#### 2008 – AVANCES EN LA INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA EN EL CUCBA ISBN: 978-607-00-2083-4

# Comparación de dos métodos para determinar la autenticidad de la grasa láctea en cumplimiento de la Normatividad Mexicana vigente

Ramón Reynoso Orozco<sup>1</sup>, Salvador Sandoval Olmedo<sup>2</sup>, Mario Noa Pérez<sup>3</sup> Departamento de Biología Celular y Molecular1, Estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia<sup>2</sup>, Departamento de Salud Publica<sup>3</sup>. rreynoso@cucba.udg.mx

#### Introducción.

La normatividad mexicana vigente para el producto leche establece como adulteración Cuando la naturaleza o composición de la leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado, no corresponda a aquellas con las que se denomine, etiquete, anuncie, suministre o cuando no corresponda a las especificaciones establecidas en esta norma oficial mexicana, o cuando la leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado, hayan sido objeto de tratamiento que disimule su alteración o encubran defectos en su proceso o en la calidad sanitaria de las materias primas utilizadas (NOM-155-SCFI -2003 ).

Existen tres grandes grupos de adulterantes utilizados en leche: los destinados a incrementar fraudulentamente su volumen, los usados para disimular su deterioro y los que sustituyen componentes propios de la misma, como la adición de lactosueros en sustitución de sólidos lácteos propios, y de grasa no láctea en sustitución de la grasa butírica. Esta última adulteración resulta económicamente muy atractiva debido al valor comercial de la grasa propia de la leche. La detección de este último tipo de adulteración constituye un problema analítico complejo, ya que la grasa láctea posee una gran cantidad de componentes comunes con otras grasas de origen vegetal y animal, por lo que algunos procedimientos como el perfil de ácidos grasos fallan cuando los niveles de adulteración son inferiores al 20%, mientras la determinación de la presencia de fitosteroles, exclusivos de la grasa vegetal (NMX-F-707-COFOCALEC-2004), resulta costosa y sólo detecta dicho tipo de adulteración. Por esta razón, en la actualidad se recurre a determinar el perfil de triacilgliceroles (TAG) mediante cromatografía gaslíquido con detector de ionización de flama (GCL-FID).

Se han encontrado dificultades al tratar de correlacionar los resultados obtenidos en países de la Unión Europea, que utilizan la técnica de extracción por disolventes, con los obtenidos en México por el método más frecuentemente utilizado, basado en la ruptura de la emulsión de grasa por adición de detergentes. La CEE argumenta que las extracciones de grasa según diversos métodos, entre ellos el BDI con detergente (BDI. 1985), no son adecuados para el análisis de triacilgliceroles, ya que permiten que pasen a la fase grasa cantidades más o menos grandes de fosfolípidos o glicéridos parciales (REGLAMENTOS (CE) N° 2771 1999). Teniendo en cuenta que a la fecha no existe en México una Norma aprobada que establezca un Método de Prueba para determinar el perfil de TAG de forma homogénea, que permita determinar cuando efectivamente la grasa láctea ha sido adulterada, el objetivo de este trabajo fue estudiar dos variantes de métodos para extracción de grasa láctea para análisis de TAG por cromatografía gaslíquido, a fin de realizar su propuesta como Método de Prueba a fin de incluirlo en una

Norma Mexicana que se encuentra en fase de preparación, con el objetivo final de normalizar los criterios analíticos para detectar la adulteración de la grasa láctea.

## Metodología.

Se procesaron 17 muestras de leche cruda y pasteurizada, las cuales se procesaron utilizando los métodos de extracción con detergente (BDI. 1985) y con disolventes (NOM-155-SCFI -2003).

Todas las muestras procesadas por ambos métodos se inyectaron al cromatógrafo de gases por duplicado.

