

DETECCION DE ADULTERACION DE LECHE CON SUERO MEDIANTE LA RELACION PROTEINA SERICA/CASEINATO

Detection of milk adulteration with whey by the seric protein/casein relation

Jose G. Fana R. *

Luis A. Boscan F. **

* Facultad de Ciencias Veterinarias.
Universidad del Zulia,
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

** Facultad Farmacia.
Universidad de Los Andes,
Mèrida, Estado Merida, Venezuela

RESUMEN

La adulteración de la leche con suero de queso o en polvo reconstituido se ha hecho frecuente en nuestro medio, necesitándose de un método rápido y confiable para detectarla. En tal sentido, se ensayó establecer los valores normales de la relación proteína sérica (%) / caseína (%), (PS/C) como referencia básica y determinar la adulteración mediante su comparación con la relación PS/C medida en la muestra problema. Los porcentajes de proteína total, sérica y caseína se determinaron por el método de Kjeldahl y también la proteína total con un Promilk MKII; el porcentaje de caseína mediante la técnica de doble titulación acidimétrica de Walker (Sorensen) y la proteína sérica por diferencia. El estudio comparativo estadístico de los resultados obtenidos por los métodos utilizados mediante pruebas de "t" Student y análisis de variancia, demostró que no existe diferencia significativa ($P < 0.05$) entre ellos, por lo cual es preferible utilizar los métodos más rápidos para proteína total y caseína, respectivamente el Promilk MKII y la doble titulación acidimétrica, calculándose la proteína sérica por diferencia. Se estableció el valor normal de la relación PS/C en leches comerciales (pasteurizadas) producidas en Maracaibo como 0.22 ± 0.025 . La adulteración sistemática de leche con suero ($X + \%$) ocasionó un incremento lineal de la relación PS/C (Y) según el modelo $Y = 0.0186 + 0.228X$ con un $r = 0.88$. Ello demuestra la factibilidad de emplear este procedimiento para detectar la adulteración señalada, el cual se recomienda para su adopción a la norma COVENIN.

Palabras claves: Adulteración, leche, suero, proteína, análisis.

ABSTRACT

The adulteration of milk by the addition of liquid or reconstituted dried whey is frequent in our entourage. A rapid and reliable method is required for its detection without expensive instruments. In this work, the normal seric protein/casein relation (SP/C) of milk samples was compared with the SP/C measured the adulterated samples. Total protein, seric and casein were determined by the Kjeldahl's method. As alternative methods, total protein was measured by using a Promilk MK II; casein by the Walker's technique (Sorensen's) based on acidimetric double titration, and seric protein by difference calculation. Statistical comparison of the results obtained by the methods use with test of "t" Student and analysis of varianza showed no significative difference ($P < 0.05$) between those methods. Therefore, it seems convenient to use the more rapid methods: the Promilk MK II (total protein) and the Walker's technique (C). The normal SP/S relation of commercial pasteurized milks produced in Maracaibo was 0.22 ± 0.025 . The systematic adulteration of milk by whey addition ($X =$ percentage of added whey) produced a linear increase of the SP/C relation (Y) according to the following model: $Y = 0.0189 + 0.228X$ with a value $r = 0.88$. This obviously demonstrated the factibility of using that procedure for detecting milk adulteration. Recommendations are made to the Venezuelan Commission of Industrial Standards (COVENIN) for the adoption of this method in our country.

Key words: Adulteration, milk, whey, protein, analysis.

INTRODUCCION

La adulteración de la leche con suero es frecuente en Venezuela. Este fraude es difícil de reconocer cuando los contenidos de sólidos totales y de grasa en la leche son elevados, como ocurre en las zonas de alta producción del Estado Zulia^(3,10) y en ciertos rebaños de ganado criollo o

TABLA I
MÉTODOS UTILIZADOS EN EL PRESENTE TRABAJO

Análisis	Método	Referencias*
Proteínas totales (%)	Macrokjeldahl Promilk	(2) (4) (4)
Caseína (%)	Precipitación Macrokjeldahl ácida Sorensen	(4) (4)
Proteína sérica (%)	Por diferencia	
Grasa (%)	Milkotester MK II	(2) (4)
Sólidos Totales (%)	Desecación en estufa (100°)	(2)
Punto de congelación (°C)	Crioscopio Advanced	(2)
Cloruros (%)	Mercurimetría	(6)
Acidez	Acidimetría	(2)
pH	Potenciometría	(4)

* Referencias bibliográficas.

mestizo de las zonas altas del Estado Mérida, Sánchez y col.^[8] del Estado Trujillo, Santiago^[10] y del centro del país^[1]. El elevado contenido de sólidos y grasa, que con frecuencia supera cifras del 13% y 4,5% respectivamente^[3], permite adicionar a la leche, cierta cantidad de suero de quesería original o reconstituido por disolución de suero en polvo comercial, en una proporción considerable, dado que existen márgenes favorables en los contenidos porcentuales de esos componentes en comparación con los estándares nacionales. Así, la Norma COVENIN-903^[5] apenas exige para la leche cruda, un 12% de sólidos totales y 3,2% de grasa, lo cual fácilmente permite la adulteración, sin que el producto viole esas especificaciones normativas.

