

***Documento orientativo del ICBA para  
mitigar el potencial para  
la formación de benceno en las bebidas  
refrescantes***

---

**Secretaría 2005-2006**  
**UNESDA, Union of European Beverages Associations**  
**(Federación de Asociaciones europeas de bebidas refrescantes)**  
**Boulevard Saint Michel, 77-79 B-1040 Bruselas, Bélgica**  
**Teléfono: +32 2 743 40 50**  
**Fax: +32 2 732 51 52**  
**E-mail: [icba@agep.be](mailto:icba@agep.be)**  
**[www.icba-net.org](http://www.icba-net.org)**

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## **Borrador del documento orientativo del ICBA para mitigar el potencial para la formación de benceno en las bebidas refrescantes**

### **ÍNDICE**

<b>1. Introducción</b>	<b>Página 3</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>Páginas 3-4</b>
<b>3. Factores desencadenantes y mitigadores de la formación de benceno en bebidas</b>	<b>Páginas 4-5</b>
<b>4. Recomendaciones clave del ICBA a los fabricantes de bebidas sobre la formación de benceno</b>	<b>Páginas 5-6</b>
<b>5. Consejo: Pruebas para detectar benceno en las bebidas</b>	<b>Páginas 6</b>
<b>6. Consejo: Estrategias de control de la formulación</b>	<b>Páginas 7-9</b>
<b>Anexo: Ejemplos de Metodos de análisis</b>	<b>Páginas 9-31</b>

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## *BORRADOR a 31 de marzo de 2006*

### **Documento orientativo del ICBA para mitigar el potencial para la formación de benceno en las bebidas refrescantes**

#### **1. Introducción**

El International Council of Beverages Associations (ICBA, Consejo Internacional de Asociaciones de bebidas refrescantes) es una organización no gubernamental que representa los intereses de la industria mundial de las bebidas refrescantes. Las empresas que forman parte del ICBA fabrican, distribuyen y venden una gama de bebidas refrescantes analcohólicas, incluyendo refrescos carbonatados y no carbonatados como por ejemplo bebidas con zumo de frutas, aguas envasadas y tés y cafés listos para consumir.

#### **2. Antecedentes**

En 1990-1991, la industria del refresco detectó que determinadas bebidas sometidas a condiciones concretas podían presentar elevadas concentraciones de benceno. En colaboración con la US Food and Drug Administration (FDA, Administración norteamericana de alimentación y medicamentos), los fabricantes descubrieron que cuando el ácido ascórbico, o vitamina C, se utilizaba como ingrediente junto con el benzoato sódico, un conservante, se podía producir la formación de benceno. El almacenamiento de la bebida durante largos periodos de tiempo y a temperaturas elevadas potenciaba esta formación.

A pesar de que no se consideraba que las concentraciones de este hidrocarburo y la frecuencia con la que se producía esta formación supusiera un riesgo para la salud pública, la industria adoptó de inmediato medidas proactivas para reformular los productos afectados con la finalidad de minimizar cualquier potencial de formación, todo ello sin dejar de garantizar su integridad microbiológica.

En el caso de los refrescos y otras bebidas y alimentos, las autoridades reguladoras, como la FSANZ de Australia y Nueva Zelanda, el JRC de la Unión Europea, la FSA del Reino Unido y la FDA de Estados Unidos, llevan a cabo un exhaustivo seguimiento de esta exposición y adoptan un enfoque evaluativo para así realizar una evaluación de riesgos. La FDA realizó el estudio más reciente bajo el título “Volatile Organic Compounds in Foods: A Five Year Study” (Compuestos orgánicos volátiles en los alimentos: estudio de cinco años), que se publicó en 2003 en la publicación especializada *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Todos los alimentos sometidos a prueba presentaron concentraciones de benceno, incluidas frutas y verduras, excepto en el queso americano y el helado de vainilla. Estas concentraciones oscilaban entre 1 y 190 ppb (partes por cada mil millones en sus siglas en inglés, es decir, microgramos por kilo). La FDA concluyó que los datos recopilados durante el estudio ponían de manifiesto que el suministro alimentario en los Estados Unidos es relativamente seguro y que, aunque existe cierta exposición

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

oral a compuestos orgánicos volátiles como el benceno, el riesgo de exposición es en realidad mucho mayor a través de la inhalación. De hecho, según un artículo publicado el 27 de febrero de 2006 en *Food Chemical News*, un funcionario del Center for Food Science and Applied Nutrition (Centro para la ciencia alimentaria y la nutrición aplicada) de la FDA afirmó que sólo el 5% del conjunto de la exposición al benceno se debe a productos alimentarios. Además, existen otros estudios que han llegado a conclusiones similares, como los que se citan a continuación:

UK-MAFF *Food Surveillance* n° 58 – “Benzene and other Aromatic Hydrocarbons in Food-Average UK Dietary Intakes” (Benceno y otros hidrocarburos aromáticos en los alimentos – Ingesta alimentaria media en el Reino Unido) – marzo de 1995; Centro Común de Investigaciones de la UE, HEXPOC, 2005 – “Human Exposure Characterisation of chemical substances; quantification of exposure routes” (Caracterización de la exposición humana a sustancias químicas; cuantificación de las vías de exposición); Canadá: B.D. Page et al. – *Journal of AOAC Intl.*, 1992, 75, (2) 334-340.

Pese a estos datos, la industria ha adoptado una actitud responsable para prevenir/minimizar la presencia de benceno en sus bebidas. En la actualidad, y teniendo en cuenta que el crecimiento y la expansión de la industria de bebidas refrescantes no se detiene, el ICBA reafirma su compromiso de proporcionar asesoramiento para prevenir/minimizar la formación de benceno. Todas y cada una de las empresas de bebidas refrescantes de todo el mundo podrán tener acceso a esta orientación, independientemente de si forman parte o no del ICBA. Asimismo, esta entidad, a través de las asociaciones que la conforman, coordinará una actuación para hacer llegar esta información a todos los productores de bebidas refrescantes.

### 3. Factores desencadenantes y mitigadores de la formación de benceno en bebidas

#### **Factores desencadenantes que pueden conducir a la formación de benceno en las bebidas**

\* ***Catalizador principal:*** La formación de benceno se puede producir en concentraciones de partes por mil millones (microgramos por kilo) en algunas formulaciones de bebidas que contienen benzoato sódico o benzoato potásico junto con ácido ascórbico.<sup>(1)</sup> La luz, el calor o ambos factores incrementan estas concentraciones, pero el calor es el factor predominante.

\* Algunos estudios sugieren que el ácido eritórbito, en aquellos productos en los que se permite, puede conducir a la formación de benceno de un modo muy similar al ácido ascórbico.

\* La formación de benceno también se puede producir cuando, en aquellos lugares en los que se permita, las formulaciones de bebidas incluyan zumos de fruta u otros ingredientes que, de forma natural o por otros métodos, contienen fuentes de ácido benzoico y ácido ascórbico.

---

<sup>1</sup> L.K. Gardner y G.D. Lawrence, *J. Agric. Fd. Chem.* 1993, 41 (5), 693-695

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## 3.2 Factores mitigantes que pueden atenuar la formación de benceno en bebidas que contienen fuentes de ácido benzoico y ácido ascórbico

\* Algunos ingredientes, como los edulcorantes nutritivos (azúcar, jarabe de maíz rico en fructosa o jarabe de almidón) y el ácido etilendiaminotetracético disódico cálcico (EDTA), en los lugares en los que se permita su utilización, o el polifosfato o hexametáfosfato de sodio pueden mitigar la formación de benceno.

\* Algunos indicios ponen de manifiesto que los edulcorantes nutritivos retrasan la reacción, puesto que el fenómeno parece más notable en las bebidas *light*, aunque cuanto más tiempo pase el producto en el mercado (vida de almacenamiento), mayor será el potencial para la formación de benceno si hay presencia de sus precursores.

\* Otros datos también indican que el EDTA, en los productos en los que se permite, puede mitigar esta reacción, posiblemente mediante la formación de compuestos de iones metálicos que pueden actuar como catalizadores. El nivel de mitigación se puede ver reducido en productos que contienen calcio u otros minerales, en especial cuando se utilizan como enriquecedores, puesto que pueden dificultar la acción mitigadora.

