

Técnicas ópticas

Microscopía. Fundamento y aplicaciones. Especial referencia a la identificación de fibras textiles.

Refractometría. Fundamento y aplicación en el ámbito alimentario.

Ejercicio 1 · Esquema del tema 37 · Actualizado el 27 de julio de 2026

01 INTRODUCCIÓN

02 MICROSCOPÍA

03 REFRACTOMETRÍA

04 POLARIMETRÍA

05 CONCLUSIÓN

01 INTRODUCCIÓN

Una parte importante de las labores del Servicio de Inspección SOIVRE se realiza en la Red de Laboratorios del SOIVRE, algunos de ellos acreditados por **ENAC** según la norma **UNE-EN ISO/IEC 17025:2017**, que regula el sistema de gestión de la calidad de los laboratorios de ensayo y calibración y establece los requisitos para demostrar su competencia. ENAC es el único organismo con potestad pública para acreditar (**Real Decreto 1715/2010, Reglamento (CE) 765/2008**) y su marca está respaldada por Acuerdos Multilaterales de Reconocimiento de más de 120 países, gestionados por EA y por Global ACI, nacida el 1 de enero de 2026 de la fusión de ILAC e IAF.

La red consta de **16 laboratorios** de ensayo en la red periférica, algunos acreditados, y un **Laboratorio Central** en Madrid, creado en 1989 y también acreditado, integrados en la Subdirección General de Inspección, Certificación y Asistencia Técnica de Comercio Exterior. El Laboratorio Central:

- Coordina y armoniza la red periférica y sus aplicaciones informáticas
- Planifica las adquisiciones de instrumental y asesora sobre reactivos, calibración y seguridad
- Pone a punto nuevas metodologías y da soporte analítico
- Organiza ejercicios de intercomparación y coordina el programa de acreditación
- Realiza actividades formativas y apoyo documental

Un laboratorio debe producir datos de alta calidad mediante un control de calidad planificado y documentado, que es el conjunto de medidas para conservar la fiabilidad de un método analítico. Puede ser **interno** (intralaboratorio), que evalúa a diario las determinaciones rutinarias en tres fases (preanalítica, analítica y postanalítica), o **externo** (interlaboratorio), la participación en pruebas de intercomparación.

Las técnicas ópticas fundamentales en el control alimentario van desde la simple lupa hasta la microscopía, la refractometría y la polarimetría. De cada una se describen fundamento, instrumentación, calibración y aplicaciones.

02 MICROSCOPÍA

2.1 Descripción e instrumentación

El ojo humano distingue, con buena iluminación, objetos de más de 0,1 mm, mientras que los componentes celulares son menores. **Microscopía** es la técnica que analiza un objeto a través de un microscopio, instrumento que da imágenes ampliadas de estructuras no visibles a simple vista mediante un sistema de lentes amplificadoras interpuestas entre el objeto y el ojo.

Se usa, por ejemplo, para determinar mohos en derivados del tomate por el método Howard, para reconocer el almidón del cereal de una harina mediante tinción y para detectar adulteraciones del azafrán, observando estigmas o polvo para descubrir otras partes de plantas o colorantes artificiales. Existen dos tipos:

- **Microscopía óptica**, que utiliza el poder separador de los fotones
- **Microscopía electrónica**, que utiliza el poder separador de los electrones

2.2 Microscopía óptica

Para que un objeto se perciba debe tener **contraste** con el medio que lo rodea. El **poder de resolución** depende de la apertura numérica del objetivo y de la longitud de onda empleada.

- **Apertura numérica (AN)**: depende del ángulo del cono de luz que capta el objetivo y del índice de refracción del medio entre objetivo y muestra (aire o aceite de inmersión), y a mayor AN, mayor resolución
- **Longitud de onda**: luz visible o ultravioleta próximo, y a menor longitud de onda, mayor resolución
- **Límite**: con lentes de gran aumento, aceite de inmersión y luz visible, el poder de resolución es de unos **200 nm**, es decir, no resuelve dos puntos separados por menos de esa distancia

Hay dos tipos de microscopio óptico. El **simple** tiene una sola lente, como la lupa. El **compuesto** tiene tres elementos (objetivo, ocular y condensador) y según sus adaptaciones se distingue:

- **Campo oscuro**: un condensador especial hace llegar al objetivo los rayos desviados por el objeto, que se ve brillante sobre fondo oscuro, y es útil con preparaciones muy transparentes
- **Contraste de fases**: una placa acentúa el desfase de las ondas tras atravesar la muestra y resalta las diferencias entre materiales, y es útil para células vivas
- **Interferencia**: óptica compleja que convierte las diferencias de fase en diferencias de color, y es útil en cromosomas o fotografías
- **Fluorescencia**: se basa en la radiación fluorescente, natural o inducida, de un objeto irradiado con luz UV, y unos filtros hacen visible la luz que llega al ojo, con uso en el diagnóstico de tumores
- **Polarización**: la muestra se coloca entre un polarizador y un analizador de planos de vibración perpendiculares, y si la muestra no tiene actividad óptica la luz no llega al ocular, con uso en cristalografía

2.3 Microscopía electrónica

Se basa en que un haz de electrones es desviado por un campo electromagnético.

