Using ATR-FTIR and chemometrics. *LWT - Food Sci Technol*. 2019; 100: 404–8.
- Jawaid S, Talpur FN, Sherazi STH, Nizamani SM, Khaskheli AA. Rapid detection of melamine adulteration in dairy milk by SB-ATR-Fourier transform infrared spectroscopy. *Food Chem*. 2013; 141: 3066–71.
- Limm W, Karunathilaka SR, Yakes BJ, Mossoba MM. A portable mid-infrared spectrometer and a non-targeted chemometric approach for the rapid screening of economically motivated adulteration of milk powder. *Int Dairy J*. 2018; 85: 177-83.
- Lin M, Rasco BA, Cavinato AG, Al-Holy M. Infrared (IR) Spectroscopy-Near-Infrared Spectroscopy and Mid-Infrared Spectroscopy. En: Sun D, editor. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*. 1ª ed. Cambridge: Elsevier; 2009. p.119-43.
- Lu C, Xiang B, Hao G, Xu J, Wang Z, Chen C. Rapid detection of melamine in milk powder by near infrared spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc*. 2009; 17: 59-67.
- Ming K, Maulidiani M, Rudiyanto R, Hua Y, Yen M, Meng W, et al. Rapid assessment of total MCPD esters in palm-based cooking oil using ATR- FTIR application and chemometric analysis. *Talanta*. 2019; 198: 215–23.
- Mora-Ruiz ME, Reboredo-Rodríguez P, Salvador MD, González-Barreiro C, Cancho-Grande B, Simal-Gándara J, et al. Assessment of polar phenolic compounds of virgin olive oil by NIR and mid-IR spectroscopy and their impact on quality. *Eur J Lipid Sci Technol*. 2017; 119: 1–7.
- Osborne BG. Near-Infrared Spectroscopy in Food Analysis. *Encycl Anal Chem*. 2006: 1-14.
- Sasikumar B, Swetha VP, Parvathy VA, Sheeja TE. Advances in Adulteration and Authenticity Testing of Herbs and Spices. En: Downey G, editor. *Advances in Food Authenticity Testing*. 1ª ed. Cambridge: Elsevier; 2016. p. 585-624.
- Serrano Martínez JL. Curso: Instrumentación y métodos de análisis químico. Tema: Espectroscopía Infrarroja 1-Fundamentos. Posgrado en Ingeniería del agua y del terreno. Universidad Politécnica de Cartagena. 2009.

- Sharma K, Paradakar M. The melamine adulteration scandal. *Food Secur.* 2010; 2: 97–107.
- Sinelli N, Casiraghi E, Tura D, Downey G. Characterisation and classification of Italian virgin olive oils by near and mid infrared spectroscopy. *J Near Infrared Spectrosc.* 2008; 16: 335-42.
- Tena N, Aparicio R, García-González DL. Virgin olive oil stability study by mesh cell-FTIR spectroscopy. *Talanta.* 2017; 167: 453–61.
- Tena N, Boix A, Von Holst C. Identification of botanical and geographical origin of distillers dried grains with solubles by near infrared microscopy. *Food Control.* 2015; 54: 103–10.
- Tena N, Fernández Pierna JA, Boix A, Baeten V, von Holst C. Differentiation of meat and bone meal from fishmeal by near-infrared spectroscopy: Extension of scope to defatted samples. *Food Control.* 2014; 43: 155–62.
- Thompson JM. *Infrared spectroscopy.* 1st ed. Singapore: Pan Stanford Publishing; 2018.
- Van de Voort FR. Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. *Food Res Int.* 1992; 25: 397-403.
- Vermeulen Ph, Fernández Pierna JA, Abbas O, Dardenne P, Baeten V. Origin identification of dried distillers grains with solubles using attenuated total reflection Fourier transform mid-infrared spectroscopy after in situ oil extraction. *Food Chem.* 2015; 189: 19–26.
- Willard HH, Merritt LL, Dean JA, Settle FA. Espectrometría de infrarrojo. En: Grepe N, editor. *Métodos instrumentales de análisis.* California: Grupo Editorial Iberoamérica; 1991. p.279-307.
- Willits J. Los 3-MCPD y su importancia en la industria del aceite de palma. *Palmas.* 2013; 34: 165-73.
- Yang Z, Han L, Fernández Pierna JA, Dardenne P, Baeten V. The potential of near infrared microscopy to detect , identify and quantify processed animal by-products. *Jnirs.* 2011; 231: 211–31.
- Zhou X, Yang Z, Haughey SA, Galvin-King P, Han L, Elliott CT. Classification the geographical origin of corn distillers dried grains with solubles by near infrared reflectance spectroscopy combined with chemometrics: A feasibility study. *Food Chem.* 2015; 189; 13-18.