La situación se agrava si se considera que el aguado de la leche se determina mediante la medición del punto de congelación, el cual es una constante fisiológica que depende fundamentalmente de las sustancias disueltas, en este caso de la lactosa y sales minerales^[11], las cuales son precisamente los componentes de la leche que se mantienen en el suero de quesería. De allí que el fraude de la leche por adición de suero no sea detectado por ese método.

Lo anterior plantea la necesidad de establecer un método rápido y confiable, para detectar el citado fraude. El objetivo del presente trabajo es presentar, como tal, a la determinación de la relación proteína sérica/caseína de la leche y su comparación con los valores normales de esa relación, establecidos en la zona de producción correspondiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Las muestras de leche cruda utilizadas fueron reco-

lectadas de la Hacienda "La Púa", ubicada en la Villa del Rosario, Distrito Perijá del Estado Zulia, seleccionadas de rebaños de alto mestizaje y de comprobada salud, para garantizar la normalidad de las muestras.

El suero empleado para adulterar las muestras se adquirió en el mercado local, en forma desecada, empaclado en bolsas plásticas de 25 Kg. El polvo se disolvió en agua hasta obtener una concentración similar al suero de quesería original, es decir, 6,8% de sólidos totales^[10].

Selección de los métodos

La TABLA I presenta los métodos aplicados en los análisis de las muestras de leche cruda, para conocer sus características iniciales y luego de su adulteración sistemática con suero y con leche en polvo.

Dado que un objetivo fundamental del trabajo es recomendar técnicas sencillas y prácticas que puedan emplearse a nivel de los laboratorios de las receptorías lecheras, en analizar proteínas totales y caseína, para las primeras se ensayaron los métodos de Kjeldahl y por precipitación con colorantes (negro de amido) en un Promilk MK II (A/S N. Foss Electric, Hillerd, Dinamarca), mientras que para la caseína se ensayaron las técnicas de precipitación ácida, seguida de análisis del precipitado, en su contenido proteico, por el método Kjeldahl y la alternativa de la doble titulación acidimétrica con formaldehído de Sorensen.

Análisis estadístico

A fin de conocer la precisión y exactitud de los métodos anteriores, se tomaron como bases los coeficientes de variación calculados con los resultados de análisis repetitivos sobre las mismas normas muestras para la primera, y los datos del análisis de regresión y correlación

TABLA II

RESULTADOS DE LA DETERMINACION REPETIDA DE CASEINA EN TRES MUESTRAS DE LECHE MEDIANTE LOS METODOS DE PRECIPITACION ACIDA/KJELDAHL Y TITULACION DE SORENSEN. EXPRESADOS EN TERMINOS DE MEDIA (X). DESVIACION ESTANDAR (S) Y COEFICIENTE DE VARIACION (CV %)

Métodos ^a	Muestra 1		Muestra 2		Muestra 3		CV %
	$\bar{X} \pm S$	CV %	$\bar{X} \pm S$	CV %	$\bar{X} \pm S$	CV %	Promedio
Kjeldahl	2,3 ± 0,485	21,2	2,3 ± 0,245	10,5	2,4 ± 0,190	7,8	13,2
Sorensen	2,5 ± 0,127	5,0	2,2 ± 0,136	6,2	2,4 ± 0,291	11,2	7,7

a La prueba de "t" de Student demostró diferencia no significativa ($P < 0,05$) entre las medias de la misma muestra.

lineal, entre las concentraciones de suero agregadas y medidas, para la segunda.

Los datos obtenidos sobre las muestras originales y adulteradas con suero o con leche en polvo, se agruparon para obtener las medidas de centramiento y dispersión: media (\bar{X}), desviación estándar (S) y coeficiente de variación porcentual (CV%), cuyas diferencias se establecieron mediante análisis de la varianza y pruebas de significancia para diferencias de medias ("t" de Student).