## 4. Recomendaciones clave del ICBA a los fabricantes de bebidas refrescantes para prevenir/minimizar el benceno

Teniendo en cuenta los factores desencadenantes y mitigadores de la formación de benceno en las bebidas tal y como se han especificado con anterioridad (apartado 3), el ICBA recomienda la adopción de las siguientes medidas:

### ✓ **RECOMENDACIÓN 1: REVISIÓN**

Todas las empresas que fabrican bebidas refrescantes deben **revisar sus productos así como las nuevas formulaciones** teniendo en cuenta los datos anteriores relativos a los procedimientos para prevenir/minimizar la formación de benceno.

### ✓ **RECOMENDACIÓN 2: PRUEBAS**

Todas las empresas que fabrican bebidas refrescantes deben **recoger muestras analíticas de los productos oportunos** para buscar concentraciones de benceno mediante pruebas aceleradas de almacenamiento (*para obtener un asesoramiento más detallado acerca de la realización de estas pruebas, consulte el apartado 5 debajo*).

### ✓ **RECOMENDACIÓN 3: REFORMULACIÓN**

Las empresas de bebidas **deben reformular cualquier producto afectado** en el que pueda haber concentraciones de benceno con la finalidad de prevenir/minimizar la formación de

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

este hidrocarburo en la mayor medida posible.

- ✓ **RECOMENDACIÓN 4: SEGUIMIENTO DURANTE LA COMERCIALIZACIÓN.**  
Las compañías fabricantes de bebidas, como parte de sus procesos habituales de evaluación de muestras de planta y mercado o por cualquier otro procedimiento adecuado, deberían confirmar que las nuevas formulaciones o reformulaciones son efectivas para prevenir/minimizar la formación de benceno.

## 5. Consejo: Pruebas para detectar la presencia de benceno en las bebidas

### 5.1 Pruebas aceleradas

Este tipo de pruebas se deben realizar en el caso de formulaciones de productos que contengan fuentes de ácido benzoico, incluido el benzoato añadido, y ácido ascórbico. Las características específicas de las pruebas pueden presentar diferencias en función del fabricante, pero deben abarcar las condiciones temporales y térmicas que se darían en un proceso de distribución normal al que se someterá el producto. Como punto de inicio, los fabricantes pueden plantearse someter las formulaciones de productos a temperaturas de, como mínimo, 40-60 grados centígrados durante 24 horas, o periodos superiores dependiendo de la formulación puesto que, por ejemplo, algunas formulaciones requieren 14 días de exposición a pruebas aceleradas para evaluar el potencial de reacción.

### 5.2 Procedimientos analíticos

Para que un procedimiento analítico de detección de benceno sea fiable es necesario validarlo mediante ensayos de rendimiento adecuados o bien a través de laboratorios externos certificados, y deben ser capaces de detectar como mínimo 5 ppb (microgramos/kg) de benceno en bebidas. (Consulte el anexo para obtener ejemplos metodológicos).

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## 6. Consejo: Estrategias de control de la formulación

Tal y como se ha apuntado con anterioridad, los principales factores en la formación de benceno en bebidas son, por lo general, una combinación de fuentes de ácido benzoico y ácido ascórbico, calor y tiempo. Sin embargo, existen otros puntos de control (PC) que los fabricantes de bebidas pueden tener en cuenta en el momento de formular un producto, como por ejemplo los que se enumeran a continuación:

- ◆ Agua del producto  
? Debe cumplir con las normativas locales para el agua potable, incluidas las relativas a la concentración de benceno. *Consulte además el apartado “Metales de transición”.*  
PC – Comprobar la existencia de benceno en el agua.
- ◆ Azúcares (edulcorantes nutritivos)  
? Se cree que ralentizan la formación de benceno, pero sin inhibirla por completo.
- ◆ Zumos de frutas  
? Se pueden suministrar “conservados” junto con benzoato, allí donde se permita, y/u otras fuentes naturales de ácido benzoico.  
PC – Revisar las especificaciones con el proveedor para controlar o eliminar el benzoato.  
  
? Puede constituir una fuente de ácido ascórbico (añadido o natural).  
PC – Efectuar análisis para detectar el ascorbato u obtener las concentraciones del proveedor.
- ◆ Edulcorantes intensivos  
? Los productos *light* o bajos en calorías presentan un mayor potencial para la formación de benceno si sus precursores están presentes.
- ◆ Dióxido de carbono  
? Se debe garantizar el cumplimiento de las normativas locales o la norma del International Society of Beverage Technologists (ISBT, Sociedad internacional de técnicos de bebidas) de 20 ppb (microgramos/kg) como concentración máxima de benceno.  
PC – Verificar las especificaciones del proveedor y efectuar análisis con comprobaciones.
- ◆ Ácidos  
? A niveles de pH reducidos, el ácido ascórbico, el ácido eritórbico o ambos, en combinación con fuentes de ácido benzoico, suponen un mayor potencial de formación de benceno.
- ◆ Agentes enturbiantes/saborizantes  
? Los saborizantes, emulsionantes y enturbiantes pueden contener conservantes y antioxidantes.  
PC – Revisar las especificaciones con el proveedor para controlar o eliminar el benzoato.

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

? El benzaldehído y el ácido ascórbico también pueden formar benceno.  
PC – Comprobar la presencia de benzaldehído.

◆ Colorantes

? Pueden contener ascorbato como antioxidante para evitar la decoloración.

PC – Comprobar su presencia con los proveedores y, si es necesario, reformular las especificaciones.

◆ Conservantes

Todo proceso de fabricación de bebidas se debe desarrollar bajo estrictas condiciones higiénicas, siguiendo los principios del Hazard Analysis and Critical Control Point (APPCC, Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico).

? Se debe considerar la utilización de mezclas de sorbato y benzoato si existe una necesidad tecnológica (estabilidad microbiológica o solubilidad del sorbato).

PC – Se debe considerar si el benzoato se puede eliminar/reducir/sustituir por sorbato u otros sistemas de conservación. Asimismo, también se debe tener en cuenta que el sorbato se puede separar por precipitación en jarabes diluibles y resultado de la mezcla (fuentes).

? Diluibles: Las bebidas con base de fruta, por lo general con una concentración de 5x y diluidas antes del consumo, necesitan conservantes a causa de las aperturas frecuentes a las que están sometidos durante sus prolongadas vidas de almacenamiento.

PC – Se debe considerar si el benzoato se puede eliminar/reducir/sustituir por sorbato u otros sistemas de conservación.

*Es importante tener en cuenta que el sorbato se debe utilizar con precaución para evitar que se separe por precipitación. Asimismo, se debe considerar la utilización de alternativas al ácido ascórbico si esta sustancia está presente en el producto.*

◆ Antioxidantes

? Se debe considerar la utilización de ascorbato en el conjunto de la fórmula, en especial si el producto contiene zumo de limón u otros portadores naturales de ascorbato.

PC – Eliminar/reducir/sustituir el ascorbato de la forma más adecuada si hay una fuente de ácido benzoico.

◆ Luz

? La radiación ultravioleta puede inducir la formación de radicales libres en los productos.

PC – Revisar las condiciones de almacenamiento y de la vida de almacenamiento así como las instrucciones que se recogen en el etiquetado.

◆ Temperatura

? Acelera la formación en caso de que haya presencia de precursores.



---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

PC – Revisar las condiciones de almacenamiento y de la vida de almacenamiento así como las instrucciones que se recogen en el etiquetado.

◆ Metales de transición

? Se deben detectar concentraciones de iones metálicos, como el cobre y el hierro, puesto que pueden actuar como catalizadores en la formación del benceno en bebidas si hay presencia de fuentes de ácido benzoico y ácido ascórbico. Entre otros ingredientes, las fuentes de los metales de transición son, por ejemplo, el agua del producto, los edulcorantes u otros ingredientes.

PC- Los compuestos quelantes como el EDTA, en los productos en los que se permita, o los polifosfatos sódicos pueden contribuir a mitigar la formación del hidrocarburo que nos ocupa. En cambio, el enriquecimiento con calcio u otros minerales puede reducir este efecto.

## **ANEXO:**

### **EJEMPLOS DE METODOLOGÍA DE ANÁLISIS**

*NB: Los siguientes métodos de análisis son sugerencias no vinculantes y ejemplos para que sean utilizados por las empresas según resulte apropiado*

- 1. Determinación de las concentraciones de benceno en bebidas carbonatadas y no carbonatadas mediante cromatografía de gases usando la técnica de espacio de cabeza**
- 2. Cuantificación de las concentraciones de trazas de benceno en refrescos carbonatados y productos con zumos de frutas mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) de purga y captura**

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## **1. Determinación de las concentraciones de benceno en bebidas carbonatadas y no carbonatadas mediante cromatografía de gases usando la técnica del espacio de cabeza**

### **1. ALCANCE Y OBJETIVO**

Este método confiere mayor precisión a los resultados de la cromatografía de gases mediante la técnica del espacio de cabeza para determinar la presencia de benceno en bebidas carbonatadas y no carbonatadas.