Para el método de extracción con disolventes se utilizó el método descrito en el Anexo A.5 de la NOM-155 (NOM-155-SCFI -2003)., mientras para el método con detergente se aplicó lo descrito por BDI (BDI. 1985). Las condiciones para el análisis cromatográfico fueron: cromatógrafo de gases Varian 3400, columna capilar DB-5 de 6 m x 0.25 mm de diámetro interno y 0,10 μm, de espesor de película de fase estacionaria. El programa de temperaturas fue 250 °C (2 min.) a 8 °C/min. hasta 350 °C (5 min.), y el gas de arrastre (nitrógeno) a 0,078 MPa. El programa fue ajustando hasta lograr porcentajes de área semejantes para todos los estándares. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba t de Student para pruebas pareadas, con el paquete estadístico Sigma 3.0.

### Resultados y discusión.

En el cromatograma mostrado en la Fig.1 se pueden apreciar claramente los 15 picos de interés obtenidos durante la corrida cromatográfica de 19,5 minutos. Los picos cromatográficos corresponden a los TAG: C<sub>28</sub>, C<sub>30</sub>, C<sub>32</sub>, C<sub>34</sub>, C<sub>36</sub>, C<sub>38</sub>, C<sub>40</sub>, C<sub>42</sub>, C<sub>44</sub>, C<sub>46</sub>, C<sub>48</sub>, C<sub>50</sub>, C<sub>52</sub>, C<sub>54</sub>, y C<sub>56</sub> (Figura 1).

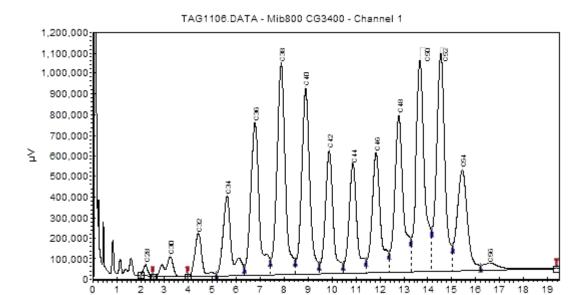


Figura. 1.- Perfil cromatográfico característico de TAG de leche auténtica

Mediante la técnica de extracción con solvente los resultados muestran mayor concentración para los TAG de cadena corta, de  $C_{28}$  hasta  $C_{38}$ ; sin mostrar diferencias estadísticas significativas sólo para  $C_{40}$  al  $C_{44}$ , así como  $C_{56}$ . Sin embargo, se encuentran disminuidos en su concentración para los de cadena larga de  $C_{46}$  a  $C_{54}$  utilizando la técnica de extracción con solvente, donde se obtienen concentraciones menores que con el método con detergente (Figura. 2).

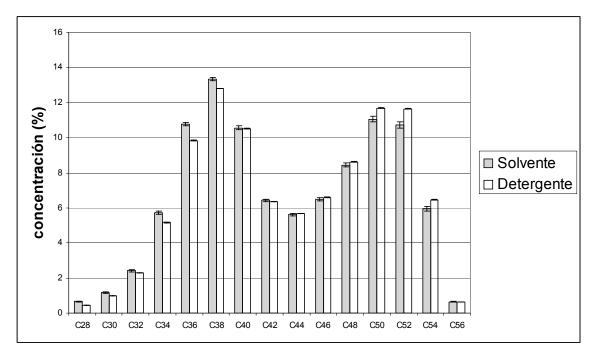


Figura. 2. Perfil de TAG por cromatografía gas- líquido para ambos métodos de extracción. Las marcas  $\pm$  sobre las barras representan el error estándar.

En el cuadro 1 se presentan los resultados cuantitativos, así como su significación estadística. Los TAG que presentan mayor concentración fueron respectivamente  $C_{52}$ ,  $C_{50}$  y  $C_{38}$  y en menores proporciones los TAG de menor peso molecular  $C_{28}$  y  $C_{30}$ .

