



INLAIN

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

Tesis desarrollada en el
INSTITUTO DE LACTOLOGÍA INDUSTRIAL

“DETERMINACIÓN DE LA GENUINIDAD DE LA GRASA LÁCTEA BOVINA A TRAVÉS DE LA INTERPRETACIÓN ESTADÍSTICA DE ANÁLISIS POR CROMATOGRFÍA GASEOSA”

Autora: Lic. Silvina Roxana Rebechi

Directora: Lic. Susana M. Bernal

Co-director: Ing. Carlos Zalazar

Tesis presentada como parte de los requisitos de la Universidad Nacional
del Litoral para la obtención del grado académico de

MAGÍSTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

SANTA FE

- 2009 -

Agradecimientos

Mi agradecimiento en primer lugar a los miembros del jurado por su interés por el presente trabajo y la deferencia de participar en su evaluación.

A mi directora y codirector de tesis, Lic. Susana Bernal e Ing. Carlos Zalazar, por su orientación y por haber compartido su experiencia y sus conocimientos.

A la Dra. Maria Cristina Perotti, por su colaboración y apoyo en la concreción de este trabajo de tesis y a todos mis compañeros del Instituto de Lactología Industrial que me estimularon durante la realización del mismo.

A la profesora Stella Vaira, del departamento de matemáticas de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, por su importante apoyo en la interpretación estadística de los resultados.

A mi esposo, a mis hijos y a mis padres por todo su amor y apoyo durante la realización de esta tesis.

Resumen

La grasa láctea es un componente valioso de la leche de vaca y es por ello que ha sido objeto de fraudes tales como la adulteración con grasas extrañas. Los índices fisicoquímicos establecidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) con este propósito, y que se fundamentan directa o indirectamente en la composición de los ácidos grasos, no siempre son útiles para detectar bajos niveles de adulteración. Ello se debe a que la concentración de dichos ácidos presentan una importante variabilidad por razones tales como raza, alimentación y estación del año entre otras, que puede enmascarar este tipo de fraudes.

En este trabajo, el que también se basa en el análisis de ácidos grasos de la grasa de leche, se realiza la determinación de los mismos por cromatografía gaseosa, la evaluación de relaciones entre dos o más de ellos y la aplicación de herramientas estadísticas multivariadas, como metodologías de estudio más efectivas para detectar las adulteraciones en bajos niveles.

Con este objetivo se analizaron muestras de grasas lácteas genuinas procedentes de una importante cuenca lechera de la República Argentina, y materias grasas no lácteas de origen animal (grasa vacuna y porcina) y vegetal (aceite de soja, de girasol, y grasa de coco), las que fueron usadas como adulterantes.

Para la determinación del perfil de ácidos grasos se compararon dos metodologías, la saponificación de los triglicéridos con esterificación de las sales formadas, y la transesterificación. Se utilizó como reactivo esterificante para ambos casos la mezcla etanol-ácido sulfúrico, con la que se obtuvieron los ésteres etílicos de los distintos ácidos grasos. Este reactivo fue utilizado para

evitar el empleo de un compuesto tóxico como el metanol, alcohol utilizado en la mayoría de los métodos utilizados por distintos autores.

De estos dos métodos se seleccionó el de transesterificación por su mayor simplicidad y por su menor tiempo de análisis. Los ésteres etílicos obtenidos se cuantificaron por cromatografía de gases con el método de estándar interno, utilizándose para ello los ácidos enántico ($C_{7:0}$) y margárico ($C_{17:0}$). Se determinaron los siguientes ácidos de cadena par de átomos de carbono, $C_{4:0}$, $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{10:1}$, $C_{12:0}$, $C_{14:0}$, $C_{14:1}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:2}$ conj, y $C_{18:3}$, y de cadena impar sólo se determinó el $C_{15:0}$.

En primer lugar, los perfiles de ácidos grasos de las grasas lácteas genuinas se sometieron a un análisis exploratorio. El mismo permitió observar que las muestras tomadas en diferentes estaciones del año no presentaron gran variabilidad, por lo que se las utilizaron en forma conjunta en este estudio.

Con distintos niveles de las materias grasas adulterantes (2, 5, 10 y 15%), se simuló matemáticamente muestras adulteradas de las grasas lácteas, estableciendo la concentración de cada ácido graso en las mezclas mediante balance de masa.

Se estudiaron 22 relaciones de concentración de dos o más ácidos grasos incluyendo 4 relaciones que establece el CAA para grasa de origen animal. Para ello se determinaron los rangos normales de dichas relaciones para las grasas lácteas genuinas. Posteriormente se calcularon las relaciones para las muestras adulteradas y se evaluó la eficiencia de las mismas en la detección de los adulterantes utilizados. Para el agregado de grasas de origen vegetal se encontraron 3 relaciones que resultaron útiles, ya que detectaron un bajo porcentaje de adulteración (2%) en el 100% de las mezclas. Estas relaciones

fueron $C_{14:0}/C_{18:2}$ y $C_{18:2}/C_{8:0}$ para aceite de soja y de girasol, y $C_{12:0}/C_{10:0}$ para grasa de coco. Para el caso de las muestras adulteradas con grasas de origen animal no se obtuvieron relaciones que sirvieran para detectar bajos niveles de adulteración. Solamente dos relaciones ($C_{14:0}/C_{18:2}$ y $C_{18:2}/C_{8:0}$) permitieron detectar el 15% de adulteración en el 100% de las mezclas con grasa porcina y para grasa vacuna el porcentaje detectado fue bajo, menor al 50% para el 15% de adulteración. De esta manera se comprobó que las relaciones establecidas por el CAA para detectar el agregado de grasa animal, no resultaron eficaces para detectar los niveles de adulteración empleados en este estudio.

Con el propósito de mejorar el poder predictivo, especialmente para las grasas animales, se diseñaron modelos matemáticos que relacionaron el porcentaje de adulteración con los perfiles de ácidos grasos utilizando Regresión Lineal Múltiple (RLM). Para ello se construyeron matrices de calibración y de predicción para cada adulterante en las que se combinaron los datos cromatográficos de las grasas lácteas genuinas (0% de adulteración) con los de las mezclas en los distintos niveles de adulteración.

Para obtener el mejor modelo para cada adulterante (buenos coeficientes de determinación, minimización de errores y multicolinealidad reducida) se aplicaron a las matrices de calibración tres métodos de selección: *Backward*, *Stepwise* y *Best subset regression models*.

La ecuación obtenida para cada adulterante se validó aplicándola a la matriz de predicción. Se calcularon los intervalos de predicción para cada muestra y se analizó si dichos intervalos comprendieron o no el nivel de adulteración teórico y el nivel del 0%. Para grasa vacuna se logró detectar la totalidad de las muestras con niveles de adulteración iguales o mayores al 10%, para grasa

porcina niveles mayores al 5%, y para los aceites y grasas vegetales niveles iguales al 2%.

Finalmente, las ecuaciones se aplicaron a otras muestras de grasas lácteas procedentes de leches fluidas, leches en polvo y dulces de leche, detectándose adulteraciones en algunos de estos productos comerciales.

Si bien la presencia de grasas animales en grasa láctea presentó mayor dificultad debido a la similitud de los perfiles de ácidos grasos, se logró mejorar su detección al aplicar técnicas estadísticas multivariadas en comparación con el análisis de las relaciones.

Índice

	Nº
I. Introducción	1
I.1 Características generales de la grasa láctea bovina	4
I.2 Composición de los lípidos de la leche	6
I.3 Ácidos grasos de la grasa láctea	8
I.3.1 Ácidos grasos saturados	10
I.3.2 Ácidos grasos insaturados	10
I.3.3 Otros ácidos grasos	12
I.3.4 Implicancias de las variaciones en la composición de los ácidos grasos	13
I.3.5 Síntesis de los ácidos grasos de la grasa láctea	14
I.4 Lípidos no polares. Triglicéridos	18
I.5 Lípidos polares	21
I.6 Constituyentes Minoritarios	22
I.6.1 Esteroles	22
I.6.2 Carotenoides	22
I.6.3 Vitaminas liposolubles	23
I.6.4 Compuestos del flavor	23
I.7 Consideraciones acerca de la adulteración de grasa láctea	24
I.8 Metodologías analíticas desarrolladas para detectar adulteraciones en grasa de leche	26
I.9 Análisis del perfil de ácidos grasos por Cromatografía Gaseosa	34
I.9.1 Metodologías para obtener ésteres de ácidos grasos	34
I.9.1.a) Hidrólisis (Saponificación)	34
I.9.1.b) Esterificación – Transesterificación	35
I.10 Análisis Multivariado	39
II. Objetivos	41
II.1 Objetivo general	42
II.2 Objetivos particulares	42

III. Materiales y Métodos	44
III.1 Selección de muestras	45
III.1.1 Grasas lácteas	45
III.1.1.1 Tratamiento de las muestras lácteas	46
III.1.2 Grasas no lácteas empleadas como adulterantes	47
III.1.2.1 Tratamiento de las muestras utilizadas como adulterantes	48
III.1.3 Grasas lácteas utilizadas como muestras incógnitas	48
III.1.3.1 Tratamiento de las muestras incógnitas	48
III.2. Análisis y cuantificación de ácidos grasos	48
III.2.1 Método de saponificación y esterificación	49
III.2.2 Método de transesterificación	51
III.2.3 Separación cromatográfica de los ésteres etílicos	52
III.2.4 Selección de la metodología de análisis	54
III.2.5 Cuantificación de los ésteres de ácidos grasos	55
III.2.6 Expresión de resultados	59
III.3 Aplicación de la metodología de Transesterificación	60
III.4 Procesamiento de los resultados	64
III.4.1 Análisis exploratorio de los datos cromatográficos	64
III.4.1.1 Análisis univariado y bivariado	65
III.4.1.2 Análisis Multivariado. Análisis por Componentes Principales	66
III.4.2 Detección de adulteraciones en las grasas lácteas.	67
III.4.2.1 Obtención de las muestras adulteradas	68
III.4.2.2 Análisis de relaciones de ácidos grasos	69
III.4.2.3 Análisis de regresión lineal simple y múltiple.	
Obtención del modelo de predicción	72
III.4.2.3.1 Preparación de las matrices de calibración y de predicción para los distintos adulterantes	79

III.4.3 Aplicación de los modelos a muestras de grasas lácteas incógnitas	82
IV. Resultados y Discusión	83
IV.1 Perfiles cromatográficos de las grasas estudiadas	84
IV.2 Procesamiento de resultados	88
IV.2.1 Análisis previo de los datos	88
IV.2.2 Valores de concentración de ácidos grasos para las grasas lácteas	105
IV.2.3 Composición en ácidos grasos de las grasas adulterantes estudiadas	106
IV.3 Estudios para detectar la adulteración de la grasa láctea	109
IV.3.1 Análisis de relaciones de ácidos grasos para las grasas lácteas	109
IV.3.2 Análisis de relaciones de ácidos grasos para las grasas adulteradas	111
IV.3.2.1 Adulteraciones con grasas de origen animal	112
a) <i>Grasa vacuna</i>	112
b) <i>Grasa porcina</i>	119
IV.3.2.2 Adulteraciones con grasas de origen vegetal	126
a) <i>Aceite de girasol</i>	126
b) <i>Aceite de soja</i>	132
c) <i>Grasa de coco</i>	138
IV.3.3 Análisis de Regresión	144
IV.3.3.1 Diseño experimental de las matrices de calibración	146
a) Matriz de calibración para grasa vacuna	146
b) Matriz de calibración para grasa porcina	146
c) Matriz de calibración para aceite de girasol	146
d) Matriz de calibración para aceite de soja	147
e) Matriz de calibración para grasa de coco	147
IV.3.3.2 Diseño experimental de las matrices de predicción	148

	<i>Índice</i>
f) Matriz de predicción para grasa vacuna	148
g) Matriz de predicción para grasa porcina	148
h) Matriz de predicción para aceite de girasol	148
i) Matriz de predicción para aceite de soja	149
j) Matriz de predicción para grasa de coco	149
IV.3.4 Adulteraciones con grasas animales	150
IV.3.4 a Detección de grasa vacuna	150
<i>a.1 Obtención del modelo de regresión</i>	150
<i>a.2 Validación del modelo de RLM</i>	159
IV.3.4 b Detección de grasa porcina	163
<i>b.1 Obtención del modelo de regresión</i>	163
<i>b.2 Validación del modelo de RLM</i>	170
IV.3.5 Adulteraciones con aceites y/o grasas vegetales	173
IV.3.5 a Detección de aceite de girasol	174
<i>a.1 Obtención del modelo de regresión</i>	174
<i>a.2 Validación del modelo de RLM</i>	180
IV.3.5 b Detección de aceite de soja	183
<i>b.1 Obtención del modelo de regresión</i>	183
<i>b.2 Validación del modelo de RLM</i>	191
IV.3.5 c Detección de grasa de coco	194
<i>c.1 Obtención del modelo de regresión</i>	194
<i>c.2 Validación del modelo de RLM</i>	203
IV.4 Aplicación de los modelos obtenidos a muestras de grasas lácteas incógnitas	208
V. Conclusiones	211
VI. Referencias Bibliográficas	214
VII. Apéndice I	226
VIII. Apéndice II	250

Índice de Tablas	Nº
Introducción	
Tabla I. 1 Principales lípidos de la leche	7
Tabla I. 2 Composición de ácidos grasos de la grasa láctea	9
Tabla I. 3 Composición de triglicéridos de la grasa láctea	19
Materiales y Métodos	
Tabla III.1 Condiciones operativas para la separación de los ésteres etílicos de ácidos grasos por CG	53
Tabla III.2 Comparación de las metodologías de Saponificación y transesterificación	55
Tabla III.3 Parámetros de las curvas de calibrado para cada ácido graso	59
Tabla III.4 Comparación de valores obtenidos con los del laboratorio de referencia	62
Tabla III.5 Relaciones de ácidos grasos propuestas en el CAA para la detección de grasas animales. Rango de variación	70
Tabla III.6 Relaciones de ácidos grasos obtenidas de bibliografía para detectar adulteraciones en la grasa láctea	71
Resultados y Discusión	
Tabla IV.1 Identificación de casos atípicos en las grasas lácteas estudiadas	95
Tabla IV.2 Matriz de correlación de las 64 grasas lácteas	96
Tabla IV.3 Porcentajes de varianza explicada	97
Tabla IV.4 Matriz de cargas factoriales	99
Tabla IV.5 Comunalidades para 5 Pc`s	100