RESULTADOS Y DISCUSION

Selección de los métodos

Al inicio del presente estudio se seleccionaron los métodos más apropiados para las determinaciones de

proteínas totales y caseína. En el primer caso se optó por la técnica del Promilk MK II, sencillo aparato danés, por ser mucho más rápido que la técnica de Kjeldahl convencional, la cual no se descarta en caso de no disponer de ese instrumento. El Promilk MK II permite analizar hasta 60 muestras por hora con una exactitud de 0,045% requiriendo de sólo 20 ml de solución de negro de amido por muestra^[4].

Para la determinación de caseína se ensayaron los métodos de Kjeldahl y de Sorensen. La TABLA II contiene los resultados obtenidos en 5 análisis repetidos de 3 muestras diferentes de leche cruda, empleando ambas técnicas. Se obtuvieron resultados sin diferencias significativas ($P < 0,05$) para las mismas muestras en los dos métodos. Siendo la precisión de la técnica de Sorensen aparentemente mejor, de acuerdo a los coeficientes de variación medios obtenidos (7,7 vs. 13,2%) y considerando que el método de Sorensen es mucho más sencillo,

TABLA III

CARACTERISTICAS FISICO-QUIMICAS PROMEDIO DE LAS MUESTRAS DE LECHE ANTES Y DESPUES DE LA ADULTERACION CON 5, 10 Y 15% DE SUERO EN POLVO RECONSTITUIDO EN COMPARACION CON LAS NORMAS DE COVENIN

Características	0	% de Adulteración			Norma COVENIN 903-87
		5	10	15	
Proteínas totales (%)	3,18	3,06	2,95	2,85	3,0
Caseína (%) (Sorensen)	2,56	2,19	1,99	1,85	—
Proteína sérica (%)	0,62	0,87	0,96	1,00	—
Grasa (%)	4,3	3,8	3,8	3,6	3,2
Sólidos totales (%)	13,1	12,6	12,4	12,3	12,0
Punto de congelación (°C)	— 0,540	— 0,544	— 0,557	— 0,567	— 0,540 / - 0,555
Cloruros (%)	0,070	0,077	0,077	0,088	0,07 - 0,12
Acidez (ml NaOH 0,1 N %)	16,0	19,7	21,0	21,9	16,0 - 19,0
pH	6,51	6,51	6,52	6,50	—

TABLA IV

RESULTADOS PROMEDIOS DEL CONTENIDO DE PROTEINAS TOTALES, CASEINA, PROTEINAS SERICAS Y RELACION PROTEINA SERICA/CASEINA OBTENIDOS EN CINCO MUESTRAS DE LECHE CRUDA ADULTERADAS CON SUERO RECONSTITUIDO

Adulteración (%)	Proteínas Tot. $\bar{X} \pm S$	Caseína $\bar{X} \pm S$	Proteínas séricas $\bar{X} \pm S$	Relación PS/C ^a $\bar{X} \pm S$
0	3,18 ± 0,07	2,46 ± 0,22	0,70 ± 0,15	0,22 ± 0,025
5	3,06 ± 0,07	2,19 ± 0,19	0,85 ± 0,18	0,33 ± 0,111
10	2,95 ± 0,05	1,99 ± 0,16	0,94 ± 0,16	0,42 ± 0,090
15	2,85 ± 0,05	1,85 ± 0,12	0,97 ± 0,14	0,49 ± 0,120

a La diferencia entre las medias de la relación proteína sérica/caseína (PS/C) obtenida para los diversos porcentajes de adulteración dio muy significativa al análisis de la varianza ($P < 0,01$) y a la prueba de "t" ($P \leq 0,05$).

rápido y económico, se optó por su selección para el análisis de caseína.

Detección de la adulteración con suero

Con el objeto de conocer cuantitativamente el efecto de la adición de suero sobre las principales características de la leche, se adulteraron sistemáticamente 5 muestras en la proporción de 5, 10 y 15%. La TABLA III presenta los resultados promedios. Se nota que los sólidos totales, la grasa y los cloruros, aun después de la máxima adulteración (15%) se mantienen dentro de las normas respectivas; incluso la acidez y el punto de congelación se mantienen en valores que podrían tener justificación para su aceptación. Únicamente las proteínas totales se ven ligeramente disminuidas por debajo del 3,0 exigido y sólo cuando el porcentaje de adulteración está por encima de 10%.