Cuadro 1. Resultados del análisis de perfiles de TAG obtenidos para ambos métodos de extracción

Tipo de	Diferencia	Técnica de Extracción		
Triglicérido	(%)	(PROMEDIO)		Valor de p
		Detergente	Disolventes	·
$C_{28}$	36.67	0.41	0.65	<0.0001
$C_{30}$	19.20	0.94	1.17	<0.0001
$C_{32}$	5.32	2.27	2.40	0.0078
$C_{34}$	11.41	5.09	5.74	<0.0001
$C_{36}$	10.28	9.78	10.9	<0.0001
$C_{38}$	5.51	12.88	13.63	<0.0001
$C_{40}$	2.09	10.49	10.71	X
$C_{42}$	1.39	6.23	6.32	X
C <sub>44</sub>	-0.93	5.54	5.48	X
C <sub>46</sub>	-2.81	6.44	6.27	0.0224
$C_{48}$	-4.46	8.61	8.24	0.0192
$C_{50}$	-7.20	11.78	10.99	<0.0001
$C_{5^2}$	-10.32	11.94	10.82	<0.0001
C <sub>54</sub>	-11.59	6.62	5.93	<0.0001
C <sub>56</sub>	11.70	6.62	0.73	X

Nota: Resultados del análisis estadístico mediante la prueba t de student para pruebas pareadas, "x" significa que no existe diferencia estadística significativa.

Debido a lo costoso del método de extracción con disolventes en reactivos y horas/hombre por muestra, en América Latina y en México en específico, se ha utilizado en numerosas ocasiones el método BDI (1) con algunas modificaciones, y ya a la fecha ya se han reportado numerosos estudios que han permitido caracterizar los perfiles de TAG

en grasa láctea en diferentes regiones de México y en productos lácteos (2,3,7), pero no se habían comparado diferentes tipos de extracción de grasa para dicho análisis.

#### Conclusiones.

La extracción de grasa mediante los métodos de detergente y con disolvente, para la determinación del perfil de TAG en muestras de leche proporciona resultados estadísticamente diferentes para la mayoría de los TAG analizados, por lo que los perfiles obtenidos para una misma grasa láctea difieren entre si. Por lo que no se recomienda realizar comparaciones entre estudios de perfiles de TAG obtenidos por métodos diferentes. Debido al bajo costo del método de detergente en comparación con el de disolventes, así como la existencia de numerosos reportes a nivel nacional utilizando el primero, se recomienda incluirlo en el Anteproyecto de Norma Mexicana de Método de Prueba correspondiente, especificando la limitación encontrada en la comparación con datos obtenidos por otros métodos.

## **Bibliografía**

**BDI.** 1985: Standard methods for the examination of dairy products. 15th *Am. Pub. Health Assoc.* Inc. New York, pp. 327-329.

Díaz, G., R. Gutiérrez, N. Pérez, S. Vega y León, M. González, G. Prado, G. Urbán, A. Ramírez, y M. Pinto. 2002. Detección de adulteraciones en la grasa de leche pasteurizada mexicana. Rev. Salud Anim. 24: 54-59.

Gutiérrez, R., G. G. Díaz, S. Vega y León, I. Méndez, G. H. J. Delgadillo, F. N. Pérez, y C. M. Pinto. 2004. Determinación de los niveles de triacilgliceroles (% p/p) presentes en grasas de origen animal y vegetal. Agro Sur 32: 68-75.

**NMX-F-707-COFOCALEC-**2004. Sistema producto leche-Determinación de fitosteroles en leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado, queso, crema y mantequilla, por cromatografía de gases-Método de prueba.

**NOM-155-SCFI**-2003: Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Denominaciones, especificaciones físico- químicas y métodos de prueba.

**REGLAMENTOS (CE) N° 2771 (1999) del 16 de diciembre** de 1999. Anexo II: Método de referencia para la detección de grasas extrañas en la grasa de la leche mediante análisis de triglicéridos por cromatografía de gases- revisión 1. L 333/23- L 333/36.

Vega, S., N. Pérez, M. Pinto, G. Díaz-González, R. Gutiérrez, G. Urbán, M. M. González, G. Prado, y A. Ramírez 1999. Composición en ácidos grasos y triglicéridos de leche pasteurizada comercializada en la Ciudad de México. Rev. Salud Anim. 21: 1-4.