Tabla IV.6 Valores en g de ácidos grasos 100^{-1} g grasa para las grasas lácteas	105
Tabla IV.7 Valores en g de ácidos grasos 100^{-1} g grasa para las grasas utilizadas como adulterantes	107
Tabla IV.8 Relaciones de ácidos grasos calculadas para las grasas lácteas	110
Tabla IV.9 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los límites establecidos	114
Tabla IV.10 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea	118
Tabla IV.11 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los límites establecidos	121
Tabla IV.12 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea	125
Tabla IV.13 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea	131
Tabla IV.14 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea	137
Tabla IV.15 Porcentajes de muestra que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea	143
Tabla IV.16 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa vacuna	151
Tabla IV.17 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward	152
Tabla IV.18 Modelo de 12 variables obtenido por backward	153
Tabla IV.19 Modelo de 7 variables obtenido por best subset regression models	156
Tabla IV.20 Modelo de 6 variables obtenido por best subset regression models	157

Tabla IV.21 Modelo de 5 variables obtenido por best subset regression models	158
Tabla IV.22 Resultados obtenidos para la validación externa	160
Tabla IV.23 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa porcina	164
Tabla IV.24 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward	165
Tabla IV.25 Modelo de 13 variables obtenido por backward	166
Tabla IV.26 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar grasa porcina	167
Tabla IV.27 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por stepwise	168
Tabla IV.28 Modelo de 4 variables obtenido por stepwise	168
Tabla IV.29 Modelo de 4 variables obtenido por best subset regression models	169
Tabla IV.30 Resultados obtenidos para la validación externa	171
Tabla IV.31 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar aceite de girasol	175
Tabla IV.32 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward	176
Tabla IV.33 Modelo de 11 variables obtenido por backward	177
Tabla IV.34 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar aceite de girasol	178
Tabla IV.35 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por stepwise	178
Tabla IV.36 Modelo de 4 variables obtenido por stepwise	179
Tabla IV.37 Resultados obtenidos para la validación externa	181
Tabla IV.38 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar aceite de soja	184

Tabla IV.39 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward	185
Tabla IV.40 Modelo de 13 variables obtenido por backward	186
Tabla IV.41 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar aceite de soja	187
Tabla IV.42 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por stepwise	188
Tabla IV.43 Modelo de 8 variables obtenido por stepwise	189
Tabla IV.44 Modelo de 8 variables obtenido por best subset regression models	190
Tabla IV.45 Resultados obtenidos para la validación externa	192
Tabla IV.46 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa de coco	195
Tabla IV.47 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward	196
Tabla IV.48 Modelo de 13 variables obtenido por backward	197
Tabla IV.49 Modelo de 6 variables obtenido por backward	198
Tabla IV.50 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar grasa de coco	199
Tabla IV.51 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por stepwise	200
Tabla IV.52 Modelo de 5 variables obtenido por stepwise	201
Tabla IV.53 Modelo de 3 variables obtenido por best subset regression models	202
Tabla IV.54 Resultados obtenidos para la validación externa	204
Tabla IV.55 Resumen de los modelos obtenidos para los distintos adulterantes	207
Tabla IV.56 Resultados obtenidos para las grasas lácteas incógnitas	209

Apéndice I

Tabla A.I.1 Concentración de ácidos grasos en g 100 ⁻¹ g grasa de las grasas lácteas	228
Tabla A.I.2 Concentración de ácidos grasos en g 100 ⁻¹ g grasa de las grasas adulterantes	232
Tabla A.I.3 Concentración de ácidos grasos en g 100 ⁻¹ g grasa de las grasas incógnitas	234
Tabla A.I.4 Matriz de calibración para grasa vacuna	235
Tabla A.I.5 Matriz de calibración para grasa porcina	237
Tabla A.I.6 Matriz de calibración para aceite de girasol	239
Tabla A.I.7 Matriz de calibración para aceite de soja	241
Tabla A.I.8 Matriz de calibración para grasa de coco	243
Tabla A.I.9 Matriz de predicción para grasa vacuna	245
Tabla A.I.10 Matriz de predicción para grasa porcina	246
Tabla A.I.11 Matriz de predicción para aceite de girasol	247
Tabla A.I.12 Matriz de predicción para aceite de soja	248
Tabla A.I.13 Matriz de predicción para grasa de coco	249

Apéndice II

Tabla A.II.1 Matriz de correlación para grasa vacuna	251
Tabla A.II.2 Salida del Best Subset Regresión Models	252
Tabla A.II.3 Matriz de correlación para grasa porcina	255
Tabla A.II.4 Salida del Best Subset Regresión Models	256
Tabla A.II.5 Matriz de correlación para aceite de girasol	259
Tabla A.II.6 Salida del Best Subset Regresión Models	260
Tabla A.II.7 Matriz de correlación para aceite de soja	263
Tabla A.II.8 Salida del Best Subset Regresión Models	264
Tabla A.II.9 Matriz de correlación para grasa de coco	267
Tabla A.II.10 Salida del Best Subset Regresión Models	268

Índice de Figuras**Introducción**

Figura I.1 Fuentes de los ácidos grasos de la grasa láctea	17
--	----

Resultados y Discusión

Figura IV.1 Cromatograma característico de grasa láctea	84
Figura IV.2 Cromatograma característico de grasa vacuna	85
Figura IV.3 Cromatograma característico de grasa porcina	85
Figura IV.4 Cromatograma característico de aceite de girasol	86
Figura IV.5 Cromatograma característico de aceite de soja	86
Figura IV.6 Cromatograma característico de grasa de coco	87
Figuras IV.7 A – P Histogramas de los ácidos grasos	89
Figuras IV.8 A – P Diagramas de cajas y bigotes de los ácidos grasos	92
Figuras IV.9 Contraste de caída	98
Figuras IV.10 A – J Gráficas de scores de los primeros 5 componentes principales	101
Figura IV.11 Relaciones propuestas por el CAA para detectar adulteración con grasa animal (grasa vacuna)	113
Figura IV.12 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía	115
Figura IV.13 Relaciones propuestas por el CAA para detectar adulteración con grasa animal (grasa porcina)	120
Figura IV.14 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía	122
Figura IV.15 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía	127
Figura IV.16 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía	133
Figura IV.17 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía	139
Figura IV.18 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa vacuna	162
Figura IV.19 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa porcina	172

Figura IV.20 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de aceite de girasol	182
Figura IV.21 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de aceite de soja	193
Figura IV.22 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa de coco	205
 Apéndice I	
Figura A.I.1 Gráfico de dispersión	227

Introducción

Consideraciones preliminares

El Código Alimentario Argentino (CAA) en el artículo 553 del Capítulo VIII sobre Alimentos Lácteos (Res Conj. SPR y RS y SAGPA N° 033 y N° 563 del 13.09.06) expresa: “Con la designación de Alimentos Lácteos, se entiende la leche obtenida de vacunos o de otros mamíferos, sus derivados o subproductos, simples o elaborados, destinados a la alimentación humana”, y en el artículo 554 (Res MS y AS N° 022 del 30.01.95) define a la leche de la siguiente manera: “Con la denominación de leche sin calificativo alguno, se entiende el producto obtenido por el ordeño total e ininterrumpido, en condiciones de higiene, de la vaca lechera en buen estado de salud y alimentación, proveniente de tambos inscriptos y habilitados por la Autoridad Sanitaria Bromatológica Jurisdiccional y sin aditivos de ninguna especie. La leche proveniente de otros animales, deberá denominarse con el nombre de la especie productora”.

En el artículo 6 del Capítulo I sobre Disposiciones Generales se define como: “Alimento genuino o normal, el que respondiendo a las especificaciones reglamentarias, no contenga sustancias no autorizadas ni agregados que configuren una adulteración y se expenda bajo la denominación y rotulados legales, sin indicaciones, signos o dibujos que puedan engañar respecto a su origen, naturaleza y calidad”, y como “Alimento adulterado el que ha sido privado en forma parcial o total, de sus elementos útiles o característicos, reemplazándolos o no por otros inertes o extraños, o que ha sido adicionado de aditivos no autorizados o sometidos a tratamientos de cualquier naturaleza para

disimular u ocultar alteraciones, deficiente calidad de materias primas o defectos de elaboración”.

Por lo tanto, la leche es considerada genuina y no adulterada, cuando desde la producción hasta el consumo no se hayan modificado de forma voluntaria sus constituyentes naturales ni se hayan hecho manipulaciones destinadas a ocultar defectos de calidad.

Las principales adulteraciones que se realizan sobre la leche fluida son: el agregado de agua, de aditivos alimentarios conservadores y la sustitución total o parcial de constituyentes de la misma como las proteínas y la grasa.

Para el caso de las adulteraciones por sustitución de la materia grasa, la detección de grasas no lácteas en la grasa de leche es un problema complejo. Su dificultad se debe a que la misma contiene gran cantidad de componentes que también se encuentran en las otras grasas adulterantes, tanto de origen vegetal como animal.

I.1 Características generales de la grasa láctea bovina

La concentración de grasa en la leche de los bovinos varía generalmente en el rango de 3,5 a 4,7% (MacGibbon y Taylor, 2006). La alimentación de las vacas constituye uno de los principales factores de variación en la composición de la materia grasa de leche, junto con el estado de lactación, la salud y los intervalos entre ordeños (MacGibbon y Taylor, 2006; Fox y McSweeney, 1998; Maritano de Correche *et al.*, 1985).

La producción de leche en la Argentina se desarrolla básicamente bajo condiciones de pastoreo, hecho que está íntimamente relacionado con la estación del año debido a la disponibilidad de pasturas para el consumo de los animales. Particularmente en la Cuenca Central la pastura utilizada como principal alimento es la alfalfa, y cuando su disponibilidad disminuye se complementa con cereales (Páez *et al.*, 2006; Maritano de Correche *et al.*, 1985).

El estado de lactación es otro de los factores que influyen en la concentración de grasa en la leche. En las primeras semanas luego de la parición, el contenido de la grasa en la leche disminuye y luego se incrementa progresivamente durante la lactancia.

Con respecto a la salud del animal, si el mismo presenta mastitis la concentración de grasa en la leche disminuye, debido al deterioro que sufre el tejido mamario con la consiguiente dificultad de síntesis. Este efecto está bien definido en el caso de una mastitis clínica pero menos definido para una subclínica.

La desnutrición también es otro factor importante, en la cual si bien la producción de leche está disminuida, la concentración de grasa usualmente se incrementa en pequeñas cantidades.

Durante el ordeño se incrementa el contenido de grasa, pero si el mismo se realiza de forma incompleta el contenido de grasa puede ser menor y en el siguiente ordeño se puede obtener una mayor concentración de grasa que proviene del anterior. Además los intervalos entre ordeños deben ser regulares para mantener la concentración de la grasa en la leche (Fox y McSweeney, 1998; Auldist *et al.*, 1998).

La grasa de la leche es secretada en forma de glóbulos más o menos esféricos con un diámetro que varía desde 0,2 a 15 μm (MacGibbon y Taylor, 2006), rodeados por una membrana lipoproteica conocida como membrana del glóbulo graso (MFGM) de 8 – 9 nm de espesor. Esta membrana es la que mantiene la integridad del glóbulo y estabiliza la grasa en el medio acuoso. La misma contiene principalmente proteínas y lípidos polares y no polares (MacGibbon y Taylor, 2006; Fox y McSweeney, 1998).

El núcleo de los glóbulos grasos está constituido principalmente por triglicéridos, los de bajo punto de fusión se localizan en el centro y los de alto punto de fusión se encuentran en la zona mas externa del núcleo (Fox y McSweeney 1998; Christie, 1995).

I.2 Composición de los lípidos de la leche

Los lípidos de la grasa de leche en su mayoría son triglicéridos, acompañados de pequeñas cantidades de diglicéridos, monoglicéridos, fosfolípidos, glicolípidos y ácidos grasos libres, todos correspondientes a la fracción saponificable y constituyentes de más del 99% de la fracción grasa.

También en bajos niveles y pertenecientes a la fracción insaponificable se encuentran los esteroides, las vitaminas liposolubles, los carotenos y los compuestos liposolubles del sabor. En la Tabla I.1 se muestran los principales lípidos de la leche (MacGibbon y Taylor, 2006).

Los triglicéridos representan el 97 – 98% de los lípidos totales de la leche y son los principales responsables de las propiedades de la grasa como por ejemplo hidrofobicidad, densidad y características de fusión.

Si bien los fosfolípidos se encuentran en cantidades pequeñas su rol es muy importante debido a sus propiedades anfífilas. Están presentes principalmente en la MFGM, acompañados por glicolípidos, proteínas, enzimas, triglicéridos y componentes minoritarios. Los principales fosfolípidos son la fosfatidilcolina (lecitina), fosfatidiletanolamina y la esfingomielina.

Dentro de los componentes minoritarios de la grasa de leche se encuentran otros lípidos polares como ceramidas, glicolípidos (cerebrósidos y gangliósidos) que están presentes en cantidades de trazas, y esteroides de los cuales el principal es el colesterol (aproximadamente el 95%). La mayoría del colesterol está en forma libre, con menos del 10% esterificado.

La leche contiene vitaminas liposolubles que le confieren un importante valor nutricional. La que está en mayor proporción es la vitamina A y en menores concentraciones se encuentran las vitaminas D, E y K. Las concentraciones varían ampliamente con la raza del animal, la alimentación y el estado de lactación (Fox y McSweeney, 1998; Christie, 1995).

Tabla I.1 Principales lípidos de la leche ^a

Clases de Lípidos	Concentración (% p/p)
Triglicéridos	98,3
Diglicéridos	0,3
Monoglicéridos	0,03
Ácidos grasos libres	0,1
Fosfolípidos y Glicolípidos	0,8
Esteroles	0,3
Carotenoides	Trazas
Vitaminas liposolubles	Trazas
Compuestos del flavor	Trazas

^a MacGibbon y Taylor (2006)

I.3 Ácidos grasos de la grasa láctea

La composición de ácidos grasos, componente común de los lípidos saponificables, tiene importantes efectos sobre la calidad de la leche y de los productos lácteos, confiriéndoles propiedades físicas (punto de fusión y dureza de mantecas, cristalización), nutricionales y organolépticas características.

