

Detección de adulteraciones en grasa láctea a través del tratamiento por regresión lineal múltiple de perfiles de ácidos grasos totales

By M. C. Perotti*, S. R. Rebecchi y S. M. Bernal

Instituto de Lactología Industrial, Facultad de Ingeniería Química
Universidad Nacional del Litoral - Santiago del Estero 2829
S3000AOM Santa Fe (Argentina) - E-mail: cperotti@fiquis.unl.edu.ar

RESUMEN

Detección de adulteraciones en grasa láctea a través del tratamiento por regresión lineal múltiple de perfiles de ácidos grasos totales.

Se determinó el perfil de ácidos grasos totales de muestras de grasa láctea genuina de una importante cuenca lechera de la República Argentina obtenidas durante un año (2002-2003), y de aceites de girasol, soja, coco y sebos vacuno y porcino, con el objetivo de estudiar el perfil característico de la grasa láctea y poder detectar adulteraciones de la misma con las grasas mencionadas.

Se empleó el método de transesterificación de los triglicéridos en medio ácido, utilizando etanol-ácido sulfúrico, y se cuantificaron los ésteres etílicos por cromatografía de gases empleando dos estándares internos que se adicionaron a la grasa anhidra (C_{7:0} y C_{17:0}). Se cuantificaron los ácidos grasos más característicos de las grasas estudiadas.

Se obtuvieron matemáticamente los perfiles de mezclas de las grasas lácteas con las distintas materias grasas mencionadas, cubriendo un rango del 2 al 10% de adición (porcentaje de adulteración) para los aceites y grasas vegetales y hasta el 15% para las grasas de origen animal. De esta manera se obtuvieron diferentes matrices de datos a las que se les aplicó el método de regresión lineal múltiple con selección por stepwise con el propósito de obtener una función que relacionara el porcentaje de adulteración con los perfiles de ácidos grasos totales para cada materia grasa ensayada como adulterante.

Se obtuvieron buenos coeficientes de correlación para las matrices de datos analizadas. Las ecuaciones se validaron con el empleo del método de validación interna o cruzada, con muestras genuinas de grasa láctea y con mezclas preparadas por balances de masa de dichas grasas lácteas con las distintas materias grasas adulterantes. Las ecuaciones obtenidas mostraron un buen ajuste para la predicción de las adulteraciones estudiadas.

PALABRAS-CLAVE: Ácidos grasos totales - Adulteración - Regresión lineal múltiple stepwise

SUMMARY

Detection of adulterations in milk fat by multiple regression analysis of total fatty acids profile.

The total fatty acids profile of a genuine milk fat from an important milk producing area of Argentina was determined together with the total fatty acids profiles of sunflower, soybean and coconut oils and bovine and porcine fats. These results were used for characterization of the fatty acid profile of genuine milk fat and for detection of the adulteration of milk fat with those oils and fats.

Triglycerides were transesterified in an acid medium with ethanol - sulfuric acid. Ethyl esters were quantified by gas chromatography using two internal standards (C_{7:0} and C_{17:0})

added to the anhydrous fat. The most characteristic fatty acids were determined.

The fatty acids profiles of mixtures of milk fat with vegetable and animal fats were mathematically calculated. Vegetable oils were added from 2 to 10%, while animal fats were added up to 15%. In this way different data matrices were obtained. Stepwise multiple regression analysis was applied to these matrices with the aim of obtaining a relation between adulteration percentage and the total fatty acids profile for each fat selected as adulterant.

Good correlation coefficients were obtained for analyzed matrices. Equations were validated by employing the cross validation method, and were applied to genuine samples of milk fat and to mixtures by mass balances of these milk fats with the different adulterant fats. A good prediction of adulterations was obtained with the application of equations.

KEY-WORDS: Adulteration - Stepwise multiple linear regression - Total fatty acids.

1. INTRODUCCIÓN

Para establecer la genuinidad y en base a ello poner en evidencia adulteraciones en grasa de leche (CAA, 2003), se han estudiado diferentes estrategias analíticas tales como los índices clásicos definidos en función de los ácidos grasos de cadena corta (Reichert - Meissl, Polenske, saponificación, refracción), el análisis de la fracción insaponificable para conocer la composición de esteroides y tocoferoles, el análisis de los triacilglicerol o sus ácidos grasos constituyentes por cromatografía de gases y otros. La combinación de estas últimas técnicas con la evaluación estadística multivariante de los resultados se ha empleado con este propósito como una herramienta útil y muy sensible.