- El haz luminoso se sustituye por un haz de electrones y las lentes ópticas por lentes electrónicas
- Los electrones atraviesan la muestra y son desviados, reflejados o emitidos por ella, y la imagen se proyecta sobre una pantalla sensible o una placa fluorescente
- Hace falta vacío en la muestra y en el aparato, y las muestras deben ser muy delgadas
- La longitud de onda es de 5 a 10 veces menor que la de la luz visible y la resolución es mucho mayor, del orden de 0,5 nm

Los microscopios son **de transmisión**, en los que los electrones atraviesan la muestra, o **de barrido**, para observar superficies, con la muestra cubierta de una capa fina de metal pesado.

2.4 Aplicaciones en el ámbito alimentario

Su aplicación en alimentación es muy elevada:

- Análisis microbiológico
- Determinación de mohos en derivados de tomate por el método Howard
- Reconocimiento del tipo de almidón en alimentos y harinas, identificando el cereal de origen
- Identificación de caracteres morfológicos de especias, por ejemplo adulteraciones del azafrán por mezcla de especies similares, restos florales o colorantes artificiales

2.5 Aplicaciones en el ámbito de la seguridad industrial. Especial referencia a las fibras textiles

La microscopía se emplea para identificar fibras textiles. Primero se extraen los hilos del tejido, de trama y urdimbre por separado, porque pueden tener tipos de hilo distintos. Después se obtienen las fibras individuales con el proceso inverso a la hilatura, el **destorcido**, y se colocan en un portaobjetos.

Cada fibra se reconoce por su morfología:

- **Lana** (oveja): contorno estriado característico, que le da la facilidad de formar fieltros
- **Seda**: fibra de secreción del gusano, con superficie lisa pero con irregularidades y estrechamientos, lo que la distingue de las sintéticas de filamento continuo obtenidas por extrusión, más regulares
- **Algodón** (semilla): convoluciones o dobleces en forma de cinta, producidas al madurar cuando el canal central se colapsa y genera un torcido que favorece el hilado
- **Lino** (tallo): fibra resistente de aspecto de caña por las líneas transversales llamadas nodos, que son su rasgo distintivo

Procedimiento experimental. Se estudia visualmente cada tejido y se extraen muestras de hilo de trama y urdimbre, de dos o tres hilos cada una y tantas como tipos de hilo se detecten. Se preparan tantos portaobjetos y cubreobjetos como muestras y se rotula cada portaobjetos con la referencia de tejido más hilo (por ejemplo T1, H1). Se deposita una gota de **bálsamo de Canadá** en el centro, se apoyan las fibras individuales lateralmente sobre ella hasta que queden totalmente apoyadas y se coloca el cubreobjetos con una ligera presión de pinza para que el bálsamo cubra toda su superficie. Así se evitan burbujas, huellas y polvo que interferirían en la observación.

Interpretación de los resultados. Consiste en determinar el origen de la fibra por su morfología. Conviene cruzar el resultado con una prueba pirognóstica o de combustión para confirmarlo.



REFRACTOMETRÍA



3.1 Descripción e instrumentación

Cuando un rayo pasa de un medio de mayor índice de refracción (n_1) a otro de menor índice (n_2), los ángulos de incidencia (I) y de refracción (R) se relacionan por la **ley de Snell**: $\text{sen}(I)$ dividido entre $\text{sen}(R)$ es igual a n_2 dividido entre n_1 . Los índices se miden respecto al vacío, de índice 1, y en la práctica el medio 1 es aire a unos 1 atm y 20 °C.

La mayoría de los refractómetros miden directa o indirectamente el **ángulo límite** (L): un rayo que incide con ese ángulo se refracta a 90°, cuyo seno vale 1. Midiendo L se conoce el índice de refracción, y el ángulo crítico queda definido por el límite de los campos claro y oscuro. Si el ángulo de incidencia es igual o superior a L no hay rayo refractado y toda la luz vuelve al primer medio, lo que se llama **reflexión total**.

Los refractómetros dan el índice de refracción o, calibrados, directamente los **grados Brix**. Un grado Brix corresponde al índice de refracción de una solución de sacarosa al 1 %. Es una medida comercial muy usada para los sólidos solubles de zumos naturales y concentrados, líquidos de cobertura de conservas, jaleas y mermeladas. No todos los sólidos solubles son azúcares, pues también hay ácidos, pero referirlo todo a °Brix resulta cómodo, y en zumos concentrados se corrige por el contenido en ácidos. El índice de refracción depende de la temperatura, que siempre debe indicarse. También caracteriza aceites esenciales y distingue sus métodos de obtención. Es una técnica sencilla, pero el valor obtenido debe confrontarse con otros datos de la muestra.