La grasa láctea bovina está considerada como la grasa natural más compleja debido al gran número de ácidos grasos constituyentes. Hasta 1988 se listaron 400 ácidos grasos distintos y la mayoría de ellos se pudieron identificar utilizando técnicas cromatográficas y espectroscópicas complejas (Christie, 1995).

La mayor parte de los ácidos grasos están presentes en pequeñas cantidades (<0,01%). Sin embargo, aproximadamente 15 ácidos grasos se encuentran en concentraciones superiores al 1,0 % (MacGibbon y Taylor, 2006) y son los considerados mayoritarios. En la Tabla I.2 se observan los valores de estos ácidos grasos dados por diferentes autores.

Tabla I.2 Composición de ácidos grasos de la grasa láctea

Ácido graso	Nombre común	Porcentaje	
		Jensen (2002)	MacGibbon y Taylor (2006)
C _{4:0}	Butírico	2,0 – 5,0	3,1 – 4,4
C _{6:0}	Caproico	1,0 – 5,0	1,8 – 2,7
C _{8:0}	Caprílico	1,0 – 3,0	1,0 – 1,7
C _{10:0}	Cáprico	2,0 – 4,0	2,2 – 3,8
C _{10:1} ¹	-	0,2 – 0,3	0,15
C _{12:0}	Laúrico	2,0 – 5,0	2,6 – 4,2
C _{14:0}	Mirístico	8,0 – 14,0	9,1 – 11,9
C _{14:1}	Miristoleico	-	0,5 – 1,1
C _{15:0}	-	1,0 – 2,0	0,9 – 1,4
C _{16:0}	Palmítico	22,0 – 35,0	23,6 – 31,4
C _{16:1}	Palmitoleico	1,0 – 3,0	1,4 – 2,0
C _{18:0}	Estearico	9,0 – 14,0	10,4 – 14,6
C _{18:1}	Oleico	20,0 – 30,0 ²	14,9 – 22,0
C _{18:2}	Linoleico	1,0 – 3,0	1,2 – 1,7
C _{18:3}	α Linolénico	0,5 - 2,0	0,9 – 1,2
C _{18:2conj}	Linoleico conjugado	-	0,8 – 1,5

¹ Se incluye el valor para C_{10:1} de conc. < 1% por estar identificado y cuantificado en este trabajo.

² Este valor incluye aproximadamente un 3% de isómeros *trans*.

I.3.1 Ácidos grasos saturados

En la grasa láctea bovina están presentes cantidades considerables de ácidos grasos saturados que representan aproximadamente el 70% del total de ácidos grasos, y sus cadenas de átomos de carbono varían desde 4 a 18, siendo mayoritario el C_{16:0} seguido por C_{14:0} y C_{18:0}.

Es característica la presencia de ácidos grasos de cadena corta (C_{4:0} y C_{6:0}), cuyas concentraciones expresadas en moles por ciento son de 10,1 y 4,9, correspondientes a 3,9 y 2,5 % respectivamente, y de cantidades apreciables de ácidos grasos de cadena media (C_{8:0} – C_{12:0}) (MacGibbon y Taylor, 2006).

Los ácidos grasos de cadena corta y media contribuyen aportando energía al metabolismo del ternero recién nacido; disminuyen el punto de fusión de los triglicéridos y por lo tanto ayudan a mantener la fluidez a la temperatura corporal de una grasa considerablemente saturada, influyendo en su eficiente secreción. Este hecho compensaría la concentración relativamente baja de ácidos grasos insaturados de bajo punto de fusión (Fox y McSweeney, 1998).

I.3.2 Ácidos grasos insaturados

El contenido de ácidos grasos *cis* - monoinsaturados en la grasa láctea bovina es del 18 al 24%, siendo el ácido oleico (C_{18:1} 9c) el que se encuentra en mayor proporción.

Los ácidos C_{14:1} y C_{16:1} están presentes en concentraciones del 1,0% aproximadamente.

Los ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y el α -linolénico están presentes en bajas proporciones debido a las reacciones de biohidrogenación que se llevan a cabo en el rumen. Estos dos y el ácido araquidónico (C_{20:4}), son ácidos grasos esenciales ya que no pueden ser sintetizados en el organismo y deben ser suministrados con la dieta. En los últimos tiempos el término esencial se ha extendido a ácidos grasos que derivan de ellos como el ácido eicosapentaenoico (EPA) C_{20:5} y el ácido docosahexanoico (DHA) C_{22:6} (MacGibbon y Taylor, 2006).

En leches provenientes de vacas alimentadas con pasturas la concentración del ácido α -linolénico es más alta.

Con respecto a los ácidos grasos trans, el ácido vaccénico (C_{18:1} 11*t*) es el más importante de los isómeros *trans* del C_{18:1}. La presencia de estos isómeros en la grasa láctea bovina es el resultado de la biohidrogenación incompleta e isomerización de los lípidos insaturados que son aportados por la dieta.

Las concentraciones más altas de vaccénico fueron obtenidas en leches que provenían de vacas alimentadas con pasturas de verano y las más bajas fueron obtenidas en leches de vacas alimentadas con concentrados y silajes en invierno. La alimentación con pasturas frescas reduce la eficiencia de las reacciones de biohidrogenación en el rumen lo que determina una mayor concentración del isómero.

Los ácidos linoleicos conjugados (CLA) son una mezcla de isómeros posicionales y geométricos del C_{18:2} con dobles enlaces conjugados, siendo el isómero bioactivo C_{18:2} 9*c*, 11*t* (ácido ruménico), el que representa

aproximadamente el 80% del total de los isómeros. La presencia de CLA en la grasa láctea ha sido ignorada hasta que se demostró en animales experimentales que presentan la propiedad de inhibir carcinogénesis (Páez *et al.*, 2006; Jensen, 2002; Pinto *et al.*, 2002a). Además se han comprobado otras propiedades como la de disminuir la arterioesclerosis y la diabetes y de tener efectos anti obesidad (Palmquist, 2001).

Los CLA provienen de las reacciones de biohidrogenación e isomerización en el rumen a partir de los ácidos grasos insaturados de la dieta.

Los isómeros *cis* y *trans* presentan una diferencia estructural importante que tiene impacto en la solidificación de la grasa, ya que los triglicéridos que contienen isómeros *cis* tienen una densidad de empacamiento menor que los que contienen *trans* y por lo tanto presentan menores puntos de fusión (MacGibbon y Taylor, 2006).

I.3.3 Otros ácidos grasos

La grasa láctea presenta, como se mencionó anteriormente cerca de 400 ácidos grasos diferentes, dentro de los cuales aproximadamente 40 están presentes en concentraciones mayores a 0,01% y los restantes se encuentran en cantidades de trazas (MacGibbon y Taylor, 2006)

Dentro de este grupo existen ácidos grasos con cadena ramificada y con número impar de átomos de carbono desde C₃ a C₂₇.

También están presentes alrededor de 200 ácidos grasos mono, di y poliinsaturados minoritarios, con longitud de cadena desde C₁₀ a C₂₄ e isómeros

tanto *cis* como *trans*, algunos con importancia nutricional como los ácidos C_{20:5} y C_{22:6} que están presentes en las rutas metabólicas de los ácidos grasos n-3 y el C_{20:4} que forma parte de las rutas de los ácidos grasos n-6.

La grasa láctea contiene bajas concentraciones de hidroxí y cetoácidos.

Algunos hidroxíácidos son de interés ya que se transforman en sus respectivas lactonas que son componentes importantes del flavor, y los β-cetoácidos se decarboxilan formando metilcetonas que contribuyen al flavor de la manteca cuando se la somete a temperatura.

I.3.4 Implicancias de las variaciones en la composición de los ácidos grasos

El estudio de la composición de los ácidos grasos de la grasa láctea, sus diferentes proporciones y las variaciones por el tipo de alimentación y otras, resulta de interés por las siguientes razones:

- Tener un mejor conocimiento de las materias primas para la industrialización de la grasa láctea.
- La presencia de cantidades considerables de ácidos grasos de cadena corta, en especial del ácido butírico, y de ácidos de cadena larga conjugados, en particular del ácido linoleico conjugado, tiene gran interés nutricional.
- Los cambios sobre la composición de la grasa láctea afectan las propiedades físicas (punto de fusión, dureza de mantecas y cristalización), nutricionales y organolépticas de la leche y de los productos lácteos.

- La composición de ácidos grasos de la grasa láctea permite la detección de posibles adulteraciones con grasas extrañas en productos tales como manteca, crema, quesos y dulce de leche (Páez *et al.*, 2006; Pinto *et al.*, 2002a).

Como ejemplo de estas variaciones se pueden mencionar las modificaciones en el perfil de ácidos grasos de la grasa láctea causada por cambios en la alimentación de las vacas. En la época de transición de una alimentación basada en pasturas frescas a una alimentación con ensilado compuesto por mezcla de pasturas y maíz, aumenta el contenido promedio de la grasa en la leche y la misma contiene menor cantidad de ácidos grasos insaturados y mayor cantidad de ácidos grasos saturados desde C6 a C16. Este hecho conduce a que las mantecas de invierno con bajos niveles de C_{4:0} y C_{18:1} y altos niveles de C_{16:0} sean más duras que las mantecas de verano (MacGibbon y Taylor, 2006; Elgersma *et al.*, 2004; Mackle *et al.*, 1997). La transición a la alimentación con pasturas resulta en un aumento de las concentraciones de C_{18:0} y C_{18:1}, especialmente de ácido vaccénico (C_{18:1}11*t*) que se debe al alto contenido de ácido linoleico y linolénico en las pasturas (MacGibbon y Taylor, 2006; Ledoux, *et al.*, 2005).

I.3.5 Síntesis de los ácidos grasos de la grasa láctea

Los ácidos grasos de la grasa láctea provienen de dos fuentes, de la síntesis *de novo* en la glándula mamaria y de los lípidos del plasma. En la Figura I. 1 se muestra un resumen de la síntesis.

Los lípidos del plasma provienen de la alimentación y de la hidrólisis de los tejidos, especialmente del tejido adiposo.

Los ácidos grasos procedentes de la síntesis *de novo* son los de cadena corta y media (C_{4:0} al C_{14:0}) y una parte de C_{16:0}. Estos ácidos se sintetizan en la glándula mamaria utilizando principalmente acetato y β-hidroxibutirato, los que son producidos mediante la fermentación por microorganismos del rumen a partir de la celulosa y de otros polisacáridos que la acompañan. En la glándula mamaria, el principal precursor en la síntesis de los ácidos grasos es la acetil-CoA derivada del acetato o de la oxidación del β-hidroxibutirato. El mecanismo implica esencialmente la carboxilación de la acetil-CoA a malonil-CoA, la que luego es utilizada en los pasos de alargamiento de cadena, resultando ácidos grasos con cadena no ramificada y con número par de átomos de carbono.

Sin embargo si en la síntesis es utilizado un precursor como el propionato, valerato o isobutirato, se forman ácidos grasos de cadena ramificada y con número impar de átomos de carbono (MacGibbon y Taylor, 2006; Fox y McSweeney, 1998; Palmquist, 2006 y 2001).

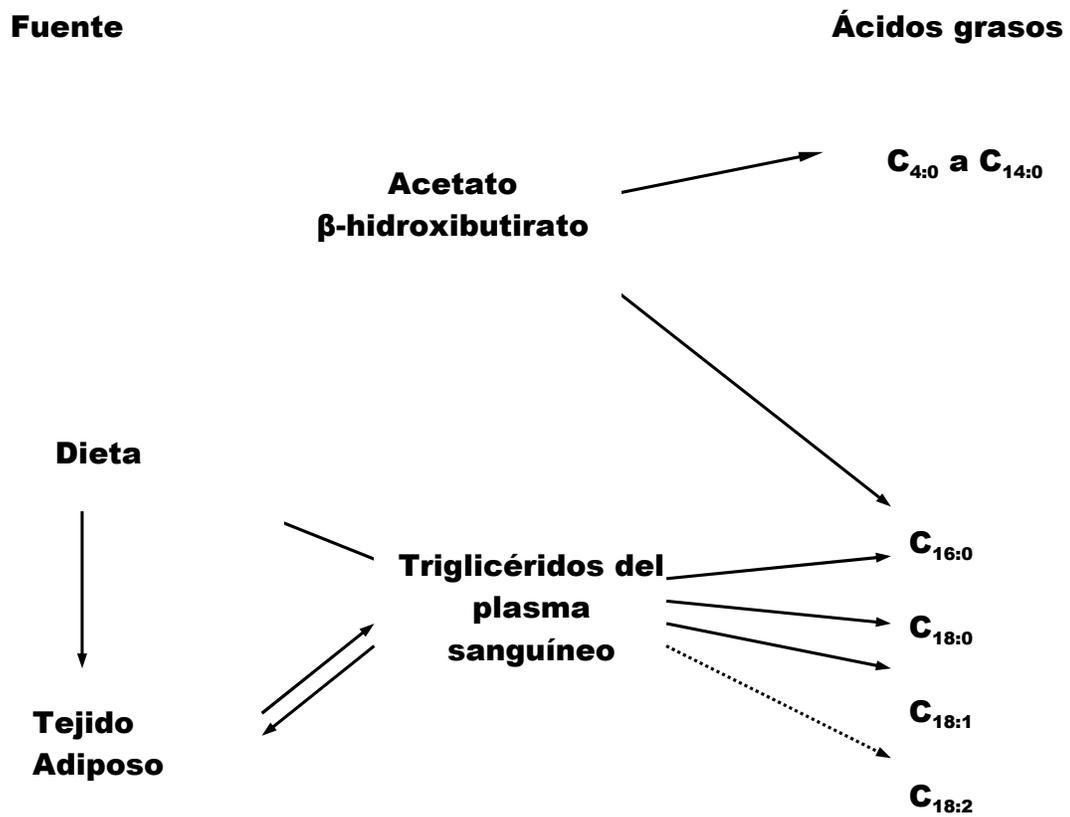
Los lípidos procedentes de la alimentación en su mayoría son triglicéridos, fosfolípidos y glicolípidos con alta proporción de ácidos linoleico (C_{18:2} 9c, 12c) y linolénico (C_{18:3} 9c, 12c, 15c). En el rumen se hidrolizan los lípidos liberando ácidos grasos, los cuales sufren una biohidrogenación ocasionada por microorganismos. Para el ácido linoleico la secuencia de biohidrogenación comienza con un paso de isomerización que produce el ácido linoleico conjugado (C_{18:2} 9c, 11t), seguido por una reducción para dar ácido vaccénico (C_{18:1} 11t) y luego una posterior reducción a C_{18:0}.