Los productos lácteos, según las reglamentaciones vigentes, deben ser elaborados con grasa de leche exclusivamente, por lo tanto la adición de grasas de origen no lácteo constituye una adulteración en el producto con el consiguiente fraude al consumidor. La detección de este fraude presenta dificultades que radican en la variabilidad de la composición ácida de la grasa, en el empleo de grasas de características similares a la grasa de leche y en poder detectar bajos porcentajes de adulteración (Timms, 1980; Toppino, 1982; Lercker et al., 1992; Mariani et al., 1994; Pinto, 1996; Duthie et al., 1998; Fox et al., 1998; Ulberth, 1994, 1995; Gazzetta Ufficiale delle

Comunità Europee, 1995; Molkentin and Precht, 2000).

Con el propósito de caracterizar la grasa láctea de una importante cuenca lechera de la República Argentina y emplear los resultados en la detección de posibles adulteraciones en productos lácteos, se utilizó el análisis de los ácidos grasos totales por cromatografía gaseosa procesándose los resultados por medio de regresión lineal múltiple con selección de variables por stepwise.

Para ello se trabajó con muestras genuinas de grasas de leche y de otras materias grasas que podrían ser utilizadas como adulterantes. Como materias grasas vegetales se seleccionaron los aceites de girasol y soja debido a su elevada producción en nuestro país y a su relativamente bajo costo. El aceite o grasa de coco (CAA, 2003) se eligió por ser una grasa vegetal con perfil distinto a otros aceites vegetales en cuanto a su composición predominante en ácidos grasos de menor peso molecular, a pesar de que es un producto de muy baja producción y consumo en nuestro país. Las materias grasas animales seleccionadas fueron de origen vacuno y porcino, debido a que son muy económicas y a que su producción también es alta.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Para considerar la variación estacional se analizaron 50 muestras de grasa láctea genuinas obtenidas durante el período 2002 – 2003, pertenecientes a la cuenca lechera central de la zona de Santa Fe (República Argentina). Como adulterantes se emplearon 10 muestras comerciales de aceites de girasol y de soja de primera línea, 3 muestras comerciales de grasa de coco, 10 muestras de grasa vacuna y 10 de porcina. Las mismas muestras se usaron para obtener un perfil promedio de ácidos grasos para cada adulterante ensayado. También se trabajó con otras muestras de grasa láctea y de las grasas adulterantes, a las que se les aplicaron las ecuaciones obtenidas.

Las grasas se fundieron a 50 – 60°C, se dejaron en reposo 2h y se filtraron (FIL – IDF, 7 A:1969), adicionándose sulfato de sodio anhidro para facilitar la clarificación. Los aceites solo fueron filtrados. Las materias grasas anhidras se conservaron a –18°C hasta el momento del análisis.

El perfil de ácidos grasos totales ($C_{4:0}$, $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{10:1}$, $C_{12:0}$, $C_{14:0}$, $C_{14:1}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:2}$, $C_{18:3}$, $C_{18:2\text{ conj}}$), se determinó aplicando el método de transesterificación en medio ácido con etanol absoluto-ácido sulfúrico y cuantificación de los ésteres etílicos por cromatografía de gases, de acuerdo a lo descrito en un trabajo anterior (Rebecchi et al., 2003).

Se empleó un cromatógrafo de gases, Perkin-Elmer XL series 9000, equipado con un sistema de inyección split – splitless, un detector de ionización de llama (FID) y acompañado de un PC con software

TurboChrom v.4.0 que permitió la adquisición y procesamiento de datos. Se utilizó una columna capilar con una fase estacionaria de polaridad intermedia, PE-Wax (30m x 0,25 mm diámetro interno x 0,25 μm espesor film).

Como estándares internos se usaron disoluciones etanólicas de ácido enántico ($C_{7:0}$), y de ácido margárico ($C_{17:0}$).

Los perfiles de las mezclas de las grasas lácteas con las distintas materias grasas adulterantes se establecieron matemáticamente mediante balances de masa, aplicando la siguiente relación a cada uno de los ácidos grasos estudiados:

$$\% \text{AG}_n \text{ (en mezcla)} = \% \text{GL} \times \text{AG}_n \text{ (en la grasa láctea)} + \% \text{A} \times \text{AG}_n \text{ (en la grasa adulterante)}$$

Donde AG_n , son los gramos del ácido graso «n» por gramo de grasa; %GL, es el porcentaje de grasa de leche genuina en la mezcla y % A, es el porcentaje del adulterante empleado en la mezcla.