### **2. RESPONSABLES**

2.1. Personal de laboratorio con la formación adecuada se debe encargar de la preparación de los reactivos y la realización de los análisis. Asimismo, también deben registrar los resultados de las muestras y las muestras de comprobación en los formularios de datos brutos pertinentes. Deben evaluar los resultados de forma analítica y aplicar las medidas necesarias para controlarlos por medio de calibraciones y comprobaciones.

2.2. El director de operaciones del laboratorio es el responsable de la eficacia del procedimiento. Asimismo, también proporciona asesoramiento en la evaluación de los métodos y resultados.

2.3. Por su parte, el director del laboratorio es el responsable de garantizar que el laboratorio disponga de todos los recursos necesarios (equipos y personal) para llevar a cabo las actividades relacionadas con las pruebas, comprobaciones y calibraciones de forma adecuada.

### **3. PRINCIPIO**

La muestra se calienta en un vial con espacio de cabeza cerrado con la finalidad de lograr un equilibrio entre la concentración de benceno en el espacio de cabeza que se encuentra por encima de la muestra y la concentración situada en la propia muestra. Con anterioridad al análisis, las muestras carbonatadas se tratan con hidróxido sódico para neutralizar el dióxido de carbono. Asimismo, para incrementar la eficiencia del espacio de cabeza del benceno, se añade un modificador de la matriz (cloruro sódico) al vial. Después de haber logrado este equilibrio, se inyecta una alícuota de la fase gaseosa en el cromatógrafo de gases. Con la finalidad de obtener una mayor sensibilidad, el benceno se captura en dispositivo de captura en frío antes de inyectarlo en la columna capilar. Los componentes se detectan mediante un detector de espectrometría de masas (EM) en modo de barrido completo. La identificación se basa en el tiempo de retención y en la comparación con los espectros de masas de la biblioteca. Por su parte, las cuantificaciones se basan en la intensidad del ión principal mediante la utilización de una calibración de cuatro puntos y del método de patrón interno.

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## 4. EQUIPOS Y RECIPIENTES DE VIDRIO

- 4.1. Equipo de laboratorio adecuado
- 4.2. Matraces aforados con tapones de vidrio
- 4.3. Viales con espacio de cabeza de 20 mL con tapones con reborde magnético
- 4.4. Cromatógrafo de gases – espectrómetro de masas DSQ Finnigan Trace con automuestreador Combipal con configuración del espacio de cabeza (GC210 o 212)
- 4.5. Columna capilar: Restek RTX-1 60 m \* 1µm df \* 0,25 mm ID
- 4.6. Generador de agua ultrapura: Millipore MilliQ (PW202 o 203)
- 4.7. Jeringuillas Hamilton graduadas (10, 25 y 50 µl)
- 4.8. Jeringuilla digital Hamilton de 25 µl
- 4.9. Balanza de precisión (AB201, 202 o 203)

## 5. REACTIVOS Y SOLUCIONES

### 5.1. REACTIVOS

- 5.1.1. Agua ultrapura refrigerada a 4° C
- 5.1.2. Benceno (CHBEN92)
- 5.1.3. Benceno-d<sup>6</sup> (CHBEN91)
- 5.1.4. Metanol de grado de purga y captura (CHMET05)
- 5.1.5. Hidróxido sódico (CHSOH04)
- 5.1.6. Cloruro sódico (CHSOC05)

### 5.2. SOLUCIONES

Utilizar sólo matraces aforados con tapones de vidrio (4.2)

#### 5.2.1. Solución concentrada de benceno de 1.000 mg/L (código de la solución SL-045-01)

Pesar un matraz aforado vacío y seco de 50 ml con tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m1**) en la balanza de precisión (AB201). Colocar 25 ml de metanol (5.1.4) en el matraz, situarlo en la balanza de precisión e introducir la tara. Utilizando una pipeta Pasteur, añadir +/- 50 mg de benceno (5.1.2) y determinar el peso exacto (**m2**). Es imprescindible asegurarse de que el benceno se añada directamente al metanol (sin que se produzca ningún contacto con la superficie interior). Rellenar el matraz con metanol hasta la marca.

Determinar el peso del matraz con la solución y con el tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m3**).

La concentración exacta del patrón de trabajo se calcula del siguiente modo:

$$C1 = (m2 / ((m3 - m1) / 0,7915)) * 1.000 \text{ (mg/L)}$$

Donde

C1 es la concentración de la solución concentrada de benceno (mg/L)

m1 es la masa del matraz vacío (g)

m2 es la masa del benceno (mg)

m3 es la masa del matraz lleno (g)

0,7915 es la densidad del metanol (20° C)

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

Esta solución es estable durante tres meses si se almacena a -18° C en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en vidrio ámbar.

## **5.2.2. Solución concentrada de control de benceno de 1.000 mg/L (código de la solución SL-045-02)**

Preparar la solución concentrada de control de benceno independiente de 1.000 mg/L siguiendo el mismo procedimiento descrito en el apartado 5.2.1. Esta solución es estable durante tres meses si se almacena a -18° C en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en un matraz de vidrio ámbar.

## **5.2.3. Solución de benceno para adicionar de 2 ppm (código de la solución SL-045-03)**

Pesar un matraz aforado vacío y seco de 50 ml con tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m4**). Colocar +/- 45 ml de metanol en el matraz aforado. Mediante una jeringuilla de 0,25 ml, añadir 0,1 ml de la solución concentrada de benceno de 1.000 mg/L (5.2.1). Anotar el peso de la solución añadida (**m5**). Rellenar el matraz con metanol hasta la marca y determinar el peso del matraz lleno con el tapón (**m6**).

La concentración exacta de la solución para adicionar se calcula del siguiente modo:

$$C2 = ((m5)/(m6-m4)) * C1 \text{ (mg/L)}$$

Donde

C2 es la concentración de la solución para adicionar de benceno

m4 es la masa del matraz vacío (g)

m5 es la masa de la solución concentrada de control de benceno de 1.000 mg/L añadida (mg)

m6 es la masa del matraz lleno (g)

C1 es la concentración de la solución concentrada de benceno de 1.000 mg/L (5.2.1)

Esta solución es estable durante un mes si se almacena a -18° C en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en un matraz de vidrio ámbar.

## **5.2.4. Solución de benceno para adicionar de control de 2 ppm (código de la solución SL-045-04)**

Pesar un matraz aforado vacío y seco de 50 ml con tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m7**). Colocar +/- 45 ml de metanol en el matraz aforado. Mediante una jeringuilla de 0,25 ml, añadir 0,1 ml de la solución concentrada de control de benceno de 1.000 mg/L (5.2.2). Anotar el peso de la solución añadida (**m8**). Rellenar el matraz con metanol hasta la marca y determinar el peso del matraz lleno con el tapón (**m9**).

La concentración exacta de la solución para adicionar se calcula del siguiente modo:

$$C3 = ((m8)/(m9-m7)) * C_{\text{contr}} \text{ (mg/L)}$$

Donde

C3 es la concentración de la solución para adicionar de control de benceno

m7 es la masa del matraz vacío (g)

m8 es la masa de la solución concentrada de control de benceno de 1.000 mg/L añadida (mg)

m9 es la masa del matraz lleno (g)

C<sub>contr</sub> es la concentración de la solución concentrada de control de benceno de 1.000 mg/L (5.2.2).

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

Esta solución es estable durante un mes si se almacena a -18° C en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en un matraz de vidrio ámbar.

## 5.2.5. Solución concentrada de patrón interno de 1.000 ppm (código de la solución SL-045-05)

Pesar un matraz aforado vacío y seco de 50 ml con tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m10**) en la balanza de precisión. Colocar +/- 25 ml de metanol (5.1.5) en el matraz aforado.

Pesar ± 50 mg de benceno-d<sup>6</sup> (5.1.3) en el matraz y anotar el peso exacto (**m11**). Rellenar el matraz con metanol hasta la marca y cerrar. Es imprescindible asegurarse de que el benceno se añada directamente al metanol (sin que se produzca ningún contacto con la superficie interior).

Determinar el peso del matraz con la solución y con el tapón con una exactitud de 0,1 mg (**m12**).