Profundizando en la utilidad de los diferentes parámetros proteicos, de fácil medición, para la detección de esa adulteración, se midieron también las concentraciones de proteínas totales, caseína, proteínas séricas y la relación proteína sérica/caseína. La TABLA IV contiene los datos obtenidos en términos de media y desviación estándar. Nótese la disminución progresiva, como era de esperarse, de las proteínas totales y la caseína. Sin embargo, esto no puede considerarse concluyente para la adulteración con suero, ya que igual comportamiento puede esperarse en la leche por el simple aguado. Obsérvese además cómo aumentan las proteínas séricas, lo cual es obvio por encontrarse en el suero adicionado. Pero resulta evidente que la mejor correlación se logra con el cociente proteína sérica/caseína porque una aumenta y la otra disminuye, haciéndose el efecto o diferencia mayor. Así, el valor máximo del coeficiente de correlación se obtuvo para esa relación (ver Figura).

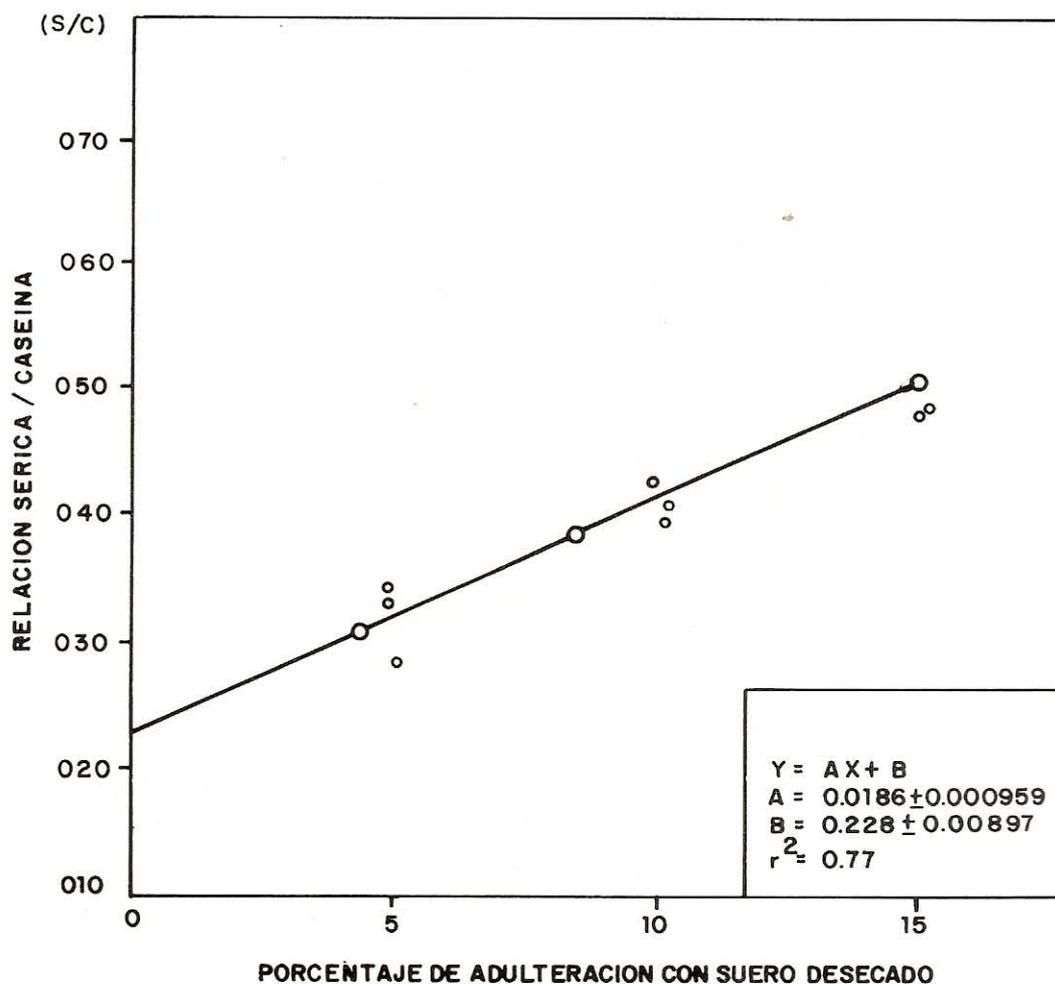
Efecto de la adición de leche en polvo

Dado que en nuestro medio es también frecuente la adulteración con leche en polvo, se realizó un ensayo adulterando 5 muestras de leche cruda con porcentajes de 5, 10 y 15% de leche en polvo reconstituida, para verificar su efecto sobre los parámetros proteicos, particularmente sobre la relación proteína sérica/caseína. La TABLA V contiene los resultados promedios obtenidos, en los cuales se puede apreciar que los porcentajes de proteínas totales, caseína y proteína sérica no se diferencian marcadamente entre sí; y en cuanto a la relación proteína sérica/caseína se observaron ligeras variaciones que resultaron no significativas las pruebas estadísticas, por lo cual es posible concluir que esa relación no se altera significativamente por la adición de leche en polvo reconstituida, pudiendo emplearse para detectar adición de suero.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los resultados expuestos permiten concluir que la determinación de la relación proteína sérica/caseína representa un método relativamente rápido, sencillo, económico, con exactitud y precisión suficientes, aceptable para la detección de adulteración de leche con suero.