De esta forma se calcularon para cada grasa adulterante los perfiles correspondientes a mezclas de cada uno de los perfiles de las 50 muestras de grasas lácteas con 2, 5 y 10% de adición de aceite de girasol, de soja y de coco, y con 2, 5, 10 y 15% de grasa vacuna y porcina, teniendo en cuenta los perfiles promedio obtenidos para cada materia grasa adulterante. Los resultados se agruparon en 5 matrices, una por cada materia grasa ensayada como adulterante.

Aplicando el análisis de Regresión Lineal Múltiple con selección de variables por Stepwise a las matrices obtenidas se obtuvo una función matemática para cada materia grasa adulterante, que relacionó el porcentaje de adulteración (%A, variable respuesta o predictora) con los ácidos grasos seleccionados para cada matriz (C_n , variables independientes), de acuerdo al siguiente modelo general:

$$\% \text{A} = b_0 + b_1 C_{4:0} + b_2 C_{6:0} + b_3 C_{8:0} + b_4 C_{10:0} + b_5 C_{10:1} + b_6 C_{12:0} + b_7 C_{14:0} + b_8 C_{14:1} + b_9 C_{15:0} + b_{10} C_{16:0} + b_{11} C_{16:1} + b_{12} C_{18:0} + b_{13} C_{18:1} + b_{14} C_{18:2} + b_{15} C_{18:2\text{conj}} + b_{16} C_{18:3}$$

Las ecuaciones obtenidas se validaron con el método de validación interna o cruzada (cross-validation) (Myers, 1986; Hair et al., 2001; Massart et al., 1988) y con otras muestras diferentes a las empleadas en la etapa de calibración, muestras de grasas lácteas genuinas y mezclas de las mismas obtenidas por balance de masa.

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el software Statistix 7.0 (Analytical Software, Tallahassee, FL, Estados Unidos) y The Unscrambler, versión 7.6 (CAMO ASA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla I se presentan las concentraciones promedio, las desviaciones estándar y los valores mínimos y máximos en $\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ de grasa para los distintos ácidos grasos identificados en las 50 grasas lácteas genuinas analizadas.

Tabla I
Concentraciones (g 100g⁻¹ grasa) de ácidos grasos obtenidas para grasas lácteas genuinas (n = 50)

Ácido graso	Valor promedio	Desv. Est.	Valor Mínimo	Valor Máximo
C _{4:0}	3,93	0,36	3,29	4,98
C _{6:0}	1,79	0,14	1,47	2,02
C _{8:0}	1,20	0,12	0,96	1,43
C _{10:0}	2,66	0,39	1,88	3,42
C _{10:1}	0,24	0,03	0,17	0,30
C _{12:0}	3,18	0,49	2,17	4,19
C _{14:0}	8,50	0,69	7,16	9,80
C _{14:1}	0,64	0,08	0,43	0,76
C _{15:0}	0,98	0,10	0,79	1,17
C _{16:0}	24,58	0,80	21,90	25,93
C _{16:1}	1,06	0,07	0,90	1,25
C _{18:0}	11,20	0,96	9,67	14,60
C _{18:1}	22,31	1,52	19,17	25,62
C _{18:2}	1,94	0,28	1,45	3,03
C _{18:3}	0,58	0,16	0,16	0,86
C _{18:2 conj.}	1,08	0,19	0,64	1,44

Estos perfiles individuales de las grasas lácteas genuinas junto a los perfiles experimentales promedio de las 5 materias grasas consideradas como adulterantes, se usaron para calcular por balances de masa los perfiles de mezclas de las 50 grasas lácteas genuinas con los distintos niveles de los adulterantes, que fueron agrupados en 5 matrices de datos (datos no presentados). Las ecuaciones obtenidas por RLM stepwise de las 5 matrices, se muestran en la Tabla II.

Para los adulterantes vegetales y la grasa porcina (ecuaciones 1 - 4) se obtuvieron buenos coeficientes de determinación ajustados para la etapa de calibración, correspondiendo el valor menor para la grasa vacuna (ecuación 5), lo que demuestra que los modelos de RLM stepwise son aceptables estadísticamente. El coeficiente de determinación de predicción obtenido por el método de validación cruzada, $R_{pred.}^2$, refleja la buena capacidad de predicción de los modelos obteni-

dos fundamentalmente para los vegetales (Myers, 1986; Hair et al., 2001; Massart et al., 1988).