La concentración exacta de cada patrón interno se calcula del siguiente modo:

$$C4 = (m10 / ((m11 - m9) / 0,7915)) * 1.000 \text{ (mg/L)}$$

Donde

C4 es la concentración de la solución concentrada de patrón interno

m9 es la masa del matraz de aforación vacío con el tapón (g)

m11 es la masa del matraz de aforación con la solución y el tapón (g)

m10 es la masa del patrón interno (mg)

0,7915 es la densidad del metanol (20° C)

Esta solución es estable durante seis meses si se mantiene refrigerada y en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en un matraz de vidrio ámbar a -18° C en condiciones de oscuridad.

## 5.2.6. Solución de adición de patrón interno de 1 ppm (código de la solución SL-045-06)

Colocar ± 40 ml de metanol (5.1.5) en un matraz aforado de 50 ml. Utilizar una jeringuilla de 0,25 ml para inyectar 50 µl de la solución concentrada de patrón interno (5.2.5) bajo la superficie del metanol. Rellenar el matraz con metanol hasta la marca. Esta solución es estable durante un mes si se mantiene refrigerada y en condiciones de oscuridad. Se debe almacenar en un matraz de vidrio ámbar a -18° C en condiciones de oscuridad.

## 5.2.7. Patrones de calibración de los compuestos orgánicos volátiles (0,4 – 4 ppb) y patrón de control de 1 ppb

Todos los patrones de calibración se deben preparar con agua ultrapura refrigerada (5.1.1).

Los estándares de calibración se deben preparar del siguiente modo:

**5.2.7.1. 0,4 ppb:** Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml.

Recoger 10 ml de agua ultrapura refrigerada en una pipeta. Utilizar una jeringuilla digital de 25 µl (4.8) para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). Utilizar una jeringuilla de 10 µl para añadir 2 µl de la solución para adicionar de benceno de 2 ppm (5.2.3).

Cerrar el vial de inmediato con un tapón con reborde magnético.

**5.2.7.2. 1 ppb:** Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml.

Recoger 10 ml de agua ultrapura refrigerada en una pipeta. Utilizar una jeringuilla digital de 25

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

µl (4.8) para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). Utilizar una jeringuilla de 25 µl para añadir 5 µl de la solución para adicionar de benceno de 2 ppm (5.2.3). Cerrar el vial de inmediato con un tapón con reborde magnético.

**5.2.7.3. 2 ppb:** Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml. Recoger 10 ml de agua ultrapura refrigerada en una pipeta. Utilizar una jeringuilla digital de 25 µl (4.8) para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). Utilizar una jeringuilla de 25 µl para añadir 10 µl de la solución para adicionar de benceno de 2 ppm (5.2.3). Cerrar el vial de inmediato con un tapón con reborde magnético.

**5.2.7.4. 4 ppb:** Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml. Recoger 10 ml de agua ultrapura refrigerada en una pipeta. Utilizar una jeringuilla digital de 25 µl (4.8) para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). Utilizar una jeringuilla de 25 µl para añadir 20 µl de la solución para adicionar de benceno de 2 ppm (5.2.3). Cerrar el vial de inmediato con un tapón con reborde magnético.

**5.2.7.5. Contr. 1 ppb:** Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml. Recoger 10 ml de agua ultrapura refrigerada en una pipeta. Utilizar una jeringuilla digital de 25 µl (4.8) para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). Utilizar una jeringuilla de 25 µl para añadir 5 µl de la solución para adicionar de control de benceno de 2 ppm (5.2.4). Cerrar el vial de inmediato con un tapón con reborde magnético.

## **5.2.8. Hidróxido sódico al 30%**

Pesar +/- 60 g de hidróxido sódico (5.1.5) en un de vaso de precipitación de vidrio limpio y añadir 200 ml de agua ultrapura.

Disolver el hidróxido sódico y dejarlo refrigerar hasta que adquiera la temperatura ambiente.

## **6. ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras se deben almacenar a 4° C en condiciones de oscuridad.

## **7. PROCEDIMIENTO**

### **7.1. Tratamiento previo de las muestras**

Para las muestras de bebidas carbonatadas, añadir 1 ml de hidróxido sódico al 30% a un vial de 40 ml y llenarlo hasta arriba con la muestra. Cerrar el vial con un septo de politetrafluoroetileno (PTFE) con tapón de rosca.

Las muestras no carbonatadas no reciben ningún tratamiento previo.

### **7.2 Preparación del blanco y de la muestra**

Pesar +/- 3,5 g de NaCl (5.1.6) en un vial con espacio de cabeza de 20 ml. Utilizar una pipeta para recoger 10 ml de la muestra y depositarlos en el vial (4.3). Utilizar una jeringuilla digital de

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

25 µl para añadir 10 µl de la solución para adicionar de patrón interno (5.2.6). El vial se cierra con un tapón con reborde magnético con septo de PTFE o silicona.

Para la preparación del blanco, tratar 10 ml de agua ultrapura siguiendo el mismo procedimiento que en el caso de la muestra.

## 7.2. Preparación del automuestreador del espacio de cabeza

Situar los viales en la bandeja del automuestreador del espacio de cabeza Combipal. Dichos viales se deben analizar respetando el siguiente orden:

blanco – patrones de calibración – blanco – patrón de control de 1 ppb – muestras – patrón de control de 1 ppb.

Después de cada diez muestras, se debe analizar un patrón de control de 1 ppb. Indicar en el programa informático Cycle Composer qué viales deben ser objeto de análisis y, luego, iniciar el automuestreador. Una vez finalizado el primer periodo de termostatación, iniciar la captura mediante criorefrigeración.

## 7.3. Programa informático Excalibur

Cumplimentar la tabla de muestras según las muestras que se deban analizar.

Marcar los blancos y las muestras como sin identificar y marcar el patrón de calibración como patrón.

Es importante utilizar nombres de archivo adecuados para guardar los datos. Utilizar el campo del nombre de la muestra para describirla con claridad. Seleccionar el método correcto para el cromatógrafo de gases. Los parámetros para este dispositivo se describen en el apéndice 2.

Guardar e iniciar la tabla de muestras.

## 7.4. Calibración

### 7.5.1. Frecuencia de calibración

Por lo menos una vez a la semana se debe analizar una curva de calibración completa. Asimismo, se debe analizar un patrón de calibración de 1 ppb a diario.

### 7.5.2. Tipo de calibración

Para el cálculo se utiliza una curva de calibración lineal que utiliza un patrón interno.

$Y = aX + b$ , donde

Y = factor de respuesta relativa que se calcula por  $A_s/A_i$

Donde  $A_s$  = benceno del área en la muestra

$A_i$  = patrón interno del área en la muestra

X = concentración de benceno en la muestra

a = pendiente de la curva de regresión lineal ( $dY/dX$ )

b = ordenada en el origen

## 8. EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

### 8.1. Identificación y cuantificación

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

La identificación de los componentes se basa en sus tiempos de retención y en la comparación con la biblioteca de espectros de masas. La tabla 1 contiene los tiempos de retención indicativos de los componentes.

Estos tiempos pueden presentar ligeras diferencias a causa del envejecimiento de la columna y se deben corregir.

El programa informático efectúa la cuantificación de los componentes de forma automática a través de una regresión lineal con compensación del patrón interno. En el caso de muestras carbonatadas, se utiliza un factor de corrección de 1.025 para calcular los resultados finales (tiene en cuenta la adición de NaOH).

No se permite sustraer los valores de los blancos de los resultados de la muestra.

Tabla1: Tiempos de retención indicativos de los componentes objeto de cuantificación

Component name	Retention time	Main ion
Benzene-d6	14,1	84
Benzene	14,17	78

## 8.2. Elaboración de informes con los resultados

Los resultados se expresan en forma de  $\mu\text{g/L}$ . Los resultados que no superen los  $0,5 \mu\text{g/L}$  se deben incluir en los informes como “ $<0,5 \mu\text{g/L}$ ”.

## 9. REFERENCIAS

- Método EPA 5021A. Compuestos orgánicos volátiles en diversas matrices de muestra mediante la utilización del análisis del espacio de cabeza de equilibrio.
- Método EPA 8260B. Compuestos orgánicos volátiles mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas.
- Método EPA 524.2. Medición de compuestos orgánicos purgables en agua mediante espectrometría de masas/cromatografía de gases con columna capilar.