Las rutas de biohidrogenación del ácido linolénico son similares.

La mezcla de ácidos grasos que resultan de la biohidrogenación es esterificada a triglicéridos los cuales luego circulan en el flujo sanguíneo constituyendo lipoproteínas.

Estos triglicéridos son tomados por la glándula mamaria e hidrolizados para dar ácidos grasos. La glándula mamaria contiene un sistema de desaturasas que convierte cantidades importantes de $C_{18:0}$ a ácido oleico ($C_{18:1\ 9c}$). Como consecuencia de estos procesos, en la glándula mamaria se obtienen a partir de los lípidos de la dieta cantidades importantes de $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ y ácido oleico, pequeñas cantidades de ácido linoleico y linolénico, y cantidades limitadas de $C_{18:1\ 11t}$ y $C_{18:2\ 9c,11t}$.

Figura I. 1 Fuentes de los ácidos grasos de la grasa láctea



MacGibbon y Taylor (2006)

I.4 Lípidos no polares. Triglicéridos

La grasa de la leche de los bovinos contiene distintos triglicéridos (TG) que varían considerablemente en el peso molecular y en el grado de insaturación, debido a la amplia variabilidad de ácidos grasos que los forman. En la Tabla I. 3 se observa la composición de los principales TG de la grasa láctea.

Los TG presentan un amplio rango de peso molecular desde C26 a C56, que es consecuencia de las diferencias en las longitudes de cadena de los ácidos grasos que los constituyen (desde C4 a C18). La composición de los triglicéridos está dominada por triglicéridos con C34 a C52 siendo mayoritarios C36, C38, C40 y C50. El rango de valores para los diferentes triglicéridos es considerable, lo que indica que existen variaciones en la composición de los mismos tanto a lo largo de las estaciones como entre las diferentes regiones.

La grasa láctea con sus 400 ácidos grasos detectados puede tener 64.000.000 triglicéridos diferentes, pero el número se reduce debido a que la distribución de los ácidos grasos en ellos no es azarosa (MacGibbon y Taylor, 2006; Jensen, 2002; Fox y McSweeney, 1998).

Tabla I.3 Composición de triglicéridos de la grasa láctea

Número de átomos de carbono de los ácidos grasos de los TG	Porcentaje	
	Jensen (2002)	MacGibbon y Taylor (2006)
C26	0,1-1,0	0,2 – 0,3
C28	0,3-1,3	0,4 – 0,8
C30	0,7-1,5	0,8 – 1,9
C32	1,8-4,0	1,8 – 3,2
C34	4,0-8,0	4,4 – 6,9
C36	9,0-14,0	9,1 – 12,4
C38	10,0-15,0	11,8 – 14,6
C40	9,0-13,0	9,5 – 12,1
C42	6,0-7,0	6,2 – 7,9
C44	5,0-7,5	5,4 – 7,8
C46	5,0-7,0	5,6 – 8,3
C48	7,0-11,0	6,9 – 10,7
C50	8,0-12,0	9,7 – 12,8
C52	7,0-11,0	7,2 – 12,6
C54	1,0-5,0	2,7 – 7,8
C56	-	0,4 – 0,6

Los triglicéridos son sintetizados en la glándula mamaria por mecanismos enzimáticos que ejercen alguna selectividad sobre la esterificación de los diferentes ácidos grasos en cada posición de los *sn*-gliceroles.

Los análisis estereoespecíficos permitieron determinar la ubicación de los ácidos grasos en los triglicéridos. Los ácidos grasos de cadena corta $C_{4:0}$ y $C_{6:0}$ prácticamente en su totalidad se esterifican en la posición *sn*-3, mientras que $C_{12:0}$ y $C_{14:0}$ se esterifican preferentemente en la posición *sn*-2.

A medida que la cadena del ácido graso se alarga hasta $C_{16:0}$, las incorporaciones se hacen preferentemente en las posiciones *sn*-1 y *sn*-2. El ácido esteárico se esterifica principalmente en la posición *sn*-1 y el ácido oleico muestra preferencia por las posiciones *sn*-1 y *sn*-3. El patrón de distribución del esteárico y del oleico varía de acuerdo al peso molecular del triglicérido, cuando son de alto peso molecular ambos ácidos grasos esterifican preferentemente las posiciones *sn*-1 y *sn*-3, y cuando el triglicérido es de peso molecular bajo o medio la posición preferencial es la *sn*-1 (MacGibbon y Taylor, 2006; Fox y McSweeney, 1998).

Las fracciones de alto peso molecular y diferente grado de insaturación, están formadas por TG que contienen una combinación de $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ y $C_{18:1}$, mientras que las fracciones de peso molecular medio y bajo están constituidas principalmente por TG formados con $C_{14:0}$, $C_{16:0}$, $C_{18:0}$ y $C_{18:1}$ en las posiciones *sn*-1 y *sn*-2 y con $C_{4:0}$ y $C_{6:0}$ en la posición *sn*-3.

Con respecto al grado de saturación, los TG saturados y los monoinsaturados son los mayoritarios ya que comprenden un 35 a 40% del total de la grasa láctea (MacGibbon y Taylor, 2006; Jensen, 2002).

Las técnicas más utilizadas para realizar un análisis de la composición de los TG son la cromatografía gaseosa (GC) y la cromatografía en capa de ión plata (Ag –TLC), estas técnicas en combinación con análisis estereoespecíficos proveen información detallada acerca de las diferentes clases de TG presentes en la grasa de leche.

I.5 Lípidos polares

La concentración de los lípidos polares saponificables en la grasa láctea varía desde 0,5 a 1,0% del total. Este grupo está formado por fosfolípidos (glicerofosfolípidos y esfingofosfolípidos), glicolípidos (gliceroglicolípidos y esfingoglicolípidos) y ceramidas. Aproximadamente el 65% de los mismos están en la MFGM y el porcentaje restante se encuentra asociado a fragmentos del material de membrana en la fase acuosa (MacGibbon y Taylor, 2006).

Si bien los lípidos polares constituyen una proporción muy pequeña del total de los lípidos de la grasa láctea, poseen un rol muy importante debido a su característica anfifílica, que hace posible la suspensión estable de la grasa láctea en el medio acuoso de la leche. De esta manera coexisten en la misma solución concentraciones relativamente altas de grasa y proteínas.

Los lípidos polares son importantes para mantener la estructura en determinados productos lácteos debido a que son capaces de estabilizar emulsiones y espumas y de formar micelas y membranas (MacGibbon y Taylor, 2006).

En la industrialización de la leche entera, los lípidos polares ligados estrechamente a la MFGM pasan a la crema con los lípidos neutros, mientras

que los asociados a los fragmentos del material de membrana son retenidos en la leche descremada. Por lo tanto la relación de fosfolípidos con respecto a la grasa total es relativamente baja en crema y alta en la leche descremada (MacGibbon y Taylor, 2006).

Algunos de ellos como las ceramidas (esfingolípido) y la esfingomielina (esfingofosfolípido) presentan una fuerte actividad antitumoral, y los gangliósidos (esfingoglicolípidos que contienen una o más unidades de ácido síalico) presentan un efecto positivo sobre procesos infecciosos (MacGibbon y Taylor, 2006; Jensen, 2002).

I.6 Constituyentes Minoritarios

I.6.1 Esteroles

Los esteroles son componentes minoritarios de los lípidos de la leche ya que representan el 0,3% del total de la grasa. El principal es el colesterol y aproximadamente un 10% del mismo se encuentra esterificado. Además se identificaron otros esteroles como campesterol, estigmaesterol y β -sitoesterol que se encuentran en niveles de trazas.

I.6.2 Carotenoides

El principal carotenoide de la grasa láctea es el β -caroteno y se encuentra dentro del glóbulo graso, confiriéndole color a la grasa.

En la leche la concentración del β -caroteno depende de la alimentación y de la raza. Las pasturas frescas contienen niveles de carotenos más altos que los concentrados y el heno. Las vacas de raza Jerseys tienen en sus leches niveles

mas elevados de β -caroteno que las vacas de raza Friesians (MacGibbon y Taylor, 2006).

I.6.3 Vitaminas liposolubles

La grasa láctea está considerada como una fuente significativa de vitamina A, pero como una fuente pobre de vitaminas D, E y K. La vitamina A está involucrada en funciones biológicas importantes como el desarrollo embrionario, el crecimiento y la visión. La vitamina E protege a los ácidos grasos insaturados de la oxidación ocasionada por peróxidos (MacGibbon y Taylor, 2006; Fox y McSweeney, 1998).

I.6.4 Compuestos del flavor

Se han identificado aproximadamente 200 compuestos volátiles en la grasa láctea (MacGibbon y Taylor, 2006). Los principales compuestos que contribuyen significativamente al flavor son lactonas, ácidos grasos, aldehídos y metilcetonas.

Tres lactonas, la δ -octalactona, δ -decalactona y γ -dodecalactona y los ácidos grasos de cadena corta, $C_{4:0}$ y $C_{6:0}$ son compuestos deseables del flavor para algunos productos lácteos, siempre que los mismos estén presentes en bajas concentraciones.

Los aldehídos alifáticos son contribuyentes también deseables cuando están presentes en muy bajas concentraciones, pero pueden ser indeseables cuando se incrementan por oxidaciones de la grasa.

Con el calentamiento de la leche, las pequeñas cantidades de β -cetoácidos presentes en la grasa láctea sufren un proceso de decarboxilación para dar metilcetonas.

I.7 Consideraciones acerca de la adulteración de grasa láctea

La adulteración de aceites y grasas tales como la de la grasa láctea ha sido siempre un problema debido a los réditos económicos que quieren lograr algunos industriales inescrupulosos quienes, en un intento por reducir costos u obtener un precio competitivo, reemplazan parcialmente la grasa láctea por aceites o grasas más económicas (Heussen *et al.*, 2007; Destailats *et al.*, 2006; Ulberth, 1995 y 1994; Lipp, 1995; Fox *et al.*, 1988).

El CAA en su artículo 555 bis establece que “la materia grasa de los productos lácteos y/o la materia grasa de la base láctea de los productos lácteos de origen bovino con agregados, deberá responder a los siguientes requisitos”:

Punto de Fusión	28 – 37°C
Índice de Refracción (40°C)	1,4520 - 1,4566
Índice de Iodo	26 - 38
Índice de Reichert Meissl	24 - 36
Índice de Polenske	1,3 – 3,7
Índice de Saponificación (Kottstorfer)	218 - 235
Determinación de grasa de origen vegetal	Negativo

Para verificar la ausencia de adulteraciones con grasas de origen animal, se deberán cumplir las siguientes relaciones de ácidos grasos:

$$\begin{array}{ll} \mathbf{C_{14:0}/C_{18:1} > 0,30} & \mathbf{C_{14:0}/C_{12:0} = (3,0 - 4,1)} \\ \mathbf{C_{12:0}/C_{10:0} = (0,95 - 1,3)} & \mathbf{C_{10:0}/C_{8:0} = (1,85 - 2,3)} \end{array}$$

De los productos derivados de la grasa láctea, la manteca es muy importante económicamente por ser una de las materias grasas de más precio, y por ello desde siempre, junto a la crema y otros productos tales como el dulce de leche han estado sujetos a adulteraciones mediante la adición de grasas menos costosas, tanto de origen vegetal como animal.

El CAA en su artículo 596 define a la manteca como “el producto graso obtenido exclusivamente por el batido y amasado, con o sin modificación biológica, de la crema pasteurizada derivada exclusivamente de la leche, por procesos tecnológicamente adecuados. La materia grasa de la manteca deberá estar compuesta exclusivamente de grasa láctea”. El mismo también establece estándares de calidad.

Para la crema de leche el CAA en su artículo 585 establece que es “el producto lácteo relativamente rico en grasa separada de la leche por procedimientos tecnológicamente adecuados que adopta la forma de una emulsión en agua”.

I.8 Metodologías analíticas desarrolladas para detectar adulteraciones en grasa de leche

La detección de adulteraciones en grasa láctea presenta dificultades ocasionadas por la variabilidad natural en la composición de la misma, tal como se ha indicado anteriormente, y por la presencia en el mercado de grasas que se pueden utilizar como adulterantes cuyas composiciones son similares a la de la grasa láctea.

Para determinar la adulteración de la grasa láctea se llevaron a cabo varios estudios fundamentalmente en manteca. Se han propuesto métodos basados en el análisis químico de algunos de sus constituyentes y en sus propiedades físicas.

Dentro de estos métodos se encuentran los índices de Reichert – Meissl y de Polenske, reconocidos oficialmente por AOAC (Association of Official Analytical Chemists), que son utilizados como un parámetro de identidad de la grasa láctea bovina. Estos índices evalúan la concentración de los ácidos grasos destilables por arrastre con vapor, los solubles en agua para el primero y los insolubles para el segundo (AOAC, 1984). Los mismos no siempre pueden poner de manifiesto la presencia de grasas extrañas por la gran variabilidad mencionada en la composición de ácidos grasos.

Otras metodologías se basan en el estudio de la fracción de esteroides que se utilizan para la detección de adulteraciones con aceites o grasas vegetales. Las mismas consisten en la determinación del punto de fusión del acetato de esteroles y en el análisis por cromatografía gaseosa del β - sitoesterol, y han sido

propuestas por la AOAC y la FIL (Federación Internacional de Lechería) (AOAC, 1984; FIL-IDF 54: 1970). Si bien son sensibles a la presencia de grasas de origen vegetal (Timms, 1980) presentan el inconveniente de que la preparación de la muestra es complicada, por lo que no son apropiadas para análisis de rutina (Fox *et al.*, 1988).

Existen otros métodos para la detección de adulteraciones tales como el punto de ablandamiento, el índice de Iodo, la determinación de ácido butírico, de tocoferoles o de carotenos, pero ellos no son lo suficientemente sensibles (Lipp, 1995).