Las ecuaciones 1 a 5 se aplicaron a 3 muestras de grasas de primera línea, obtenidas de leche, de crema de leche y de manteca o mantequilla (CAA, 2003); y a mezclas calculadas por balances de masa de estas grasas genuinas con 2, 5, 10 y 15% de grasas vacunas y porcinas, y con 2, 5 y 10% de aceites de girasol, soja y coco. Para las mezclas con grasas animales se utilizaron 5 muestras de cada grasa animal y para las vegetales, debido a que los perfiles obtenidos fueron muy similares para cada caso, se empleó un perfil promedio de 3 muestras para el aceite de coco y de 5 muestras para los aceites de soja y girasol. Los resultados de los porcentajes de adulteración calculados con dichas ecuaciones se muestran en las Tablas III, IV y V, donde se resaltan los valores obtenidos que corresponden al adulterante empleado.

Tabla II
Ecuaciones obtenidas por Regresión Lineal Múltiple Stepwise para mezclas de grasas lácteas con distintos adulterantes

Adulterante (aceites o grasas)	Ecuación obtenida por RLM Stepwise	Intervalo de confianza	Ra ² (C)	R _{pred.} ² (VC)
Girasol (1)	$3,33276 - 5,25665 C_{8,0} - 0,59488 C_{10,0} + 13,6927 C_{10,1} + 2,01731 C_{15,0} - 0,35914 C_{18,0} + 1,69905 C_{18,2}$	± 0,39	0,9973	0,9971
Soja (2)	$3,30283 - 5,23450 C_{8,0} - 0,559116 C_{10,0} + 13,6496 C_{10,1} + 2,00676 C_{15,0} - 0,35648 C_{18,0} + 1,69103 C_{18,2}$	± 0,38	0,9973	0,9973
Coco (3)	$0,21265 - 0,13922 C_{4,0} + 0,61365 C_{6,0} + 3,38696 C_{8,0} - 2,80825 C_{10,0} - 4,36882 C_{10,1} + 1,56240 C_{12,0} - 0,04246 C_{16,0} - 0,01712 C_{18,0} - 0,07275 C_{18,3}$	± 0,10	0,9999	0,9998
Porcina (4)	$16,3334 + 8,56303 C_{6,0} - 44,1732 C_{8,0} + 69,3418 C_{10,1} + 2,82547 C_{12,0} + 1,24362 C_{14,0} - 30,0209 C_{14,1} + 7,48226 C_{15,0} - 3,72360 C_{18,0} + 1,22923 C_{18,1} + 6,94722 C_{18,2} - 3,91342 C_{18,3}$	± 1,79	0,9722	0,9705
Vacuna (5)	$- 20,9383 + 4,18238 C_{4,0} - 20,6109 C_{6,0} - 79,3238 C_{8,0} + 79,4436 C_{10,0} - 36,3267 C_{12,0} - 4,93459 C_{14,0} + 40,2740 C_{14,1} + 0,71280 C_{16,0} + 18,5812 C_{16,1} + 1,73690 C_{18,0} - 1,24143 C_{18,2} + 7,06532 C_{18,3}$	± 3,94	0,8463	0,8437

Ra²: coeficiente de determinación ajustado; R_{pred.}²: coeficiente de determinación de predicción obtenido por validación cruzada; C: calibración; VC.: validación cruzada.

Para las tres muestras de grasas lácteas genuinas se obtuvieron, con las 5 ecuaciones, valores que se encuentran dentro de los intervalos de confianza calculados para las mismas.

Para las mezclas con aceites de soja o girasol, con la aplicación de las ecuaciones 1 y 2, se obtuvieron en todos los niveles valores de porcentajes de adulteración similares a los teóricos para ambos aceites adulterantes, y aunque no se puede discernir entre ellos se verifica la presencia de este tipo de aceite vegetal. La aplicación de la ecuación 3 de grasa de coco, dio valores cercanos a cero para estos casos. Cuando se empleó la ecuación 4 correspondiente a la adulteración con grasa porcina se obtuvieron altos valores positivos, por ej.: mayores al 20 y 40% para los niveles del 5 y 10% de los aceites adulterantes. Esta situación que puede inferir erró-

neamente la presencia de grasa porcina se resuelve ya que con el empleo de la ecuación 5 correspondiente a grasa vacuna se obtuvieron en la mayoría de los casos valores negativos o ligeramente positivos, mientras que si la adulteración hubiese sido con grasa porcina con la aplicación de la ecuación 5 se hubieran obtenido valores positivos muchas veces cercanos a los teóricos, por lo que se descarta la presencia de grasa animal.