---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## **Apéndice 1: Parámetros del espacio de cabeza de Combipal**

Nombre del método: VOC-25min-benz

Temperatura de incubación: 60° C

Tiempo de incubación: 25 min

Temperatura de la jeringuilla: 90° C

Velocidad del agitador: 500 rpm

Tiempo de activación del agitador: 2 s

Tiempo de desactivación del agitador: 5 s

Velocidad de llenado: 250 µL/s

Velocidad de inyección: 15µL/s

Tiempo de ejecución del CG: 30 min

## **Apéndice 2: Parámetros del CG/EM**

Nombre del método: VOC-20-benzene

Parámetros del EM:

Tiempo de adquisición: 16 min

Temperatura de la fuente: 280° C

Modo de barrido: Escala completa

Velocidad de barrido: 750 uma/s

Rango de barrido: 40-250 uma

Parámetros del CG:

Método del horno:

Temperatura inicial: 40° C

Tiempo inicial: 5 min

Razón 1: 5° C/min

Temperatura 1: 90° C

Tiempo de retención: 0 min

Razón 2: 80° C/min

Temperatura 2: 300° C

Tiempo de retención 2: 5 min

Método de inyección:

Temperatura de inyección: 230° C

Modo: Sin separación

Tiempo sin separación: 6 min

Caudal de separación: 25 mL/min

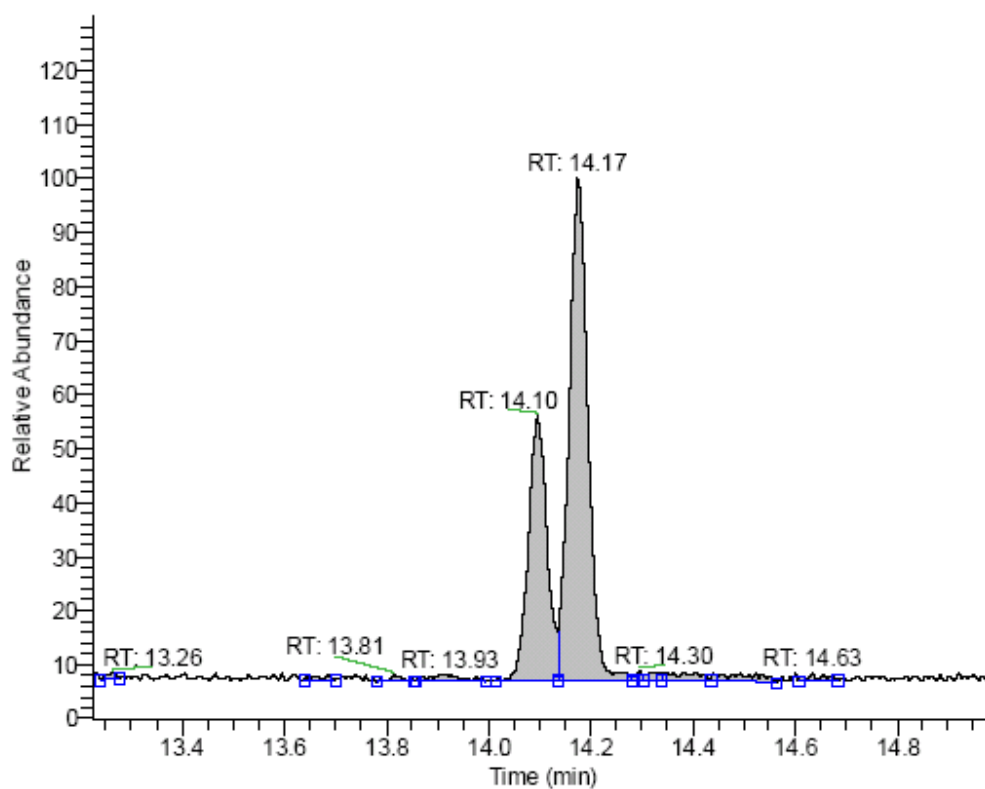
Método de caudal:

Modo: Caudal constante

Caudal: 1 mL/min

**Apéndice 3: Cromatograma de ejemplo**

RT: 13.22 - 14.99



---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## 2. Cuantificación de las concentraciones de trazas de benceno en refrescos carbonatados y productos con zumos de frutas mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) de purga y captura

### Resumen:

#### A. Parámetros de funcionamiento del instrumental

Para estos análisis se han utilizado tres instrumentos de CG/EM de purga y captura:

1. CG/EM 6890/5973 #1 Agilent, concentrador de purga y captura Tekmar Velocity y automuestreador de purga y captura Tekmar Solatek.
2. CG/EM 6890/5973 #2 Agilent, concentrador de purga y captura EST Encon y automuestreador de purga y captura EST Archon 5100.
3. CG/EM 6890/5973 #3 Agilent, concentrador de purga y captura Tekmar Velocity y automuestreador Archon (OI 4552).

1. 6890/5973 #1 Una columna HP-5MS de 30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$  (Agilent 19091S-433) se sometió a 45° C durante dos minutos, temperatura que se incrementó en 10° C/minuto hasta 65° C, luego se aumentó en 25° C hasta 250° C y se mantuvo a 250° C durante cinco minutos. La temperatura del puerto de inyección se fijó en 225° C con una relación de separación de 50:1 y un tubo con separación/sin separación ID de 4 mm. El gas portador, regulado por el control neumático electrónico (CNE) del 6890, se suministró a la unidad Velocity. Éste se devolvió al 6890 a través de la línea de transferencia calentada, que se emploma en la entrada del CG.

La columna se manipuló en el modo de presión constante a 12,33 psig con un caudal nominal de 0,8 mL/minuto. Después de un tiempo de ejecución de dos minutos, el sistema de ahorro de gas se fijó en 20 mL/minuto. La columna terminó en una separación mediante microfluídica Agilent que desvió aproximadamente el 20% del efluente de la columna a un  $\mu$ -DCE (detector de captura de electrones) Agilent. Para este análisis, no se recopilaron los datos del DCE. El suministro de gas de relleno de la separación fue de 3,8 psig, con lo que la salida de la columna estaba 3,8 psig por encima de la presión ambiental.

La temperatura de línea de transferencia del detector selectivo de masas (DSM) se fijó en 280° C, el cuádruple EM en 150° C y la fuente del EM en 230° C. La tensión de equilibrio del multiplicador de electrones era de 106 voltios y el voltaje del multiplicador de 1.694 voltios. Se utilizó un archivo de sintonización ATUNE. También se llevó a cabo un seguimiento de iones seleccionados. Los iones objeto de este seguimiento fueron el m/z 77 y el 78 para el benceno y el 82 y 84 para el patrón interno de benceno-d<sup>6</sup> en modo de baja resolución. El tiempo de toma de muestras para estos iones fue de 100 ms.

Se efectuó un seguimiento del benceno, el ión diana m/z 78, el ión calificador 77, el benceno-d<sup>6</sup>, el ión diana m/z 84 y el ión calificador 82 durante periodos que oscilaron entre los 3,23 y 3,65

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

minutos. Los periodos de retención fueron, para el benceno, de 3,45 minutos, y para el benceno-d<sup>6</sup>, de 3,43 minutos.

Se utilizó un concentrador de purga y captura Tekmar Velocity XPT junto con el automuestreador Solatek en modo de suelos. En este modo, el automuestreador purgó las muestras en el vial de muestra de 40 mL (serie 200 certificada por I-Chem, Fisher Scientific 05-719-102). El gas de purga se llevó hasta el cabezal del concentrador de captura a través de una línea de transferencia calentada SilcoSteel.

Se empleó un sistema de captura Supelco de tipo J o BTEX (Supelco 21064). Se trata de un tubo de acero inoxidable de 0,32 cm y 25 cm de largo empaquetado con 7,7 cm de Carbopak C y 1,2 cm de Carbopak B. Las condiciones analíticas para el concentrador/automuestreador de purga y captura son las siguientes. Estas condiciones analíticas están fijadas en el programa informático Teklink de Tekmar que rige el funcionamiento del muestreador y da comienzo a la ejecución de la CG/EM cuando se inicia el ciclo de desorción.