Los refractómetros más utilizados son:

- **De inmersión:** para líquidos con mucha muestra, sumergiendo el prisma en un vaso de precipitados. Los rayos refractados se enfocan sobre una escala graduada de 1 a 100, en parte iluminada y en parte oscura, cuyo límite marca el ángulo R , y el fabricante da una tabla de equivalencia con el índice de refracción
- **De Abbé:** el más utilizado por la amplitud de su escala, su sencillez, la fácil manipulación, la poca muestra necesaria y el uso de luz blanca ordinaria. Unas gotas se colocan entre dos prismas de vidrio de índice elevado y conocido, formando una película de 0,1 mm, y alrededor circula agua para operar a temperatura fija. Los prismas pueden sustituirse para cubrir otros intervalos de n . El índice se lee a 20 °C (entre 1,3 y 1,7) por el límite de los campos claro y oscuro, y a veces otra escala indica los °Brix

3.2 Calibración del instrumental necesario

- Cada vez que se utiliza: se comprueba la exactitud con el índice de refracción del agua destilada (20 °C: 1,3330 y 25 °C: 1,3325 +/- 0,0002)
- Trimestralmente: se calibra la escala con patrones de referencia cuyo índice exacto viene en el certificado

3.3 Aplicaciones en el ámbito alimentario

- **Cualitativas:** los valores de n de cientos de miles de líquidos orgánicos cubren solo el intervalo de 1,26 a 1,8 y la exactitud

común no supera la cuarta cifra decimal, así que no por sí solo prueba la identidad de una sustancia. Junto con la densidad y el punto de ebullición confirma la identidad o sirve de criterio de pureza en aceites esenciales y otros aceites, alcoholes, etc.

- **Cuantitativas:** miden la concentración de soluciones de azúcar, expresada en % de sacarosa, en mieles, mermeladas, confituras, zumos y jarabe de almidón. También se usan para:
 - El aguado de la leche y el contenido de agua de la miel
 - El contenido en alcohol de aguardientes
 - El extracto seco máximo de cerveza y licores

04 POLARIMETRÍA

4.1 Descripción e instrumentación

La polarimetría mide la **actividad óptica** de las sustancias. Una luz polarizada plana que atraviesa una sustancia ópticamente activa gira su plano a la derecha (dextrógira) o a la izquierda (levógira), y el ángulo girado, o rotación óptica, es característico de la sustancia y directamente proporcional a su concentración. Se usa para determinar azúcares (sacarosa, fructosa, glucosa, jarabe de glucosa) y caracterizar aceites esenciales. Normalmente se emplea una cubeta de 10 cm, y si la desviación es muy elevada, de 5, 2 o 1 cm. Como en la refractometría, el valor debe confrontarse con otros datos de la muestra.

- **Polarímetro:** mide la actividad óptica de los azúcares. Tiene un polarizador, que produce la luz polarizada, y un analizador, que por rotación señala la desviación causada por el azúcar. Ambos son prismas de Nicol pegados con bálsamo de Canadá. La solución se coloca en un tubo entre los dos. Con agua destilada el campo se ve uniformemente iluminado, y con una sustancia activa se pierde la igualdad. Se recupera moviendo el analizador con un micrómetro y la escala indica la rotación
- **Sacarímetro:** mide la desviación en función de la concentración de azúcar operando con el peso normal, característico de cada azúcar

4.2 Calibración del instrumental necesario

- Cada vez que se utiliza: determinación del cero, con un blanco de tubo vacío si son líquidos o con el tubo lleno del disolvente si son sólidos
- Trimestralmente: determinación del ángulo de rotación específica de la sacarosa, comprobando exactitud y precisión, y linealidad de la escala con disoluciones patrón de dextrosa o sacarosa al 1, 5, 10 y 15 % en agua destilada

4.3 Aplicación en el ámbito alimentario

Su principal uso es determinar la rotación específica, que sirve para:

- Criterio de pureza en sustancias con actividad óptica, porque los dos enantiómeros, dextro y levo, de idénticas propiedades químicas, solo se distinguen por polarimetría
- Concentración de sustancias ópticamente activas en presencia de otras sin actividad óptica, sobre todo azúcares, con los sacarímetros como instrumentos más específicos
- Concentración de sacarosa cuando hay otras sustancias activas, previa inversión: en solución ácida la sacarosa se desdobra en glucosa y fructosa y pasa de dextrógira a levógira, y la variación de rotación antes y después es proporcional a la concentración, lo que permite trazar una recta de calibrado

05 CONCLUSIÓN

Microscopía, refractometría y polarimetría mantienen plena vigencia en el control oficial por su rapidez, bajo coste y fiabilidad. La microscopía destaca en el SOIVRE por su doble aplicación, en la detección de adulteraciones del azafrán y en la identificación de fibras textiles, que exige un conocimiento morfológico del inspector. La refractometría sigue siendo la técnica de referencia para el control rápido de sólidos solubles en zumos y mermeladas, y la polarimetría es insustituible para determinar azúcares y detectar fraudes por sustitución de sacarosa por otros edulcorantes.