Para las mezclas adulterantes con aceite o grasa de coco, con la aplicación de las ecuaciones 1, 2, 4 y 5 se obtuvieron valores negativos y con la ecuación 3 se puso en evidencia la adulteración realizada.

En el caso de mezclas con grasa porcina, con la ecuación 4 que es la que corresponde aplicar en este caso, se obtuvieron valores similares a los teó-

Tabla III
Resultados obtenidos de la aplicación de las ecuaciones 1 a 5 a la grasa de leche y a las mezclas con los distintos adulterantes

Muestra de grasa	Porcentaje de adulteración teórico	Porcentaje de adulteración calculado				
		Ecuación 1 Aceite de Girasol	Ecuación 2 Aceite de Soja	Ecuación 3 Aceite de Coco	Ecuación 4 Grasa porcina	Ecuación 5 Grasa vacuna
G. Leche	0%	0,20	0,20	-0,08	1,07	2,28
G. Leche	2%	2,37	2,36	-0,09	10,28	0,59
+	5%	5,62	5,59	-0,09	24,10	-1,95
A. Girasol	10%	11,04	10,99	-0,09	47,13	-6,18
G. Leche	2%	2,14	2,13	-0,10	8,79	1,82
+	5%	5,05	5,03	-0,12	20,36	1,13
A. Soja	10%	9,90	9,86	-0,16	39,65	-0,02
G. Leche	2%	-0,80	-0,80	1,53	-4,10	-35,30
+	5%	-2,30	-2,29	3,94	-11,85	-91,66
A. Coco	10%	-4,81	-4,79	7,97	-24,77	-185,60
G. Leche	2%	0,49	0,49	-0,10	2,77	3,20
+	5%	0,93	0,92	-0,14	5,32	4,59
G. Cerdo 1	10%	1,65	1,65	-0,19	9,57	6,89
	15%	2,38	2,37	-0,24	13,81	9,20
G. Leche	2%	0,45	0,45	-0,11	2,63	3,78
+	5%	0,83	0,82	-0,14	4,96	6,04
G. Cerdo 2	10%	1,46	1,45	-0,20	8,86	9,81
	15%	2,08	2,07	-0,27	12,75	13,58
G. Leche	2%	0,51	0,51	-0,10	2,92	3,09
+	5%	0,97	0,97	-0,13	5,70	4,30
G. Cerdo 3	10%	1,75	1,74	-0,19	10,33	6,32
	15%	2,52	2,51	-0,24	14,95	8,35
G. Leche	2%	0,42	0,42	-0,11	2,49	3,32
+	5%	0,74	0,74	-0,14	4,61	4,90
G. Cerdo 4	10%	1,29	1,28	-0,20	8,15	7,51
	15%	1,83	1,82	-0,26	11,70	10,13
G. Leche	2%	0,53	0,52	-0,10	3,00	2,81
+	5%	1,01	1,01	-0,12	5,89	3,60
G. Cerdo 5	10%	1,82	1,81	-0,18	10,72	4,92
	15%	2,63	2,62	-0,20	15,54	6,24
G. Leche	2%	0,21	0,21	-0,10	0,91	3,95
+	5%	0,23	0,23	-0,12	0,66	6,46
G. Vaca 1	10%	0,25	0,25	-0,16	0,26	10,65
	15%	0,28	0,27	-0,20	-0,15	14,84
G. Leche	2%	0,21	0,21	-0,10	0,89	4,07
+	5%	0,22	0,22	-0,12	0,62	6,76
G. Vaca 2	10%	0,24	0,24	-0,16	0,18	11,25
	15%	0,26	0,26	-0,20	-0,27	15,73
G. Leche	2%	0,24	0,23	-0,10	0,95	4,22
+	5%	0,29	0,29	-0,13	0,77	7,13
G. Vaca 3	10%	0,37	0,37	-0,17	0,46	11,99
	15%	0,46	0,46	-0,21	0,16	16,85
G. Leche	2%	0,24	0,24	-0,10	1,08	4,00
+	5%	0,30	0,30	-0,12	1,10	6,58
G. Vaca 4	10%	0,41	0,40	-0,16	1,14	10,88
	15%	0,51	0,51	-0,19	1,17	15,19
G. Leche	2%	0,25	0,24	-0,10	1,27	3,94
+	5%	0,31	0,31	-0,12	1,56	6,43
G. Vaca 5	10%	0,42	0,42	-0,16	2,05	10,59
	15%	0,54	0,53	-0,20	2,54	14,74