Variable	Valor	Variable	Valor
Temp. del agua de enjuague	90° C	Caudal de prepurga	40 mL/min
Temp. de la cubeta de la muestra	40° C	Calentador de la muestra	Desactivado
Temp. de la aguja de la muestra	50° C	Tiempo de precalentamiento de la muestra	1,00 min
Temp. de la línea de transferencia	150° C	Temp. de precalentamiento	40° C
Temp. de la válvula de suelo	125° C	Temp. de purga	0° C (configuración por defecto)
Tiempo de barrido de la muestra	0,50 min	Caudal de purga	40 mL/min
Volumen de enjuague de la aguja	15 mL	Tiempo de purga en seco	0,50 min
Tiempo de barrido de la aguja	1,00 min	Temp. de purga en seco	20° C
Tiempo de precalentamiento de la muestra	1,00 min	Caudal de purga en seco	50 mL/min
Agitación de precalentamiento	Desactivada	Inicio de la CG	Inicio de la desorción
Modo de agitación de precalentamiento	Rotación	Temp. de precalentamiento de desorción	250° C
Velocidad de la agitación de	5	Drenaje de desorción	Activado

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

precalentamiento			
Tiempo de purga	11,00 min	Tiempo de desorción	2,00 min
Agitación de purga	Desactivada	Temp. de desorción	250° C
Modo de agitación de purga	Agitación	Caudal de desorción	0 mL/min (configuración por defecto)
Velocidad de agitación de purga	5	Tiempo de cocción	4 min
Temp. del horno de válvula	150° C	Temp. de cocción	260° C
Temp. de la línea de transferencia	150° C	Temp. de cocción del caudal en seco	300° C
Temp. del soporte de la muestra	90° C	Caudal de cocción	400 mL/min
Temp. para purga efectiva	35° C	Temp. del foco	-150° C
Temp. de espera del caudal en seco	200° C	Tiempo de inyección	1,00 min
Caudal en espera	20 mL/min	Temp. de inyección	180° C
Tiempo de prepurga	0,50 min	Temp. de espera	100° C

Tabla 1. Configuraciones de Tekmar Velocity y Solatek

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## 2. 6890/5973 #2

Una columna DB-624 de 60 m x 0,25 mm x 1,4  $\mu\text{m}$  (Agilent 122-1364) se sometió a 40° C durante dos minutos, temperatura que se incrementó en 10° C/minuto hasta 180° C, luego se aumentó en 40° C/minuto hasta 250° C y se mantuvo a 250° C durante otros dos minutos. La temperatura del puerto de inyección se fijó en 200° C con una relación de separación de 40:1. El gas portador, regulado por el control neumático electrónico del 6890 se suministró a la unidad Encon. Éste se devolvió al 6890 a través de la vía de transferencia calentada, que se emploma en la entrada del CG.

Se experimentaron algunos problemas con el traslado de la muestra/picos “fantasma” a causa de la longitud de la columna. Este instrumento estaba configurado para otro análisis que requiere esa columna. Para los análisis de benceno se recomienda utilizar una columna de película que no supere los 30 m de grosor. La columna se manipuló en el modo de caudal constante a una presión inicial de 16,65 psig con un caudal de 1,0 mL/minuto. Después de un tiempo de ejecución de dos minutos, el sistema de ahorro de gas se fijó en 20 mL/minuto.

La temperatura de línea de transferencia del detector selectivo de masas (DSM) se fijó en 280° C, el cuádruple EM en 150° C y la fuente del EM en 230° C. La tensión de equilibrio del multiplicador de electrones estaba desactivada y el voltaje del multiplicador era de 1.670 voltios. Se utilizó un archivo de sintonización ATUNE. El retraso que se estableció por la elución del disolvente fue de 10 minutos.

También se llevó a cabo un seguimiento de iones seleccionados. Los iones objeto de seguimiento fueron el  $m/z$  77 y el 78 para el benceno y el 84 y 82 para el patrón interno de benceno- $d^6$ . El tiempo de toma de muestras para estos iones fue de 85 ms.

El benceno, con un tiempo de retención de 11,3 minutos, se detectó mediante la utilización del ión diana  $m/z$  78 y el ión calificador 77. El patrón interno de benceno- $d^6$  se detectó mediante la utilización del ión diana 84 y del ión calificador 82. El espectrómetro de masas se utilizó a alta resolución.

Se utilizó el concentrador de purga y captura Encon con el automuestreador Archon 5100 en el modo de suelos. El gas de purga se llevó hasta el cabezal del concentrador de captura a través de una línea de transferencia calentada SilcoSteel. El equipo Encon utilizó un dispositivo de captura de tipo K o Vocab 300 (PTS Catalog E70300-K03). Se trata de un tubo de acero inoxidable de 0,32 cm y 25 cm de largo empaquetado con 10 cm de Carbopak B, 6 cm de Carboxen 1000 y 1 cm de Carboxen 1001.

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

Variable	Valor	Variable	Valor
Caudal en espera	Activado	Drenaje	Activado
Derivación del gas de cocción	Activada	Antiespumante	Cont.
Tiempo de CG total	0 minutos	Horno de válvula	130° C
Línea de transferencia	130° C	Captura de reducción de humedad efectiva	40° C
Cocción de reducción de humedad	260° C	Purga efectiva	35° C
Tiempo de purga	11 minutos	Tiempo de purga en seco	1 minuto
Caudal de purga	40 mL/min	Caudal de desorción	0 mL/min (configuración por defecto)
Temp. de precalentamiento	40° C	Tiempo de precalentamiento	0,5 minutos
Precalentamiento de desorción	245° C	Temp. de desorción	250° C
Tiempo de desorción	2 minutos	Cocción	260° C
Tiempo de cocción	10 minutos		

Tabla 2. Configuraciones de Encon y Archon

### 3. 6890/5973 #3

Una columna DB-624 de 20 m x 0,18 mm x 1 µm (Agilent 122-1324) se sometió a 40° C durante tres minutos, temperatura que se incrementó en 15° C/minuto hasta 210° C y se mantuvo a 210° C durante 0,33 minutos. La temperatura del puerto de inyección se fijó en 210° C con una relación de separación de 50:1. El gas portador, regulado por el control neumático electrónico del 6890, se suministró a la unidad Encon. Éste se devolvió al 6890 a través de la vía de transferencia calentada, que se emploma en la entrada del CG.

La columna se manipuló en el modo de caudal constante a una presión inicial de 16,53 psig con un caudal de 0,8 mL/minuto. El sistema de ahorro de gas estaba desactivado.

La línea de transferencia del detector selectivo de masas (DSM) se fijó en 190° C, el cuádruple EM en 150° C y la fuente del EM en 230° C. La tensión de equilibrio del multiplicador de electrones estaba desactivada y el voltaje del multiplicador era de 1.176 voltios. Se utilizó un archivo de sintonización ATUNE. El retraso que se estableció por la elución del disolvente fue de 4,5 minutos.

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

También se llevó a cabo un seguimiento de iones seleccionados. Los iones objeto de seguimiento fueron el  $m/z$  77 y el 78 para el benceno y el 84 y 82 para el patrón interno de benceno- $d^6$ . El DSM se configuró en baja resolución y el tiempo de toma de muestras para estos iones fue de 85 ms.

Se detectó benceno, con un tiempo de retención de 5,19 minutos, y se cuantificó su concentración mediante la utilización del ión diana  $m/z$  78. Asimismo, se detectó benceno- $d^6$ , con un tiempo de retención de 5,16 minutos, mediante la utilización del ión diana  $m/z$  84.

Se utilizó el concentrador de purga y captura Velocity con el automuestreador Archon en el modo de suelos. El gas de purga se llevó hasta el cabezal del concentrador de captura a través de una línea de transferencia calentada SilcoSteel. El dispositivo Velocity utilizó un sistema de captura de tipo K o Vocarb 3000. Se trata de un tubo de acero inoxidable de 0,32 cm y 25 cm de largo empaquetado con 10 cm de Carbopak B, 6 cm de Carboxen 1000 y 1 cm de Carboxen 1001.



# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

Variable	Valor	Variable	Valor
Temp. del horno de válvula	150° C	Temp. de purga en seco	40° C
Temp. de la línea de transferencia	150° C	Caudal de purga en seco	200 mL/min
Temp. del soporte de la muestra	90° C	Inicio de la CG	Inicio de la desorción
Temp. para purga efectiva	40° C	Temp. de precalentamiento de desorción	245° C
Temp. de espera del caudal en seco	175° C	Drenaje de desorción	Activado
Caudal en espera	0 mL/min	Tiempo de desorción	2 min
Tiempo de prepurga	0,5 min	Temp. de desorción	250° C
Caudal de prepurga	40 mL/min	Caudal de desorción	0 mL/min (configuración por defecto)
Calentador de la muestra	Desactivado	Tiempo de cocción	2 min
Tiempo de precalentamiento de la muestra	1 min	Temp. de cocción	270° C
Temp. de precalentamiento	40° C	Temp. de cocción del caudal en seco	300° C
Tiempo de purga	11 min	Caudal de cocción	400 mL/min
Temp. de purga	0° C (configuración por defecto)	Temp. del foco	-150° C
Caudal de purga	40 mL/min	Tiempo de inyección	1 min
Tiempo de purga en seco	1 min	Temp. de inyección	180° C
Tipo de muestra	Suelo	Volumen de la muestra	5 mL
Factor de dilución	0	Volumen de enjuague	0 (configuración por defecto)
# Enjuagues	0	Estándar 1	SÍ
Estándar 2	NO	Agitación de precalentamiento de la muestra	NO
Agitación	NO	Tiempo de agitación del agua	0 (configuración por defecto)

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

Tiempo de asentamiento del agua	0	Inyecciones de jeringuilla	0 (configuración por defecto)
Modo de funcionamiento	Remoto	Temporizador de ciclos	0 (configuración por defecto)
Temporizador auxiliar	0	Vinculación al método #	#0

Tabla 3. Configuraciones de Archon y Velocity

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## **B. Calibración del instrumental**

### **Reactivos y patrones (patrón interno de benceno-d<sup>6</sup>)**

La presente información sobre calibración se aplica a los CG/EM #1 con Tekmar Velocity y Solatek.