La Espectroscopía del Infrarrojo Cercano (NIR) que refleja en las diferentes regiones del espectro las variaciones en la composición de la grasa láctea, es otra metodología que puede ser utilizada con este objetivo (Heussen *et al.*, 2007; Lipp, 1995).

Los métodos termoanalíticos como la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) han sido usados para detectar en manteca la presencia de grasa de pollo. Esta técnica se basa en el estudio de las curvas de enfriamiento de las grasas, que están influenciadas solamente por su composición química. Esta metodología también fue usada en mezclas de manteca con grasa vacuna y con grasa de cerdo, sin embargo los resultados no fueron tan satisfactorios como para la grasa de pollo, debido a que aquellas tienen un comportamiento térmico diferente durante la cristalización (Coni *et al.*, 1994).

En lo que a procedimientos cromatográficos se refiere, se puede citar a la cromatografía en capa delgada (TLC) en combinación con la cromatografía gaseosa (GC). Esta metodología fue desarrollada para detectar pequeñas cantidades de grasa vacuna y aceite de algodón en manteca (Soliman y Younes,

1986). Estos autores realizaron una separación de los triglicéridos de la grasa láctea en TG de cadena larga y corta mediante TLC, seguido de una hidrólisis de cada fracción y luego analizaron los ácidos grasos por GC. Observaron un incremento de la concentración de $C_{18:0}$ y $C_{18:1}$ en las mezclas de manteca y grasa vacuna, debido a que los triglicéridos de la grasa vacuna contienen altas cantidades de estos ácidos comparado con los triglicéridos de la grasa láctea. Además en las mezclas de manteca y aceite de algodón, los ácidos grasos insaturados $C_{18:1}$ y $C_{18:2}$ se incrementaron debido a que el aceite de algodón contiene altas cantidades de estos dos ácidos grasos, mientras que el $C_{16:0}$ disminuyó con el agregado del aceite. Por lo tanto la determinación de $C_{18:1}$ y $C_{18:2}$ en las mezclas resultó una buena herramienta para detectar estos adulterantes en la grasa láctea.

Como resultado del proceso de refinamiento al que son sometidas las grasas adulterantes, las mismas pueden contener sustancias que derivan de estos procesos. Estas sustancias se pueden utilizar como un índice de adulteración, así por ejemplo la presencia de 3,5- colestadieno y de 3,5- estigmaestadieno en la manteca se puede correlacionar con la adición de sebo vacuno y aceites vegetales respectivamente (Mariani *et al.*, 1994).

Otro procedimiento cromatográfico utilizado consiste en determinar el perfil de triglicéridos de la grasa láctea, tanto por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) como por cromatografía gaseosa (GC).

Dentro de HPLC la más común es la cromatografía líquida de alta eficiencia de fase reversa (RP-HPLC), donde el análisis de los triglicéridos se basa en la separación de los mismos de acuerdo a su número de carbono

efectivo. Los detectores más comunmente empleados son el de índice de refracción (RI) y el evaporativo de dispersión de luz (ELSD). Si se emplea el detector RI, los dos solventes más utilizados son el propionitrilo y las mezclas de acetona / acetonitrilo, sin embargo para ambos se informaron problemas de solubilidad, por cristalización de los triglicéridos de altos puntos de fusión en la columna y/o por solubilización incompleta de los triglicéridos insaturados con 3 dobles enlaces (Lipp, 1995; Barron *et al.*, 1990).

Otra clase de cromatografía líquida es la de ión plata (Ag- HPLC) la cual separa los triglicéridos de acuerdo al grado de insaturación (Jensen, 2002; Lipp, 1995).

Con la cromatografía gas líquido (GLC o GC) también se pueden separar los triglicéridos de acuerdo a su número de carbono y es posible caracterizar un patrón típico de triglicéridos para las grasas en estudio (Pinto *et al.*, 1996; Lercker *et al.*, 1992). El paso más crítico en el desarrollo de este método comprende la selección de un sistema de inyección apropiado. Algunos autores proponen la técnica de inyección on-column en frío para columnas capilares. Otros autores recomiendan la técnica de jeringa caliente en la que la jeringa permanece por tres segundos en el inyector antes de realizar la inyección de la muestra (Lipp, 1995).

Uno de los modelos desarrollados permite la detección de grasa extraña en manteca evaluando cuatro picos de C_{54} diferentes, el área total de C_{32} - C_{42} , el pico C_{44} y el análisis de los diglicéridos (Lercker, *et. al.*, 1992). El método convencional más conocido propuesto entre otros por Parodi y Guyot, es el cálculo de relaciones entre triglicéridos de la grasa láctea. Las relaciones C_{52}/C_{38} y C_{52}/C_{40} fueron propuestas para la detección de grasa de cerdo y las relaciones

C_{52}/C_{50} , C_{52}/C_{42} , C_{52}/C_{36} , $(C_{54} + C_{52} + C_{50})/C_{40}$, $(C_{54} + C_{52} + C_{50})/C_{38}$ y $(C_{54} + C_{52} + C_{50})/(C_{40} + C_{38})$ para la detección de grasa vacuna (Pinto *et al.*, 2002b; Juárez y Martínez – Castro, 1980).

Es sabido que las metodologías de HPLC y GC proveen información complementaria. El campo de la cromatografía gaseosa tiene la resolución más extensa para los diacilgliceroles mientras que HPLC provee el método de resolución más efectivo de triacilgliceroles poliinsaturados (Lipp, 1995).

Debido a que las metodologías citadas proveen resultados complementarios, para una correcta identificación y cuantificación de los triglicéridos de la grasa láctea se deberían combinar los métodos (Lipp, 1995).

Otros trabajos proponen la aplicación de regresión lineal múltiple al perfil de los triglicéridos de manera de construir ecuaciones del tipo $\sum a_i C_i = R + e$, donde i es el número de átomos de carbono, C_i es el porcentaje del triglicérido con número de carbono i , a_i es el coeficiente a estimar, R es una constante definida como 100 para la grasa láctea pura y e es un error aleatorio.

Timms desarrolló una ecuación para la grasa láctea pura con tres variables, $R = 14,197C_{40} - 36,396C_{42} + 32,364C_{44}$ (Timms, 1980).

Precht desarrolló una serie de fórmulas que permiten la detección de grasas de origen vegetal y animal en la grasa láctea (Precht, 1992a y 1992b). Las fórmulas desarrolladas son del tipo $\sum a_i C_i = S$, donde “S” ($100 \pm e$) es un rango establecido para la grasa láctea genuina.

La Comunidad Económica Europea establece como método recomendado esta metodología. La misma se basa en la determinación de la concentración de los triglicéridos por GC y la aplicación de las fórmulas y la obtención de valores “S”. Estos valores se comparan con los establecidos para la grasa láctea pura y

como resultado de esta comparación se puede detectar la presencia de grasa extraña (EU, 2001). Este procedimiento se ha utilizado ampliamente (Fontecha *et al.*, 2006a y 2006b; Molquentin y Precht, 2000; Povolo *et al.*, 1999; Contarini y Battelli, 1997; Contarini *et al.*, 1993).

La determinación de diglicéridos, junto a la de 3,5- colestadieno y la aplicación del método de la Comunidad Económica Europea a mantecas genuinas y mezclas de manteca con grasa vacuna, se utilizó también para obtener un modelo estadístico que permitió detectar la presencia de grasa no láctea (Povolo *et al.*, 1999).

Además de los modelos construidos aplicando regresión lineal múltiple, otra herramienta estadística aplicada al análisis de TG utilizada por algunos autores es el Análisis Discriminante Lineal (DLA). La función discriminante obtenida es de la forma $F = \sum Z_i C_i + A$ donde: F es el puntaje discriminatorio, Z_i son los coeficientes ponderados, C_i son las variables discriminatorias y A es una constante. El análisis discriminante lineal es una buena herramienta para la interpretación de los datos de triglicéridos y arroja una alta proporción de clasificación correcta al tratarse de muestras adulteradas con grasas de origen animal aún cuando éstas se encuentren en bajos niveles (Pinto *et al.*, 1996 y 2002).

El análisis del perfil de los ácidos grasos de la grasa láctea mediante cromatografía gaseosa es una técnica ampliamente utilizada para detectar adulteraciones en la grasa láctea (Ulberth, 1995 y 1994). Se han probado distintas estrategias con este objetivo, algunas de ellas se basan en el rango de concentración de los ácidos grasos individuales y otras en las relaciones de

concentración de dos o más ácidos grasos (Pinto, *et al.*, 2002; Ulberth, 1994; Contarini *et al.*, 1993; Fox *et al.*, 1988; Toppino *et al.*, 1982; Juárez y Martínez – Castro, 1980).

La concentración de los ácidos grasos de cadena corta presentes en la grasa láctea es un parámetro utilizado muy a menudo para la determinación de la genuinidad. En particular se ha empleado la determinación de la concentración del ácido butírico debido a que el mismo no está presente en las grasas vegetales y animales (Ulberth, 1995).

Otra metodología empleada fue el análisis por GC de los ácidos grasos de grasa láctea pura, de grasas no lácteas y de mezclas. Para cada perfil seleccionaron un número de picos basándose en diferencias entre el contenido de la grasa láctea y la no láctea, o por la ausencia de un pico en una de ellas (Muuse y Martens, 1993).

Debido a las variaciones naturales en la concentración de los ácidos grasos individuales, se propuso el cálculo de algunas relaciones de ácidos grasos.

Para detectar la adición de grasa vacuna fueron propuestas las siguientes relaciones: $C_{18:0}/C_{8:0}$, $C_{14:0}/C_{18:0}$, $(C_{6:0}+C_{8:0}+C_{10:0}+C_{12:0})/C_{18:0}$, $C_{18:1}/C_{18:0}$ (Toppino *et al.*, 1982).

Para determinar grasas vegetales preferentemente hidrogenadas, se propusieron las siguientes: $C_{4:0}/C_{18:1}$, $(C_{4:0} + C_{6:0})/C_{18:1}$, $(C_{4:0} + C_{8:0})/C_{18:1}$ y $(C_{4:0} + C_{10:0})/C_{18:1}$. El cociente $C_{4:0}/C_{18:1}$ presentó el mejor coeficiente de correlación detectándose menos del 10% de grasa vegetal parcialmente hidrogenada (Fox *et al.*, 1988; Duthie *et al.*, 1988).

Para la adulteración con grasa de coco se propusieron $C_{12:0}/C_{10:0}$ y $C_{14:0}/C_{12:0}$, para aceites vegetales $C_{18:2}/C_{8:0}$, para aceites de palma y oliva $C_{14:0}/C_{18:2}$, $C_{18:1}/C_{18:0}$ y $C_{18:2}/C_{8:0}$. También para la detección de grasas animales se han propuesto relaciones, para la grasa de cerdo $C_{14:0}/C_{18:2}$ y $C_{18:2}/C_{8:0}$ y para la grasa vacuna $C_{16:0}/C_{14:0}$. Con la aplicación de las relaciones mencionadas se detectó el 2% de grasa de coco y de aceites vegetales, el 10% de aceite de palma y oliva, el 10% de grasa de cerdo y adulteraciones superiores al 10% para grasa vacuna (Ulberth, 1994).

Para distinguir niveles de adulteración en la grasa láctea, cercanos o menores al 10% independientemente de la naturaleza del adulterante utilizado, pueden aplicarse técnicas multivariadas a los datos de ácidos grasos obtenidos por cromatografía gaseosa de manera similar a lo utilizado para el estudio de TG..

El uso de los procedimientos de variables múltiple utiliza el contenido de información de un perfil cromatográfico mucho mejor que aquellos de variable simple. (Ulberth, 1994 y 1995).

I.9 Análisis del perfil de ácidos grasos por Cromatografía Gaseosa

Para el desarrollo de este trabajo de tesis de las metodologías detalladas anteriormente se seleccionó el análisis del perfil de ácidos grasos por Cromatografía Gaseosa, previa esterificación (derivatización) de los mismos antes de dicho análisis cromatográfico. Este procedimiento es muy difundido, ya que se disminuye la reactividad química de los ácidos grasos y se mejora la volatilidad de los mismos (como ésteres), lo que es ideal para conseguir la separación cromatográfica (FIL-IDF, 184:1999; Collomb y Spahni, 1995; De la Fuente y Juárez, 1993; Christie, 1988 y 1982).

I.9.1 Metodologías para obtener ésteres de ácidos grasos

I.9.1.a) Hidrólisis (Saponificación)

Los lípidos se saponifican cuando se los somete a calentamiento bajo reflujo con una solución de álcali en agua y alcohol. De la hidrólisis se obtienen compuestos que son solubles en agua, como las sales de los ácidos grasos y compuestos no solubles en agua, fracción insaponificable, soluble en éter etílico (Christie,1982). El material no saponificable contiene algunos hidrocarburos, alcoholes de cadena larga, carotenoides, y los esteroides libres que pueden estar presentes en la muestra original en su forma libre o también esterificada.

En este procedimiento los ácidos grasos poliinsaturados no son alterados por las condiciones de hidrólisis que se utilizan, pero si el tiempo de reacción es prolongado o si se utiliza un álcali muy fuerte puede ocurrir una isomerización del

doble enlace (Christie, 1982). Los ácidos grasos obtenidos por este procedimiento pueden ser analizados directamente con una columna polar como la FFAP, o por previa derivatización a ésteres, siendo esta última la metodología más utilizada.

La misma consiste en la transformación de los ácidos grasos en ésteres metílicos (FAME), etílicos, isopropílicos (FAIPE) o butílicos (Jensen, 2002). Estos compuestos, particularmente los ésteres metílicos de los ácidos grasos de cadena corta son altamente volátiles, y aún con mucha precaución pueden ocurrir pérdidas de los mismos. Los ésteres butílicos (Iverson y Sheppard, 1986) e isopropílicos son menos volátiles que los FAME y al utilizarlos se reduce la pérdida inevitable del butirato de metilo que ocurre durante el procedimiento analítico. Aun así se pueden emplear los FAME con los cuidados apropiados (Jensen, 2002).

I.9.1.b) Esterificación – Transesterificación

Para obtener los ésteres no siempre es necesario hidrolizar previamente los lípidos acilados y obtener los ácidos grasos libres, sino que los mismos pueden ser transesterificados directamente.

Para preparar ésteres metílicos se esterifican los ácidos grasos libres o transesterifican los lípidos acilados mediante calentamiento con un exceso de metanol anhidro en presencia de un catalizador ácido.