Tabla IV
Resultados obtenidos de la aplicación de las ecuaciones 1 a 5 a la grasa de crema de leche y a las mezclas con los distintos adulterantes

Muestra de grasa	Porcentaje de adulteración teórico	Porcentaje de adulteración calculado				
		Ecuación 1 Aceite de Girasol	Ecuación 2 Aceite de Soja	Ecuación 3 Aceite de Coco	Ecuación 4 Grasa porcina	Ecuación 5 Grasa vacuna
G. Cr Leche	0%	0,43	0,42	-0,05	1,25	0,61
G. Cr Leche	2%	2,59	2,58	-0,05	10,45	-1,05
+	5%	5,83	5,81	-0,06	24,27	-3,54
A. Girasol	10%	11,24	11,19	-0,06	47,29	-7,68
G. Cr Leche	2%	2,36	2,35	-0,07	8,96	0,18
+	5%	5,27	5,24	-0,09	20,53	-0,46
A. Soja	10%	10,11	10,06	-0,13	39,81	-1,53
G. Cr Leche	2%	-0,58	-0,58	1,56	-3,93	-36,94
+	5%	-2,09	-2,08	3,97	-11,68	-93,25
A. Coco	10%	-4,60	-4,58	8,00	-24,61	-187,11
G. Cr Leche	2%	0,71	0,71	-0,07	2,94	1,56
+	5%	1,14	1,14	-0,10	5,49	3,00
G. Cerdo 1	10%	1,86	1,85	-0,16	9,72	5,39
	15%	2,57	2,56	-0,21	13,96	7,78
G. Cr Leche	2%	0,67	0,67	-0,08	2,80	2,15
+	5%	1,04	1,04	-0,11	5,13	4,46
G. Cerdo 2	10%	1,66	1,65	-0,18	9,02	8,31
	15%	2,27	2,26	-0,24	12,90	12,16
G. Cr Leche	2%	0,73	0,73	-0,07	3,09	1,45
+	5%	1,19	1,18	-0,10	5,87	2,71
G. Cerdo 3	10%	1,95	1,94	-0,16	10,48	4,82
	15%	2,71	2,70	-0,21	15,10	6,93
G. Cr Leche	2%	0,64	0,64	-0,07	2,66	1,69
+	5%	0,96	0,95	-0,11	4,78	3,31
G. Cerdo 4	10%	1,49	1,48	-0,17	8,31	6,01
	15%	2,02	2,01	-0,23	11,85	8,71
G. Cr Leche	2%	0,75	0,74	-0,07	3,17	1,17
+	5%	1,23	1,22	-0,09	6,06	2,01
G. Cerdo 5	10%	2,03	2,02	-0,13	10,87	3,42
	15%	2,82	2,81	-0,17	15,69	4,82
G. Cr Leche	2%	0,43	0,43	-0,07	1,08	2,31
+	5%	0,44	0,44	-0,09	0,83	4,88
G. Vaca 1	10%	0,45	0,45	-0,13	0,42	9,15
	15%	0,47	0,47	-0,17	0,00	13,42
G. Cr Leche	2%	0,43	0,43	-0,07	1,06	2,43
+	5%	0,44	0,43	-0,09	0,79	5,17
G. Vaca 2	10%	0,44	0,44	-0,13	0,33	9,74
	15%	0,45	0,45	-0,17	-0,12	14,31
G. Cr Leche	2%	0,46	0,45	-0,07	1,12	2,58
+	5%	0,50	0,50	-0,09	0,93	5,55
G. Vaca 3	10%	0,58	0,57	-0,14	0,62	10,49
	15%	0,65	0,65	-0,18	0,31	15,43
G. Cr Leche	2%	0,46	0,46	-0,07	1,26	2,36
+	5%	0,52	0,52	-0,09	1,27	4,99
G. Vaca 4	10%	0,61	0,61	-0,13	1,30	9,38
	15%	0,70	0,70	-0,17	1,32	13,76
G. Cr Leche	2%	0,47	0,46	-0,07	1,44	2,30
+	5%	0,53	0,52	-0,09	1,73	4,84
G. Vaca 5	10%	0,63	0,62	-0,13	2,21	9,08
	15%	0,73	0,72	-0,17	2,69	13,32

Tabla V
Resultados obtenidos de la aplicación de las ecuaciones 1 a 5 a la grasa de leche y a las mezclas con los distintos adulterantes