Se pesaron 0,9251 g de 5,023 mg/mL de benceno en metanol dentro de un matraz de aforación de 50 mL, que se llenó hasta la marca con metanol (117.448 µg/L de benceno). Esta solución se diluyó repetidas veces hasta conseguir una relación de 1:10 mediante pipetas de vidrio de clase A de 5 mL y matraces de aforación de 50 mL para obtener soluciones de 11.745 µg/L, 1.174 µg/L y, finalmente, 117 µg/L de benceno. Se añadieron alícuotas de estas soluciones a 10 mL de agua desionizada y purgada en viales EPA de 40 mL según lo establecido en la tabla 5 para determinar patrones de calibración.

Se utilizaron jeringuillas de la serie 800 de Hamilton graduadas en microlitros para añadir los patrones de calibración a los viales EPA que contenían agua o la propia muestra. Estas jeringuillas se enumeran en la tabla 4.

Volumen de la jeringuilla	Número de modelo	Número de catálogo Fisher
10 µ	801RNW	14-815-300
25 µL	802RNW	14-815-301
50 µL	805RNW	14-815-302
100 µL	810RNW	14-815-303

Tabla 4. Jeringuillas utilizadas para añadir las soluciones de patrones a los viales

Se pesaron 0,9712 g de 2,015 mg/mL de benceno-d<sup>6</sup> en metanol dentro de un matraz de aforación de 50 mL, que se llenó hasta la marca con metanol (49.460 µg/L de benceno-d<sup>6</sup>). Esta solución se diluyó hasta conseguir una relación de 1:5 con una pipeta de vidrio de clase A de 20 mL y un matraz de aforación de 100 mL para conseguir una solución de 9.892 µg/L de benceno-d<sup>6</sup> para su utilización como patrón interno. Se programó el método de purga y captura del automuestreador para que, con anterioridad a la purga, inyectara 5 µL del patrón interno a cada vial EPA.

Esta solución de benceno-d<sup>6</sup> sólo se utilizó para el CG/EM #1. El automuestreador Solatek tenía la capacidad de inyectar 5 µL de la solución de patrón interno. El resto de automuestreadores (Archon) utilizados para estos análisis podían inyectar alícuotas de la solución de patrón interno de 1 y 2 µL respectivamente así como soluciones de benceno-d<sup>6</sup> con las distintas concentraciones que se requiriesen. El dispositivo Archons lavó el patrón interno en el interior de la muestra con 10 mL de agua de enjuague.

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

Uno de los conductos de depósito de patrones del dispositivo Solatek se llenó con una parte de la solución de patrón interno. Con anterioridad a la purga de la muestra, una válvula de inyección cargó 5  $\mu\text{L}$  de la solución de benceno- $\text{d}^6$  que luego se añadió al vial EPA con 10 mL de agua de enjuague.

$\mu\text{L}$ of 117 $\mu\text{g/L}$ Benzene	Standard Conc $\mu\text{g/L}$	Cal Level	$\mu\text{L}$ of 1,174 $\mu\text{g/L}$ Benzene	Standard Conc $\mu\text{g/L}$	Cal Level	$\mu\text{L}$ of 11,745 $\mu\text{g/L}$ Benzene	Standard Conc $\mu\text{g/L}$	Cal Level
10	0.117	1	10	1.17	4	10	11.74	7
20	0.235	2	20	2.35	5			
40	0.470	3	40	4.70	6			
$\mu\text{L}$ of 9892 $\mu\text{g/L}$ $\text{d}^6$ -Benzene								
5	4.90	All						

Tabla 5. Preparación de patrones para las muestras y patrones de calibración de 10 mL

Además de estos patrones de calibración, se añadieron 5 y 50  $\mu\text{L}$  de la solución de benceno de 1.174  $\mu\text{g/L}$  a alícuotas de agua desionizada y purgada de 10 mL. Se utilizaron para realizar muestras de verificación de la calibración a 0,59 y 5,87  $\mu\text{g/L}$  de benceno.

Finalmente, se preparó una muestra de comprobación a partir de una fuente independiente de benceno para verificar que los datos que proporcionaba el instrumento eran coherentes. Se añadió una alícuota de 100  $\mu\text{L}$  de una solución que contenía 2.000  $\mu\text{g/mL}$  de benceno en metanol a 100 mL de agua desionizada y purgada.

Una alícuota de 5  $\mu\text{L}$  de la solución de benceno de 2.000 $\mu\text{g/L}$  se añadió a 10 mL de agua desionizada y purgada en un vial de EPA, dando como resultado 1,0  $\mu\text{g/L}$  de benceno. Este patrón de comprobación se trató como una muestra sin identificar con la finalidad de verificar la calibración y garantizar que todos los instrumentos utilizados en el proyecto proporcionaban resultados coherentes.

El CG/EM 6890/5973 #1 Agilent, el concentrador de purga y captura Tekmar Velocity y el automuestreador de purga y captura Tekmar Solatek se calibraron con estos patrones. El dispositivo ChemStation se calibró por medio de un ajuste lineal de relación de respuesta a relación de cantidad. Se indicó a este dispositivo que la concentración del patrón interno de benceno- $\text{d}^6$  era de 1,0  $\mu\text{g/L}$  para todas las muestras. La indicación de este parámetro provocó que la relación de cantidad de cada nivel de calibración mostrase el mismo valor que si se tratara de la concentración de benceno de ese nivel.

Se recoge un listado con los patrones de calibración adquiridos. Todos ellos son 1 mL de una solución en una ampolla sellada.

- 1- Patrón de benceno: Supelco 40004, 5.023  $\mu\text{g/mL}$  de benceno en metanol
- 2- Patrón de benceno- $\text{d}^6$ : Supelco 48940-U, 2.015  $\mu\text{g/mL}$  de benceno en metanol

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

3- Patrón de benceno de muestra de comprobación: Restek 30249, 2.000 µg/mL de benceno

## Calibración del instrumental

Las muestras de verificación y calibración se realizan mediante la adición de alícuotas de microlitro de los patrones de la tabla 5 a 10 mL de agua desionizada y purgada en viales EPA de 40 mL. El dispositivo Solatek se encargó de añadir las alícuotas de 5 µL de solución de patrón interno. En el caso del resto de instrumentos, la concentración del patrón de benceno-d<sup>6</sup> se tuvo que modificar para que se adaptara al tamaño de la alícuota de solución de patrón interno que el automuestreador podía inyectar en las muestras. La tabla 5 aún será de aplicación para la dilución de los patrones de calibración de benceno.

La tabla 6 muestra los datos de calibración para el CG/EM de purga y captura Velocity/Solatek 6890/5973. Es importante recordar que la concentración real de benceno-d<sup>6</sup> es de 4,9 µg/L y que se indicó al dispositivo ChemStation que era de 1 µg/L con la finalidad de ajustar la relación de cantidad para que fuera igual a la concentración de benceno.

Las primeras y últimas muestras que se utilizaron para la calibración fueron muestras de agua desionizada y purgada cuya finalidad consistía en comprobar el ruido del instrumento. Una secuencia habitual en este tipo de análisis empieza con un blanco de agua, una muestra de verificación de 5,87 µg/L de benceno y, a continuación, las muestras sin identificar con una muestra de verificación de 0,59 o bien de 5,87 µg/L entre cada 8 – 10 muestras sin identificar. La figura 1 muestra el gráfico de calibración del dispositivo ChemStation.

La siguiente tabla se creó en formato Excel a partir de los datos del dispositivo ChemStation.