Uno de los reactivos más utilizados para la obtención de ésteres metílicos es el ácido clorhídrico anhidro en metanol 5% (p/v). La reacción se lleva a cabo mediante calentamiento bajo reflujo por 2 horas, o también en recipientes sellados a altas temperaturas durante un corto tiempo de reacción. Los lípidos no polares

como los triglicéridos o los ésteres de colesterol. que no son solubles en este reactivo, no reaccionan en un tiempo razonable por lo que se agrega un solvente como tolueno, cloroformo o tetrahidrofurano para mejorar la solubilización.

El HCl – MeOH es probablemente el mejor reactivo para la esterificación, ya que esterifica rápidamente a los ácidos grasos libres y transesterifica a los otros lípidos acilados (Christie, 1982).

Otro reactivo utilizado es ácido sulfúrico concentrado en metanol 1 – 2% (v/v), el que si no es utilizado con cuidado puede ocasionar alguna descomposición de ácidos grasos poliinsaturados. Este reactivo transesterifica a los lípidos de la misma manera y prácticamente a la misma velocidad que HCl – MeOH (Christie, 1982).

El trifluoruro de boro en metanol 12 – 14% (p/v) también se lo utiliza como reactivo de transesterificación y en particular como un reactivo rápido de esterificación para ácidos grasos libres. Este reactivo tiene una vida útil limitada, y su inadecuado uso puede producir artefactos o pérdidas de ácidos grasos poliinsaturados (Christie, 1982).

La transesterificación de los lípidos acilados también se puede llevar a cabo rápidamente en metanol anhidro en presencia de un catalizador básico.

El reactivo más utilizado es el metóxido de sodio (NaOCH₃) en metanol anhidro 0,5 M, que es muy estable.

También se pueden utilizar metóxido o hidróxido de potasio. Con el empleo de metóxido no se esterifican los ácidos grasos libres, ni se transesterifican los N-acil lípidos como por ejemplo los fosfoesfingolípidos y los glicoesfingolípidos (Kramer *et al.*, 1997; Christie, 1982).

De la misma manera que para el procedimiento catalizado por ácidos, se debe agregar en el medio de reacción un solvente para solubilizar los lípidos no polares tales como los triglicéridos o los ésteres del colesterol. La reacción es muy rápida y por ejemplo los fosfoglicéridos son completamente transesterificados en pocos minutos a temperatura ambiente. Sin embargo los ésteres del colesterol son transesterificados muy lentamente y requieren el doble de tiempo de reacción.

Si el tiempo de reacción no es muy prolongado y si se utiliza con cuidado el reactivo básico no se produce isomerización de los dobles enlaces en los ácidos grasos poliinsaturados (Christie, 1982).

El diazometano reacciona rápidamente con los ácidos grasos no esterificados formando ésteres metílicos en presencia de una pequeña cantidad de metanol que cataliza la reacción. No es recomendable debido a que es altamente tóxico y potencialmente explosivo (Christie, 1982).

Los ácidos grasos de cadena corta son completamente esterificados por cualquiera de los procedimientos descritos, pero la recuperación de los ésteres obtenidos del medio de reacción es difícil debido a sus altas volatilidades y a su solubilidad parcial en agua (Christie, 1982).

La composición de los ácidos grasos conjugados está afectada como se mencionó por el procedimiento de esterificación seleccionado. La reacción catalizada por bases utilizando metóxido muestra que $C_{18:2} 9c, 11t$ es el principal dieno conjugado con pequeñas cantidades de otros ocho isómeros incluyendo $C_{18:2} 9t, 11c$, $C_{18:2} 10t, 12c$, $C_{18:2} 9c, 11c$ y $C_{18:2} 9t, 11t$ para la grasa láctea. Por otro lado, todos los procedimientos catalizados por ácidos producen una disminución del $C_{18:2} 9c, 11t$ y un incremento del $C_{18:2} 9t, 11t$ y la formación de picos adicionales entre $20:2 n-6$ y $20:3 n-9$. Los picos formados durante la

esterificación catalizada por ácidos fueron identificados como isómeros metoxilados de posición del C_{18:1} por cromatografía gaseosa – espectroscopía de masa (GLC – MS) (Jensen, 2002; Kramer *et al.*, 1997).

Si bien la esterificación catalizada por ácidos ha sido ampliamente usada, algunos autores reconocen la isomerización de los dienos conjugados durante la misma y recomiendan que las reacciones con BF₃/metanol y con HCl/metanol se lleven a cabo a temperatura ambiente para minimizar la isomerización. Sin embargo algunos resultados obtenidos mediante TLC muestran que la reacción de esterificación no es completa en estas condiciones para ambos reactivos (Kramer *et al.*, 1997).

El método de la AOCS (American Oil Chemists' Society) recomienda una combinación de metóxido de sodio y BF₃/metanol o de metóxido de sodio y HCl/metanol, ambos esterifican los ácidos grasos libres y la mayoría de los esfingolípidos. Los resultados obtenidos de GLC muestran que la relación C_{18:2} 9*c*, 11*t* a C_{18:2} 9*t*, 11*t* se vio reducida ligeramente, con la formación de trazas de derivados metoxilados (Kramer *et al.*, 1997).

I.10 Análisis Multivariado

Como se ha mencionado con anterioridad el análisis de los ácidos grasos por GC con la evaluación de los resultados mediante el análisis multivariado es una herramienta de mucha utilidad en el estudio de las adulteraciones de la grasa láctea.

El Análisis Multivariado se refiere a todos los métodos estadísticos que analizan simultáneamente un gran número de variables sobre un gran número de muestras.

Desde el punto de vista espacial la matriz de datos multivariados se puede representar como un conjunto de “n” individuos en un espacio definido por “p” variables, o como un conjunto de “p” variables definidas en un espacio de “n” dimensiones. El sistema debe estar sobredeterminado, es decir la relación del número de individuos o muestras al número de variables debe ser al menos tres veces.

La base de las técnicas multivariadas descriptivas como Análisis por Componentes Principales (PCA) es la reducción de la dimensionalidad permitiendo la representación de las muestras en un espacio de menores dimensiones. El principal objetivo es investigar la estructura de los datos para revelar similitudes o diferencias, así como también estudiar las relaciones entre las unidades experimentales (muestras) y sus respuestas (Heussen *et al.*, 2007).

Los datos multivariados ofrecen la posibilidad de ser expresados en combinaciones lineales de variables originales, siendo esta la característica más poderosa, lo que no es factible en el campo univariado. Es posible sintetizar la

mayor parte de la información contenida en los datos originales, en un número reducido de combinaciones (Hair *et al.*, 1999; Thomas, 1994).

Por otro lado las técnicas multivariadas predictivas como, Regresión Lineal Múltiple **RLM**, Regresión por Componentes Principales **PCR** y Regresión por Cuadrados Mínimos Parciales **PLS**, se pueden utilizar para el estudio de dependencia entre dos conjuntos de variables (grupos X e Y) analizadas en las muestras (Molina *et al.*, 1999). Con la aplicación de estas técnicas de regresión, cada variable dependiente y (del grupo Y) puede ser obtenida mediante una combinación lineal de las p variables independientes (del grupo X).

Estas técnicas estadísticas, cuyo objetivo es conseguir la máxima predicción a partir del conjunto de variables independientes (Hair *et al.*, 1999), son muy utilizadas por ejemplo para relacionar la composición química y/o física con propiedades sensoriales, para determinar el porcentaje de componentes en mezclas, etc (Fontecha *et al.*, 2006a y 2006b; Poveda *et al.*, 2004; Ulberth, 2000; Molina Hernández y Martín-Alvarez, 1996).

Objetivos

II.1 Objetivo general

- Determinar en leche y productos lácteos de origen bovino adulteraciones por sustitución de la materia grasa con grasas no lácteas, mediante el análisis de la composición de ácidos grasos por cromatografía de gases y la aplicación de análisis multivariado.

II.2 Objetivos particulares

- Seleccionar y optimizar una metodología analítica para determinar el perfil de ácidos grasos en materias grasas lácteas y no lácteas.
- Caracterizar el perfil de ácidos grasos de las grasas lácteas pertenecientes a la cuenca lechera central de nuestro país.
- Aplicar herramientas estadísticas multivariadas para realizar un estudio exploratorio de los datos cromatográficos con el fin de determinar una posible variación estacional en la grasa láctea.

- Calcular relaciones de concentración de dos o más ácidos grasos, estableciendo los rangos normales para las grasas lácteas. Aplicar las relaciones a muestras adulteradas artificialmente y seleccionar las que permitan detectar la adulteración.
- Emplear métodos de regresión multivariada para extraer la mayor información posible de los datos cromatográficos y obtener modelos matemáticos que sirvan para predecir adulteraciones. Comparar estos resultados con los obtenidos con el estudio de las relaciones.

Materialles y Métodos

Con la finalidad de estudiar la adulteración de la grasa láctea se trabajó con este material y con otras materias grasas que se emplearon como posibles adulterantes. Se cuantificaron los ácidos grasos constituyentes de las mismas y con los resultados se armaron perfiles mezclas de manera de simular muestras de grasas lácteas adulteradas. Para estas mezclas se calcularon relaciones de concentración de los ácidos grasos y se seleccionaron aquéllas que detectaron al adulterante utilizado por comparación con los valores normales calculados para las grasas lácteas genuinas. Además, para cada adulterante se construyeron matrices en las que se combinaron los perfiles cromatográficos de las grasas lácteas genuinas con los de las mezclas y se aplicaron métodos de regresión multivariados de manera de obtener ecuaciones que permitieran detectar posibles adulteraciones.

III.1 Selección de muestras

III.1.1 Grasas lácteas

Se analizaron 64 muestras de grasas lácteas, de las cuales 17 fueron leches fluidas procedentes de tambos controlados por una empresa calificada, y cuya calidad también fue verificada por análisis fisicoquímicos y bacteriológicos en el instituto donde se desarrolló este trabajo de tesis (INLAIN), 45 muestras fueron mantecas comerciales y 2 muestras fueron cremas de leche comerciales, todas provenientes de industrias lácteas reconocidas. Por el origen de las grasas lácteas se las consideró a todas las muestras analizadas como genuinas.

Las mismas se recolectaron durante el transcurso de 3 años, de manera de considerar la variación estacional y lograr una cantidad de muestras suficientes para la evaluación estadística. Es importante destacar que las muestras de grasas analizadas, tanto las obtenidas de las leches fluidas como las provenientes de las grasas comerciales, procedieron de leches mezcla provistas por numerosos tambos pertenecientes a la cuenca de Santa Fe y por consiguiente se las consideró características de la zona.

III.1.1.1 Tratamiento de las muestras lácteas

Leches: A partir de una muestra de aproximadamente 150 L destinada al instituto para la elaboración de quesos, debidamente homogeneizada y termostatizada a 40 - 50°C, se tomó un volumen de 500 ml y se procesó según Murphy, 1990.

La muestra se centrifugó a 200g, se llevó a refrigeración por 30 minutos y se tomó la fase grasa sobrenadante. La misma, consistente en una emulsión de grasa en agua (crema), se batió enérgicamente para romper la emulsión y liberar la grasa y se transformó en una emulsión de agua en grasa (manteca).

Cremas: Este proceso de batido fue el utilizado para las muestras de cremas de leche.

Mantecas: Las mantecas comerciales y las emulsiones de agua en grasa obtenidas de las leches y de las cremas se trataron de la siguiente manera: se fundieron a una temperatura entre 50 – 60°C y se mantuvieron a esa temperatura en reposo por 2 hrs. Seguidamente se filtraron adicionándoles sulfato de sodio anhidro para facilitar la clarificación (eliminación de agua e impurezas) (ISO 14156, 1999).

Todas las materias grasas anhidras obtenidas de los distintos productos se conservaron a -18°C hasta el momento del análisis.

III.1.2 Grasas no lácteas empleadas como adulterantes

Se utilizaron materias grasas de origen animal y vegetal para preparar las muestras adulteradas.

Las materias grasas animales estudiadas fueron de origen vacuno y porcino, debido a que la producción de las mismas en nuestro país es elevada y además son grasas de bajo costo, motivos por los que se pueden emplear como adulterantes. Algunas se obtuvieron del comercio y otras en el laboratorio por fusión del tejido adiposo. Por otro lado, la grasa vacuna es considerada por muchos investigadores (Ulberth, 1995; Precht, 1992a; Toppino *et al.*, 1982) como el mayor desafío en cuanto a su detección cuando se la mezcla con grasa láctea en bajos niveles, debido a la similitud en los perfiles de los ácidos grasos de ambas materias grasas.

Como materias grasas vegetales se seleccionaron los aceites de girasol y de soja de gran producción y bajo costo, los que fueron obtenidos de distintas marcas comerciales. También se empleó grasa de coco, producto de muy baja producción y consumo en nuestro país, pero con un perfil de ácidos grasos diferente al de los aceites vegetales comunes y con ácidos grasos de bajo peso molecular que también están presentes en la grasa de leche.

Para ello se utilizaron 10 muestras de grasa vacuna, 7 muestras de grasa porcina, 5 muestras de aceite de girasol, 2 muestras de aceite de soja y 2 muestras de grasa de coco.

III.1.2.1 Tratamiento de las muestras utilizadas como adulterantes

Las grasas animales y las de coco se fundieron entre 50 y 60°C, se dejaron a esa temperatura en reposo 2hrs, se filtraron en presencia de sulfato de sodio anhidro y se conservaron a –18°C hasta el momento del análisis. Con respecto a los aceites de girasol y de soja, los mismos se filtraron y se conservaron a –18°C hasta el momento del análisis.

III.1.3 Grasas lácteas utilizadas como muestras incógnitas

Se analizaron 13 muestras de grasas lácteas provenientes de 4 mantecas, de 6 dulces de leche y de 3 leches en polvo.

III.1.3.1 Tratamiento de las muestras incógnitas

Las mantecas se trataron según el punto III.1.1. Los dulces de leche se trataron de la siguiente manera: se diluyeron con agua para obtener una suspensión homogénea y se procesaron con el procedimiento utilizado para leche fluida. Las leches en polvo fueron reconstituidas y tratadas como leches fluidas.