Muestra de grasa	Porcentaje de adulteración teórico	Porcentaje de adulteración calculado				
		Ecuación 1 Aceite de Girasol	Ecuación 2 Aceite de Soja	Ecuación 3 Aceite de Coco	Ecuación 4 Grasa porcina	Ecuación 5 Grasa vacuna
G. Manteca	0%	-0,06	-0,06	0,01	0,22	-0,55
G. Manteca	2%	2,11	2,10	0,01	9,45	-2,19
+	5%	5,37	5,35	0,00	23,39	-4,64
A. Girasol	10%	10,80	10,75	-0,01	46,37	-8,73
G. Manteca	2%	1,89	1,88	-0,01	7,95	-0,95
+	5%	4,80	4,78	-0,03	19,55	-1,56
A. Soja	10%	9,67	9,62	-0,08	38,88	-2,57
G. Manteca	2%	-1,06	-1,05	1,62	-4,93	-38,07
+	5%	-2,55	-2,54	4,03	-12,66	-94,35
A. Coco	10%	-5,04	-5,02	8,06	-25,54	-188,15
G. Manteca	2%	0,24	0,24	-0,01	1,93	0,43
+	5%	0,68	0,68	-0,05	4,51	1,90
G. Cerdo 1	10%	1,42	1,41	-0,10	8,80	4,35
	15%	2,16	2,15	-0,16	13,09	6,80
G. Manteca	2%	0,20	0,20	-0,02	1,79	1,01
+	5%	0,58	0,58	-0,06	4,15	3,36
G. Cerdo 2	10%	1,22	1,22	-0,12	8,09	7,27
	15%	1,86	1,85	-0,19	12,03	11,18
G. Manteca	2%	0,25	0,25	-0,01	2,08	0,32
+	5%	0,73	0,72	-0,05	4,89	1,61
G. Cerdo 3	10%	1,51	1,50	-0,10	9,56	3,78
	15%	2,30	2,29	-0,16	14,23	5,94
G. Manteca	2%	0,16	0,16	-0,01	1,65	0,55
+	5%	0,50	0,49	-0,05	3,80	2,21
G. Cerdo 4	10%	1,05	1,05	-0,12	7,39	4,97
	15%	1,61	1,60	-0,18	10,97	7,73
G. Manteca	2%	0,27	0,27	-0,01	2,16	0,03
+	5%	0,76	0,76	-0,03	5,08	0,91
G. Cerdo 5	10%	1,59	1,58	-0,07	9,95	2,38
	15%	2,41	2,40	-0,12	14,81	3,84
G. Manteca	2%	-0,04	-0,04	-0,01	0,07	1,18
+	5%	-0,02	-0,02	-0,03	-0,15	3,78
G. Vaca 1	10%	0,02	0,02	-0,08	-0,51	8,11
	15%	0,05	0,05	-0,12	-0,87	12,43
G. Manteca	2%	-0,05	-0,05	-0,01	0,05	1,30
+	5%	-0,03	-0,03	-0,03	-0,19	4,08
G. Vaca 2	10%	0,01	0,01	-0,08	-0,59	8,70
	15%	0,04	0,04	-0,12	-1,00	13,33
G. Manteca	2%	-0,02	-0,02	-0,01	0,11	1,45
+	5%	0,04	0,04	-0,04	-0,04	4,45
G. Vaca 3	10%	0,14	0,14	-0,08	-0,31	9,45
	15%	0,24	0,24	-0,13	-0,57	14,45
G. Manteca	2%	-0,01	-0,01	-0,01	0,25	1,23
+	5%	0,06	0,06	-0,03	0,29	3,89
G. Vaca 4	10%	0,17	0,17	-0,07	0,37	8,34
	15%	0,29	0,29	-0,11	0,45	12,78
G. Manteca	2%	-0,01	-0,01	-0,01	0,43	1,17
+	5%	0,06	0,06	-0,03	0,75	3,75
G. Vaca 5	10%	0,19	0,19	-0,08	1,28	8,04
	15%	0,31	0,31	-0,12	1,81	12,34

ricos, con las ecuaciones 1 y 2 valores ligeramente positivos y con la ecuación 3 valores cercanos a cero. El empleo de la ecuación 5 arrojó valores en algunos casos cercanos a los teóricos, por lo que se podría suponer la presencia de grasa vacuna. Sin embargo, como se verá más adelante este adulterante se descarta ya que con el empleo de las ecuaciones 1-4 a las mezclas con grasa vacuna se obtuvieron valores cercanos a cero en todos los casos.