Sample Name	Benzene Area	Benzene Conc µg/L	d6 Benzene Area	d6 Benzene Area	Benzene Found µg/L
0 µg/L	10942	0.00	1	818157	0.0
0.12 µg/L	32807	0.12	1	817882	0.1
0.24 µg/L	57300	0.24	1	827709	0.3
0.47 µg/L	101968	0.47	1	828011	0.5
1.17 µg/L	221872	1.17	1	818283	1.2
2.35 µg/L	419894	2.35	1	818604	2.2
4.70 µg/L	906480	4.70	1	831742	4.8
11.74 µg/L	2192056	11.74	1	835169	11.7
0 µg/L	17214	0.00	1	825647	0.0
0.59 µg/L Check Sample	123141	0.59	1	833539	0.6
5.87 µg/L Check Sample	1153599	5.87	1	837021	6.1

Tabla 6. Datos de calibración para patrones de benceno de 0,12 a 11,74 µg/L

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

## Chemstation Benzene Calibration

March 13, 2006

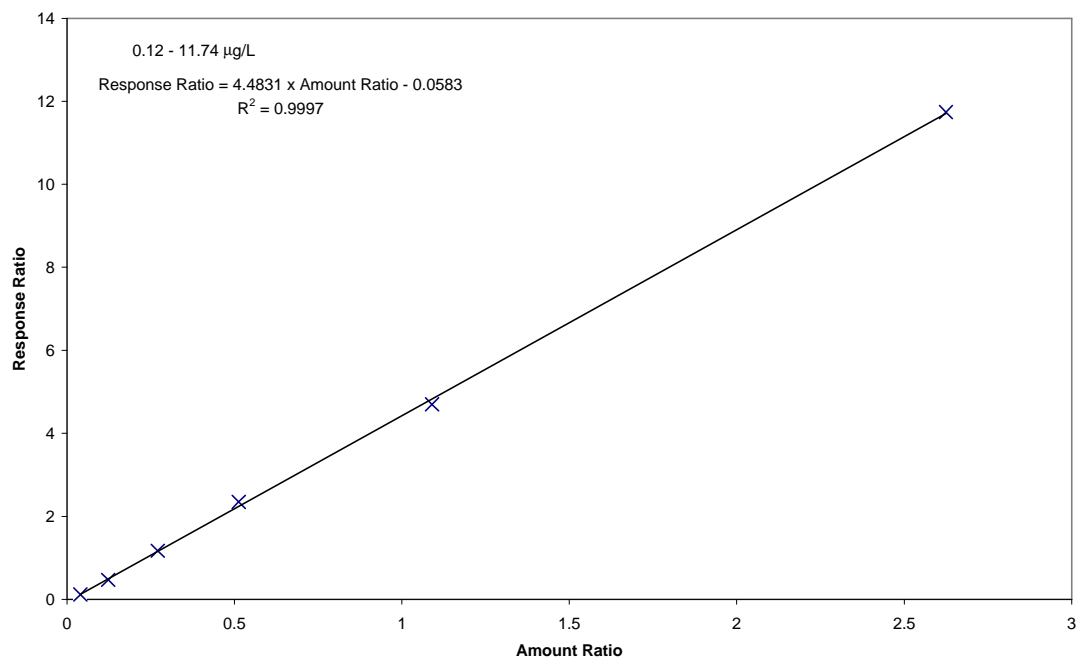


Figura 1. Curva de calibración del dispositivo ChemStation para patrones de benceno de 0,12 a 11,74 µg/L

El fabricante de la solución de patrón de benceno-d<sup>6</sup> afirma que su pureza es del 99,9%. El patrón interno de benceno-d<sup>6</sup> de 4,9 µg/L podía contener, como máximo, 0,004 µg/L de benceno. Además, el espectro de masas del benceno-d<sup>6</sup> de la biblioteca del Instituto Nacional de Normas y Tecnologías de Estados Unidos (NIST, en sus siglas en inglés) presentaba una pequeña cantidad de iones m/z 78 y 77.

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

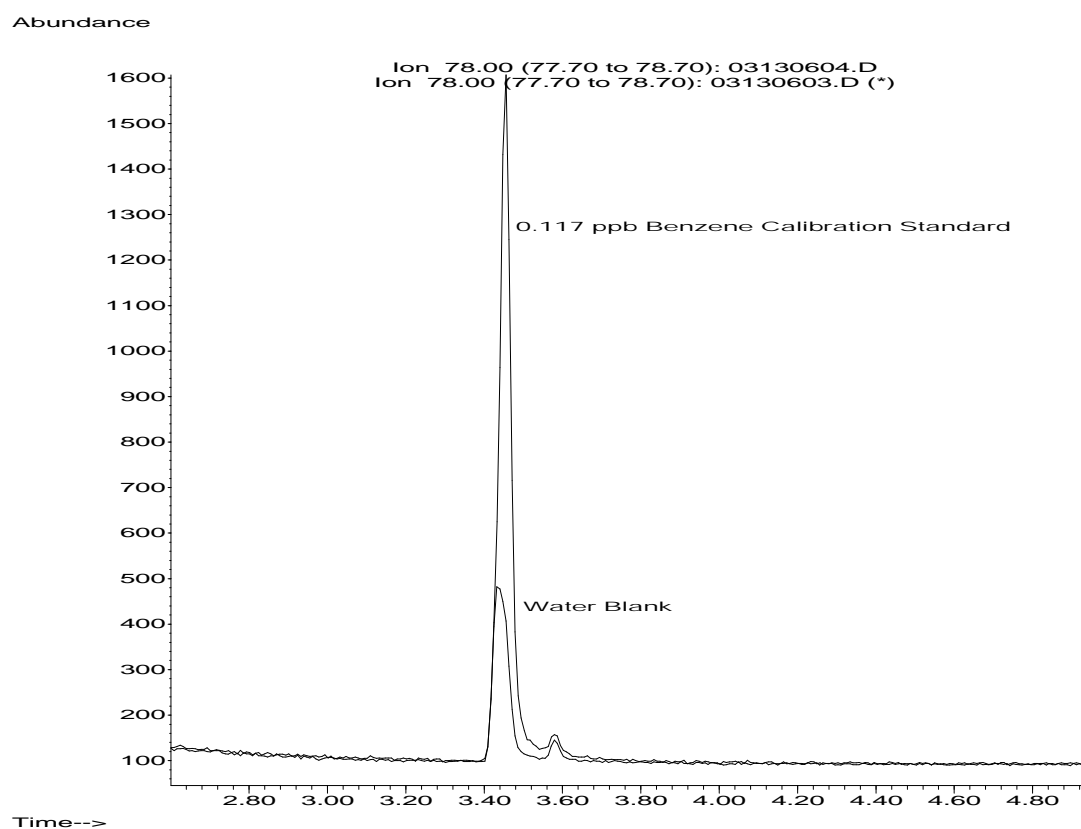


Figura 2. Cromatogramas de iones superpuestos de una prueba con blanco y 0,12  $\mu\text{g/L}$  de benceno

## Preparación de la muestra

Se purgaron alícuotas de muestra de 10 mL (más 10 mL de agua de enjuague) directamente en los viales EPA de 40 mL. Las muestras se introdujeron en los viales mediante una pipeta y éstos se capsularon para el análisis.

Los refrescos carbonatados tienden a experimentar la descomposición del  $\text{CO}_2$  cuando se abren así como durante la extracción de muestras por medio de una pipeta. Se trata de un hecho inevitable que provoca una determinada pérdida de compuestos volátiles que no se puede cuantificar. Esta descomposición se puede minimizar si se enfría el refresco carbonatado durante la noche en una nevera o bien en un cubo con hielo durante unas cuantas horas antes de proceder a la apertura del envase. También es importante no agitar el envase antes de abrirlo. El hecho de humedecer previamente el interior de la pipeta con una alícuota de la muestra y luego desechar dicha alícuota ayuda a minimizar las pérdidas que comentamos a causa de este burbujeo. La pipeta se debe llenar y vaciar lentamente para minimizar las pérdidas de  $\text{CO}_2$ . Asimismo, se debe dejar que la muestra recorra la pared interior del matraz de 40 mL para así reducir la pérdida de  $\text{CO}_2$  y de compuestos volátiles.

---

# INTERNATIONAL COUNCIL OF BEVERAGES ASSOCIATIONS

WASHINGTON, DC · BRUSSELS · TOKYO

---

Nota:

Los zumos que contienen pulpa y otras sustancias sólidas no se pueden analizar mediante este método de purga y captura puesto que taponan las válvulas y las líneas de la muestra.

Estas muestras se deben analizar mediante CG/EM con la técnica de espacio de cabeza.