III.2 Análisis y cuantificación de ácidos grasos

Para analizar los ácidos grasos constituyentes de la materia grasa fue necesario someter la muestra a una reacción química de manera de liberarlos para su posterior estudio por cromatografía de gases. Por tal motivo se probaron y compararon dos metodologías: saponificación y transesterificación de los

triglicéridos. En ambos casos se obtuvieron los ésteres etílicos de los ácidos grasos, los que se cuantificaron con el método de estándar interno, para el que se usaron los ácidos enántico ($C_{7:0}$) y margárico ($C_{17:0}$). Se determinaron los ácidos grasos que se encuentran en cantidades mayores a 1%, $C_{4:0}$, $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$, $C_{14:0}$, $C_{14:1}$, $C_{15:0}$, $C_{16:0}$, $C_{16:1}$, $C_{18:0}$, $C_{18:1}$, $C_{18:2}$, $C_{18:2}$ conj. y $C_{18:3}$, y el $C_{10:1}$, que está en menor proporción pero también es característico de la grasa láctea (MacGibbon y Taylor, 2006).

III.2.1 Método de saponificación y esterificación

En la reacción de saponificación los ácidos grasos esterificados en la materia grasa, fueron separados con un tratamiento en medio alcalino en caliente. De esta manera se obtuvieron las sales (jabones) de los diferentes ácidos que posteriormente fueron sometidos a la reacción de esterificación (Christie, 1982).

La técnica de saponificación, que se detalla a continuación, se adaptó de manera de agregar junto a la grasa en estudio los ácidos grasos utilizados como estándares internos.

La metodología de saponificación utilizada fue la siguiente:

En un tubo de vidrio con tapa a rosca de aprox. 15 ml de capacidad se pesó 150 mg de la materia grasa preparada según III.1.1.1, se adicionó 10 ml de n – hexano y se agitó hasta disolución. Se colocó 1 mL de esta solución en un vaso de precipitado de 15 – 20 mL de capacidad, se adicionó 0,4 mL de una solución de concentración conocida de $C_{7:0}$ (aprox. 1 mg / ml de isopropanol) y 2 mL de una sol. de concentración conocida de $C_{17:0}$ (aprox.1 mg / ml de isopropanol), 0,5 mL de NaOH al 50% y 2 ml de isopropanol. Se llevó a estufa a

100 ± 2°C hasta sequedad. Las sales obtenidas fueron sometidas a la reacción de esterificación como se detalla a continuación.

Para la reacción de esterificación el procedimiento seleccionado fue la esterificación catalizada por ácido en donde los ácidos grasos reaccionan en caliente con el alcohol que se encuentra en exceso, en presencia de una pequeña cantidad de un ácido fuerte (reacción de esterificación de Fischer) (Jensen, 2002; Christie, 1982).

Si bien el metanol es el alcohol más utilizado con esta finalidad, se trabajó con etanol para disminuir la volatilidad de los ésteres de ácidos grasos de bajo peso molecular, lo que ocasionaría pérdidas en la cuantificación y además se lo eligió por su menor toxicidad.

La metodología de esterificación utilizada fue la siguiente:

Las sales de los ácidos grasos se trasvasaron a un tubo de vidrio con tapa a rosca de aprox. 40 mL de capacidad y se adicionó 1 g de Na₂SO₄ anhidro. Se agregaron 4 mL del reactivo de esterificación (EtOH absoluto – H₂SO₄ 10% v/v) y 4mL de etanol absoluto, se tapó el tubo, se agitó en vortex y se colocó en estufa a 70 ± 2°C durante aprox. 1 h. Luego se dejó enfriar la solución, se adicionó 1 mL de n - hexano a la mezcla de reacción para extraer los ésteres etílicos formados y se agregó 6 mL de agua destilada, se agitó la solución en vortex aproximadamente 1 minuto y se mantuvo en reposo durante 30 minutos a 7°C para facilitar la separación de fases. La fase superior de hexano se trasvasó a un tubo de vidrio con tapa a rosca de 5mL de capacidad conteniendo Na₂SO₄ anhidro, de manera de eliminar posibles vestigios de agua que podrían deteriorar

la columna cromatográfica. Posteriormente se realizó el análisis cromatográfico por triplicado inyectando 1 μ L de esta solución y la cuantificación correspondiente se efectuó según III.2.3.2 (Perotti, 2003).

III.2.2 Método de transesterificación

Para la transesterificación de los triglicéridos se seleccionó el procedimiento en medio ácido, tomándose como base la técnica de la FIL (FIL-IDF 182:1999b), que fue modificada en este trabajo. En la misma los triglicéridos reaccionan en caliente con alcohol en presencia de un ácido fuerte como catalizador, produciéndose el intercambio del glicerol por otro alcohol.

La técnica FIL emplea como reactivo esterificante una solución de metanol – ácido sulfúrico, con la que se obtienen ésteres metílicos de los ácidos grasos.

Por las razones detalladas en III.2.1 en este trabajo se utilizó como reactivo esterificante una solución de etanol – ácido sulfúrico, obteniéndose los ésteres etílicos. Con el cambio de reactivo esterificante, se variaron otras condiciones, tales como la cantidad de muestra y la temperatura, lográndose una técnica más simple.

La metodología de transesterificación desarrollada fue la siguiente:

En un tubo de vidrio con tapa a rosca de aprox. 15 mL de capacidad se pesó 150 mg de la materia grasa preparada según III.1.1.1, se adicionó 10 mL de n – hexano y se agitó hasta disolución. Se colocó 1 mL de esta solución en un tubo de vidrio con tapa a rosca de aprox. 40 mL de capacidad conteniendo 1 g de Na_2SO_4 anhidro, se adicionó 0,8 mL de una solución de concentración conocida

de **C_{7:0}** (aprox. 0,5 mg / mL de EtOH), 4 mL de una solución de concentración conocida de **C_{17:0}** (aprox. 0,5 mg / mL de EtOH), 3,2 mL del reactivo de esterificación (EtOH – H₂SO₄ 10%) y se colocó en estufa a 70 ± 2°C durante 3 horas. El procedimiento de extracción de los ésteres etílicos y el análisis cromatográfico se continuó como en III.2.1.

III.2.3 Separación cromatográfica de los ésteres etílicos

El procedimiento instrumental más empleado para la separación y cuantificación de los ácidos grasos es la cromatografía de gases (CG), donde se los obtiene en secuencia cronológica a medida que van eluyendo de la columna (Christie, 1982; De la Fuente y Juárez, 1993).

Se empleó un cromatógrafo de gases Perkin Elmer Auto System XL serie 900, equipado con un sistema de inyección split – splitless, un detector de ionización de llama (FID), acompañado de una PC conteniendo un software TurboChrom v. 4.0 que permite la recolección y análisis de datos.

Se usó una columna capilar con fase estacionaria de polaridad intermedia (PE Wax) disponible en el instituto, que permitió resolver satisfactoriamente los ésteres etílicos de los ácidos desde C₂ hasta C₂₂.

En la Tabla III.1 se observan las características de la columna y los parámetros operativos según lo sugerido por la U. S. Food and Drug Administration (FDA, 2000) para los análisis cromatográficos, que se aplicaron en este estudio.

Tabla III.1 Condiciones operativas para la separación de los ésteres etílicos de ácidos grasos por CG

<i>Características de la columna</i>			
Dimensiones	30 m x 0,25 mm diámetro interno x 0,25 μm espesor del film		
Material y fase estacionaria	Sílice fundida, FE: polietilen glicol		
Procedimiento de acondicionamiento de la columna	1 hora a 230°C		
<i>Parámetros de operación</i>			
Volumen y modo de inyección	1 μL , modo de inyección split		
Temperatura del inyector	220 °C		
Temperatura, rango y atenuación del detector FID	275 °C, rango = 1, atenuación = 1		
	Temperatura (°C)	Tiempo (min.)	Rampa (°C min.⁻¹)
Programa de temperaturas del horno	50	4	10
	150	3	10
	230	5	10
Gas carrier	Nitrógeno		
Velocidad de flujo de gas carrier	3,3 mL min. ⁻¹		
Relación de split	1/52		
Tiempo total de la corrida	30 min.		
Adquisición y procesamiento de datos	Software TurboChrom v. 4. 0		

Luego de obtenido el cromatograma con el software se calculó el área debajo de la curva (pico) para todos los compuestos y las relaciones de áreas de cada componente con el área del estándar interno correspondiente (ver III.2.5).

III.2.4 Selección de la metodología de análisis

Las dos metodologías ensayadas en este trabajo, la de saponificación, puesta a punto y utilizada en el laboratorio del INLAIN en su etapa correspondiente a la derivatización de los ácidos grasos donde se cuantificaron 10 ácidos grasos (Perotti, 2003), y la de transesterificación, utilizada para este trabajo, se compararon aplicándolas en dos oportunidades diferentes y por triplicado a una muestra de grasa láctea.

Los resultados obtenidos para los 10 ácidos grasos expresados en relación de áreas ($A_i / A_{\text{est. int.}}$) para una muestra de 150 mg, se observan en la Tabla III.2. En la misma se presentan los valores medios y las desviaciones estándar para las dos metodologías.

Tabla III.2 Comparación de las metodologías de Saponificación y transesterificación

Ácido graso	Saponificación - Esterificación							Transesterificación						
	1 ^{er} oportunidad			2 ^{da} oportunidad			$\bar{x} \pm ds$	1 ^{er} oportunidad			2 ^{da} oportunidad			$\bar{x} \pm ds$
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃		X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	
C _{4:0}	3,45	3,78	3,60	3,71	3,74	3,88	3,69±0,15	3,65	4,05	4,02	3,59	3,97	4,00	3,88±0,20
C _{6:0}	4,58	4,99	4,56	4,52	4,93	4,50	4,68±0,22	4,78	4,98	4,94	4,72	4,88	4,92	4,87±0,10
C _{8:0}	3,72	4,01	3,77	3,97	3,96	3,63	3,84±0,16	4,53	4,31	4,25	4,17	4,20	4,26	4,29±0,13
C _{10:0}	10,16	9,87	10,08	9,97	9,75	10,02	9,97±0,15	11,22	10,91	10,85	11,08	10,71	10,77	10,92±0,19
C _{12:0}	13,15	11,95	12,14	12,25	12,80	12,50	12,46±0,45	14,01	13,68	13,94	14,20	13,76	13,49	13,85±0,25
C _{14:0}	5,94	6,13	5,85	5,87	6,05	5,77	5,93±0,13	5,66	5,54	5,42	5,45	5,35	5,47	5,48±0,11
C _{16:0}	16,62	16,35	16,81	16,41	15,85	16,60	16,44±0,33	15,54	15,90	15,52	15,35	15,33	15,70	15,56±0,22
C _{18:0}	8,56	8,89	8,67	8,46	8,78	8,56	8,65±0,16	8,16	8,24	8,07	8,06	7,97	8,13	8,10±0,10
C _{18:1}	16,56	16,25	17,09	16,35	17,03	16,87	16,69±0,36	15,60	15,70	15,67	16,04	15,95	15,51	15,74±0,21
C _{18:2}	1,48	1,60	1,51	1,46	1,58	1,50	1,52±0,06	1,39	1,42	1,38	1,37	1,37	1,40	1,39±0,02

Se observó que las técnicas fueron repetitivas con un CV < 10%. Por los resultados obtenidos en este ensayo se eligió la metodología de transesterificación por ser más rápida y simple.

III.2.5 Cuantificación de los ésteres de ácidos grasos

Como se mencionó anteriormente, el método de cuantificación cromatográfico utilizado fue el de estándar interno. El mismo es conveniente cuando no se dispone de un inyector automático, debido a que permite independizarse del volumen de inyección y de posibles variaciones en las

condiciones de operación. Es recomendable adicionar el estándar interno al inicio de la metodología, sobre todo cuando la misma comprende varias etapas minimizando así pequeñas variaciones en las operaciones preliminares al análisis cromatográfico (FDA, 1994; Willard *et al.*, 1992).

Para la cuantificación de los ácidos grasos fue necesario construir curvas de calibración con las que se relacionó el área del compuesto estándar que se adicionó a la muestra en concentración conocida con el área del compuesto incógnita, determinándose así la concentración del mismo (Willard *et al.*, 1992; McNair, 1981). Para su realización se utilizaron los siguientes patrones de ácidos saturados: butírico (C_{4:0}), caproico (C_{6:0}), enántico (C_{7:0}), caprílico (C_{8:0}), cáprico (C_{10:0}), laúrico (C_{12:0}), mirístico (C_{14:0}), palmítico (C_{16:0}), margárico (C_{17:0}) y esteárico (C_{18:0}) y de ácidos insaturados, oleico (C_{18:1}) y linoleico (C_{18:2}). Para cuantificar los ésteres de ácidos grasos de bajo y medio peso molecular (C_{4:0} hasta C_{12:0}) se empleó como estándar interno el ácido enántico (ácido heptanoico) y para los ésteres de los ácidos de alto peso molecular (de C_{14:0} hasta C_{18:2}) se utilizó el ácido margárico (ácido heptadecanoico). Con los mismos se prepararon soluciones mezcla de concentración conocida, se llevaron a sequedad en medio alcalino y se prepararon los ésteres etílicos con el proceso de esterificación mencionado en III.2.1. En este procedimiento se contempló no sólo la respuesta que tiene cada compuesto al detector, sino también la repetitividad de la metodología de esterificación.

Inicialmente se identificaron y cuantificaron los 10 ácidos grasos mencionados, luego por la observación de los cromatogramas de las grasas lácteas analizadas y al disponer de bibliografía específica (Antila, 1983), se identificaron otros ácidos grasos que se cuantificaron empleando las curvas del

ácido graso más próximo en la serie homóloga. Para el C_{10:1} se empleó la curva de C_{10:0}, para C_{14:1} la de C_{14:0}, para C_{15:0} se utilizaron las curvas de C_{14:0} y C_{16:0} y se promediaron los resultados, para C_{16:1} la de C_{16:0} y para C_{18:3} y C_{18:2 conj.} la de C_{18:2}. De esta manera se lograron identificar y cuantificar 16 ácidos grasos.