Para las mezclas con grasa vacuna con las ecuaciones 1, 2, 3 y 4 se obtuvieron valores cercanos a cero. La ecuación 5, que es la que corresponde para este tipo de adulteración, dio valores cercanos a los teóricos. Por lo tanto si el adulterante empleado es de origen vacuno, no se observan dificultades para discernir la presencia del mismo, sin embargo no se puede asegurar la adulteración en un nivel del 2% ya que este valor se encuentra comprendido dentro del intervalo de confianza de la ecuación 5.

4. CONCLUSIONES

Las ecuaciones obtenidas en este trabajo mostraron una buena capacidad para la predicción de adulteraciones de grasa láctea con materias grasas de origen animal y vegetal. En la mayoría de los casos analizados fue posible detectar el tipo de adulterante empleado y la proporción utilizada del mismo, debido a que los porcentajes de adulteración calculados fueron similares a los porcentajes teóricos.

Para las adulteraciones con sebo vacuno no se pudo asegurar la presencia de esta grasa extraña cuando los porcentajes de adulteración fueron del 2%.

Con la aplicación de las ecuaciones obtenidas a las mezclas adulteradas se observó la importancia del empleo de una herramienta estadística como la regresión lineal múltiple para poner de manifiesto alteraciones difíciles de predecir utilizando solo el análisis del perfil de los ácidos grasos.

BIBLIOGRAFÍA

CAA, Código Alimentario Argentino. (2003). Art. 538, 553, 554, 585 y 595. De la Canal y Asociados SRL.
Duthie, A., Fox, J., Cavalier, J. and Wulff, S. (1998). Modification of the vermont test for monitoring fat

- adulteration of dairy products. *J. Dairy Sci.*, **71**, 1764 – 1768.
- Fox, J., Duthie, A. and Wulff, S. (1998). Precision and sensitivity of a test for vegetable fat adulteration of milk fat. *J. Dairy Sci.*, **71**, 574 – 581.
- Gazzetta ufficiale delle Comunità europee. (1995). Allegato III. Metodo di riferimento per la rilevazione di grassi estranei nel grasso del latte mediante analisi cromatografica del trigliceridi. L 46/11 – 24.
- Hair, J., Anderson, R., Tatham, R. and Black, W. (2001). Análisis multivariante. Prentice Hall, Madrid.
- Lercker, G., Frega, N., Bocci, F. and Bertacco, G. (1992). Il grasso del latte. l'esame gas cromatografico del triacilgliceroli nell'acertamento della genuinità del burro. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia*, **43**, 95 – 110.
- Mariani, C., Venturini, S. and Contarini, G. (1994). Detection of refined animal and vegetable fats in adulteration of pure milkfat. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **71**, 1381 – 1384.
- Massart, D., Vandeginste, B., Deming, S., Michotte, Y. and Kaufman, E. (1988). Chemometrics: a textbook. Elsevier, New York.
- Molkentin, J. and Precht, D. (2000). Equivalence of packed and capillary gc columns for detection of foreign fat in butter by use of the triglyceride formula method. *Chromatographia*, **52**, 791 – 797.
- Myers, R. (1986). Classical and modern regression with applications. Duxbury Press, Boston, Massachusetts.
- Pinto, C. (1996). Avances en la analítica de la leche y los productos lácteos. *Tecnología Láctea Latinoamericana*, **6**, 35 – 48.
- Rebecchi, S.R., Bernal, S.M., Perotti, M. C. y Zalazar, C.A. (2003). Determinación del perfil de ácidos grasos totales de grasa láctea por cromatografía de gases de ésteres etílicos. Proceedings, V Simposio de la AOAC de la sección de América Latina y el Caribe. Lima, 23 - 26 noviembre.
- Timms, R. (1980). Detection and quantification of non-milk fat in mixtures of milk and non-milk fats. *J. Dairy Res.*, **47**, 295 – 303.
- Toppino, P. (1982). Parametri gas cromatografici di valutazione della genuinità del burro. *Riv. Ital. Sostanze Grasse*, **59**, 592 – 610.
- Ulberth, F. (1994). Detection of milk fat adulteration by linear discriminant analysis of fatty acid data. *J. AOAC International*, **77**, 1326 – 1334.
- Ulberth, F. (1995). Quantitation of foreign fat/milkfat mixtures by multivariate regression analysis of fatty acid data. *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 1556 – 1560.

Recibido: Abril 2004
Aceptado: Noviembre 2004