Sin embargo, antes de aplicar el método propuesto es necesario establecer las cifras normales de esa relación en la zona de procedencia de la leche. Para la zona del Distrito Perijá, Estado Zulia, objeto de este estudio se obtuvo un valor de 0,22^[7]. Para las zonas altas del Estado Mérida se ha señalado un valor tentativo de 0,23^[9]. Asimismo, debe continuar investigándose sobre esta materia, para determinar los efectos del estado de salud del animal, del procesamiento y otras variables que pudieran afectar esa relación.



ANALISIS DE REGRESION DEL METODO PROPUESTO PARA
 LA DETECCION DE ADULTERACION DE LECHE CON SUERO
 (r = 0,88)

TABLA V

RESULTADOS PROMEDIOS DEL CONTENIDO DE PROTEINAS TOTALES, CASEINA,
 PROTEINAS SERICAS Y RELACION PROTEINA SERICA/CASEINA OBTENIDOS
 EN CINCO MUESTRAS DE LECHE CRUDA ADULTERADAS CON LECHE EN POLVO RECONSTITUIDA

Adulteración (%)	Proteínas Tot. $\bar{X} \pm s$	Caseína $\bar{X} \pm s$	Proteínas séricas $\bar{X} \pm s$	Relación PS/C ^a $\bar{X} \pm s$
0	3,28 ± 0,26	2,4 ± 0,16	0,51 ± 0,09	0,21 ± 0,045
5	3,25 ± 0,25	2,6 ± 0,09	0,52 ± 0,06	0,20 ± 0,024
10	3,39 ± 0,01	2,8 ± 0,07	0,51 ± 0,08	0,19 ± 0,03
15	3,68 ± 0,27	2,5 ± 0,06	0,47 ± 0,01	0,17 ± 0,03

^a La diferencia entre las medias de la relación proteína sérica/caseína (PS/C) obtenida para diversos porcentajes de adulteración dio no significativa

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Andrade, M. Estudios sobre la leche. Caracas. 1940.
- [2] AOAC *Metodos of Analysis*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, USA. 1984.
- [3] Boscán, L. A., Faria, J., Vázquez, L. A. y Chourio, L. A. Contribución al estudio físico-químico de la leche cruda del Sur del Lago de Maracaibo. III Convención Anual de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia. Acta Científica Venezolana 31:155. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Maracaibo. 1978.
- [4] Boscán, L. A. Manual de prácticas de laboratorio de industrias lácteas. Universidad Simón Bolívar, Caracas. 1986.
- [5] COVENIN 903. Leche cruda: requisitos. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Ministerio de Fomento, Caracas. 1987.
- [6] Faria, J. y Boscán, L. A. Selección y proposición de métodos rápidos para la determinación de cloruros en la leche. XXVII Convención Anual de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia. Acta Científica Venezolana 28:147. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo. 1977.
- [7] Hernández, M., Pérez, J. R., Faria, J. y Boscán, L. A. Variación de los valores proteicos en muestras de leche de la región zuliana. XXXVIII Convención Anual de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia, Maracay. Facultad de Ingeniería y Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Maracaibo. 1988.
- [8] Sánchez de Ponte, M. D. Características físico-químicas de la leche cruda producida en las zonas altas del Estado Mérida. Departamento de Ciencia de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 1987.
- [9] Sánchez de Ponte, M. D., Boscán, L. A. y Faria, J. La leche de las zonas altas del Estado Mérida: II. Valores de proteínas totales, séricas y caseína. XXXVIII Convención Anual de la Asociación Venezolana para el Avance de la Ciencia, Maracay. Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida. 1988.
- [10] Santiago, Z. C. Análisis físico-químico de muestras de leche cruda obtenidas en tres queseras del Estado Trujillo. XXXVII Convención Anual de la ASOVAC. Trabajo de ascenso. Departamento de Biología y Química. Núcleo Universitario Rafael Rangel. Universidad de Los Andes, Trujillo. 1987.
- [11] Webb, B. and Johnson, U. A. H. *Fundamentals of Dairy Chemistry*. The AVI Publishing Company Inc., Westport, Connecticut. 1974.