Procedimiento analítico para la construcción de las curvas de calibrado:

Se prepararon entre 6 y 8 mezclas estándares conteniendo cantidades crecientes de las soluciones patrones de los ácidos, desde C_{4:0} hasta C_{18:2}, y una cantidad fija de las soluciones de los estándares internos (aprox. 0,4 mg de C_{7:0} y aprox. 2,0 mg de C_{17:0}). A cada una de las mezclas se les adicionó un volumen de NaOH 0,1 N para alcalinizar la solución a viraje neto de fenolftaleína, se evaporaron a sequedad y se sometieron a la reacción de esterificación y extracción de los ésteres según III.2.1. Se inyectó 1 µl de cada mezcla, por triplicado y en serie (es decir 1, 2, 3, 4,, 1, 2,), para eliminar errores que puedan surgir de pequeñas variaciones en las condiciones del cromatógrafo.

Se aplicó el modelo de regresión lineal simple por mínimos cuadrados para obtener la ecuación de la recta para cada compuesto, según la siguiente ecuación:

$$A_i / A_{est. Int.} = a + b C_i / C_{est. int}$$

Donde:

a: ordenada al origen

b: pendiente

A_i / A_{est. Int.} : relación de áreas = Y

C_i / C_{est. int.} : relación de concentraciones = X

Con las curvas de calibrado se estimaron las concentraciones de los compuestos en muestras incógnitas C_i (mg/mL), por interpolación o regresión inversa utilizando la respuesta instrumental medida para dicha muestra ($A_i / A_{est.int.}$) (Sharaf *et al.*, 1988). En la Tabla III.3 se muestran los parámetros obtenidos para las curvas incluyendo el límite de detección y el de cuantificación (ICH, 2005; FDA, 1994), los que se calcularon de la siguiente manera:

$$LD = 3,3 \times S_r/b$$

$$LQ = 10 \times S_r/b$$

Donde:

b: pendiente de la curva de calibrado del ácidos graso de interés

S_r : desviación estándar de la regresión

Tabla III.3 Parámetros de las curvas de calibrado para cada ácido graso

Ácido graso	a	b	R ²	LD	LQ
C _{4:0}	0,0171	0,2461	0,9901	0,40	1,22
C _{6:0}	-0,0020	0,7956	1,0000	0,03	0,09
C _{8:0}	0,0184	1,0822	0,9999	0,07	0,22
C _{10:0}	0,0193	1,2872	0,9997	0,09	0,28
C _{12:0}	0,0132	1,4024	0,9997	0,10	0,32
C _{14:0}	0,0017	1,0435	0,9975	0,09	0,27
C _{16:0}	0,0207	1,0226	0,9998	0,06	0,19
C _{18:0}	0,0029	1,0214	0,9997	0,03	0,09
C _{18:1}	0,0635	1,0120	0,9976	0,29	0,89
C _{18:2}	0,0023	0,9748	0,9993	0,04	0,11

a: ordenada al origen, b: pendiente, R²: coeficiente de determinación, LD: límite de detección; LQ: límite de cuantificación

III.2.6 Expresión de resultados

Los resultados obtenidos de los perfiles cromatográficos se expresaron en g de ácido graso 100⁻¹ g de grasa, de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\text{g AG } 100^{-1} \text{ g de grasa} = \frac{\text{Ci (mg mL}^{-1}\text{)}}{\text{PM (g)}}$$

$$C_i \text{ (mg mL}^{-1}\text{)} = \{ (Y - a) / b \} \text{ Cest.int. (mg mL}^{-1}\text{)}$$

Donde:

C_i : concentración del AG de interés

Cest. int.: concentración del estándar interno adicionado a la muestra, ácido enántico o margárico dependiendo del ácido graso cuantificado.

Y : relación de áreas, $A_i / A_{\text{est. int.}}$ correspondiente

a : ordenada al origen.

b : pendiente.

PM: peso de la muestra (~ 0,15 g)

III.3 Aplicación de la metodología de Transesterificación

Se evaluó la eficiencia de la metodología de transesterificación en medio ácido, no solamente en su etapa de derivatización y cromatográfica que está considerada en las curvas de calibrado, sino que se la evaluó en todo el proceso.

Para ello se trabajó con dos grasas lácteas diferentes de concentración conocida para los 16 ácidos grasos. La primera de ellas, procedente de un laboratorio de referencia (Laboratorio del ILC, Lodi, Italia), se analizó en 3 oportunidades distintas y por triplicado.

Si bien los valores fueron repetitivos, como se había comprobado anteriormente en III.2.4, se observó una ligera diferencia al compararlos con los valores de concentración declarados, por lo que fue necesario calcular factores de corrección para cada ácido graso según la siguiente expresión: $F = \text{Valor declarado} / \text{Valor calculado}$. Los mismos variaron entre 0,90 y 1,20 y se utilizaron

para corregir los valores de concentración en $\text{g } 100^{-1}$ g grasa obtenidos del análisis por GC.

La segunda muestra se obtuvo de una manteca comercial de origen nacional cuya concentración se determinó en el mencionado laboratorio de referencia. La misma se analizó en cuatro oportunidades diferentes y por triplicado.

Se calcularon los valores medios de concentración en $\text{g } 100^{-1}$ g grasa corregidos con los factores que se mencionaron anteriormente para las distintas oportunidades. Los mismos, junto al valor del promedio global, SD, CV y los valores procedentes del laboratorio de referencia se muestran en la Tabla III.4.

Tabla III.4 Comparación de valores obtenidos con los del laboratorio de referencia

Ácido graso	Valores propios							Laboratorio de Referencia
	1	2	3	4	\bar{x}	sd	CV%	X
C_{4:0}	4,24	3,62	3,81	4,08	3,94	0,274	7,0	4,29
C_{6:0}	2,21	2,29	2,36	2,37	2,31	0,075	3,3	2,37
C_{8:0}	1,20	1,27	1,16	1,25	1,22	0,050	4,1	1,30
C_{10:0}	2,74	2,80	2,77	2,72	2,75	0,035	1,3	2,79
C_{10:1}	0,31	0,30	0,31	0,31	0,31	0,005	1,8	0,31
C_{12:0}	3,45	3,31	3,57	3,34	3,42	0,118	3,4	3,57
C_{14:0}	11,08	10,77	10,95	10,66	10,86	0,188	1,7	10,62
C_{14:1}	0,95	0,83	0,88	0,85	0,88	0,051	5,8	0,84
C_{15:0}	1,23	1,13	1,14	1,11	1,15	0,053	4,6	1,16
C_{16:0}	24,92	25,30	24,92	24,65	24,95	0,268	1,1	24,83
C_{16:1}	1,13	1,05	1,19	1,18	1,14	0,064	5,6	1,21
C_{18:0}	10,08	10,55	10,29	10,25	10,29	0,194	1,9	10,23
C_{18:1}	23,00	23,81	23,34	23,60	23,38	0,275	1,2	23,16
C_{18:2}	1,69	1,55	1,64	1,65	1,63	0,059	3,6	1,60
C_{18:3}	0,82	0,67	0,68	0,76	0,73	0,071	9,7	0,84
C_{18:2conj.}	1,08	1,21	1,28	1,25	1,20	0,089	7,2	1,18

\bar{x} : promedio global, sd: desviación estándar; CV%: coeficiente de variación en porcentaje

Con el fin de determinar si existían diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos en este trabajo y los del laboratorio de referencia, se aplicó a cada ácido graso un test “t” simple (Walpole y Myers, 1992) de acuerdo a la siguiente expresión:

$$t = \frac{|\bar{x}_{obs} - x_{ref}|}{S_{obs} / \sqrt{n}}$$

Donde:

x_{obs} : valor promedio de concentración obtenido con el método de transesterificación.

x_{ref} : valor de concentración obtenido por el laboratorio de referencia.

S_{obs} : desviación estándar de las concentraciones obtenidas.

n : número de oportunidades.

En todos los casos los valores de $t_{calculada}$ fueron menores que los valores de t_{tabla} , por lo que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para los ácidos grasos cuantificados.

Por consiguiente, la metodología de transesterificación en medio ácido se adoptó para la realización de este trabajo ya que resultó ser además de sencilla y rápida, repetitiva y eficiente.

Las materias grasas empleadas se analizaron por duplicado según la transesterificación con esta metodología y se obtuvieron los perfiles cromatográficos promedio cuantificando 16 ácidos grasos.

III.4 Procesamiento de los resultados

En primer lugar los datos cromatográficos de las grasas lácteas se sometieron a un análisis exploratorio y luego se realizó el estudio de la adulteración de la grasa láctea con grasas no lácteas mediante el cálculo de relaciones de ácidos grasos y técnicas de regresión.

III.4.1 Análisis exploratorio de los datos cromatográficos

Una vez obtenidos los perfiles cromatográficos se realizó un examen exploratorio de los datos, para lo cual se construyó una matriz compuesta por las 16 concentraciones de ácidos grasos (columnas) y las 64 muestras de grasas lácteas analizadas (filas), por lo que cada cromatograma o fila representó una muestra y cada ácido graso una variable independiente. En primer lugar se analizó cada variable en forma individual, las relaciones entre ellas y se identificaron casos atípicos o respuestas extremas que pudieran influenciar indebidamente a los resultados.

Posteriormente se analizaron simultáneamente todas las variables obtenidas de las muestras con técnicas estadísticas multivariadas.

III.4.1.1 Análisis univariado y bivariado

Para cada variable se realizaron histogramas en los que se superpuso la curva normal de manera de caracterizar la forma de su distribución y evaluar su normalidad y diagramas de cajas (boxplot) para identificar los casos atípicos. Estos diagramas proporcionan información bastante completa sobre el grado de dispersión de los datos y el grado de asimetría de la distribución. Los mismos incluyen la mediana, los percentiles 25 y 75 y una serie de valores atípicos, los que se alejan por encima de 1,5 longitudes de caja del percentil 75 ó del 25, y los llamados extremos, alejados en más de 3 longitudes de caja de dichos percentiles.

Para el estudio de las relaciones entre las variables se realizó un gráfico de dispersión (ver Apéndice I) para todas las combinaciones posibles de dos variables, en el que los puntos representan las muestras analizadas. El patrón de los puntos indica la naturaleza de la relación entre las variables. Cuando se organizan a lo largo de una línea recta se tiene una relación lineal, pero pueden estar organizados a lo largo de una curva indicando una relación no lineal, o puede suceder que los puntos no sigan un patrón definido no existiendo en este caso relación entre las variables. Los coeficientes de correlación (Pearson) obtenidos para cada combinación de variables constituyen lo que se conoce como matriz de correlaciones, en la cual se representa en la diagonal la correlación de una variable con ella misma ($r = 1$) y por debajo (o por encima) de la diagonal las correlaciones entre los pares de variables.

III.4.1.2 Análisis Multivariado. Análisis por Componentes Principales

Para realizar un estudio multivariado de los datos se utilizó el Análisis por Componentes Principales (PCA). Es un método en el cual las variables originales son transformadas en nuevas variables que son ortogonales (no correlacionadas), llamadas Componentes Principales (PC's).

En este análisis la variancia-covariancia del sistema se explica con unas pocas nuevas variables que son combinaciones lineales de las variables originales. Esto se logra mediante la transformación de un set de variables X_1, X_2, \dots, X_p observadas para las muestras, a un nuevo set PC_1, PC_2, \dots, PC_p . Cada PC, se puede representar de la siguiente manera:

$$PC_i = a_{i1} X_1 + a_{i2} X_2 + \dots + a_{ip} X_p$$

Los coeficientes, a_{ij} , expresan la contribución de las variables originales X_1, X_2, \dots, X_p al PC y se denominan "loadings", la suma algebraica de los mismos para una muestra en un PC es conocido como el "score" para esa muestra en ese PC. El primer PC se construye de manera tal que extraiga el máximo de la varianza del set de datos. El segundo PC y los que siguen extraen el máximo de la varianza remanente y no están correlacionados con los PC's extraídos previamente, por lo que no comparten información. Unos pocos PC's son suficientes para explicar la mayoría de la varianza y los restantes que explican un porcentaje mínimo de varianza, no aportan información relevante para la diferenciación o agrupamiento de las muestras (Prupp *et al.*, 2000).

El PCA se puede realizar de dos maneras: con la matriz de correlaciones o con la matriz de covarianza.

En el primer caso los datos son estandarizados antes del análisis, de manera que cada variable tiene una media de cero y una desviación estándar de uno. De esta manera se captura el aporte de todas las variables, en lugar de unas pocas con variancia interna comparativamente amplia. Cuando las variables tienen distintas unidades de medida es recomendable realizar el análisis con esta matriz.

En el otro caso los datos son centrados a la media. Se utiliza esta manera de analizar los datos cuando es importante mantener la relatividad de la variancia de las variables (Coker *et al.*, 2005).

En este trabajo se realizó el PCA con la matriz de correlaciones y se analizaron las gráficas de los scores con el propósito de realizar una exploración visual de la estructura de los datos (Purcell *et al.*, 2005) y poder identificar valores extremos (outliers).

III.4.2 Detección de adulteraciones en las grasas lácteas

Realizado el análisis exploratorio de los datos y seleccionadas las muestras de grasas lácteas, se procedió a estudiar la existencia de posibles adulteraciones en la grasa láctea, objetivo propuesto en este trabajo. Para ello, con los distintos adulterantes cuya composición en ácidos grasos fue determinada experimentalmente, se obtuvieron mediante cálculos matemáticos la composición de muestras adulteradas.

III.4.2.1 Obtención de las muestras adulteradas

Para obtener las muestras adulteradas, los perfiles de ácidos grasos de las grasas lácteas se mezclaron con los de las grasas adulterantes en distintos porcentajes, aplicándose a cada ácido graso la siguiente ecuación:

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

Donde:

AG_n : g de ácido graso "n" 100^{-1} g de grasa.

% GL: porcentaje de grasa de leche en la mezcla.

% A: porcentaje del adulterante en la mezcla.

Por ejemplo, si para una muestra de grasa láctea la concentración de ácido butírico es de $3,87 \text{ g } 100^{-1} \text{ g grasa}$ y para la grasa vacuna es de $0,00 \text{ g } 100^{-1} \text{ g grasa}$ y suponemos una adulteración con 2% de esta última, la concentración del ácido butírico en la muestra adulterada será:

$$3,79 \text{ g } C_{4:0} 100^{-1} \text{ g grasa adulterada} = 98\% \times 3,87 \text{ g } C_{4:0} 100^{-1} \text{ g grasa láctea} + 2\% \times 0,00 \text{ g } C_{4:0} 100^{-1} \text{ g grasa vacuna}.$$

De esta forma, se calcularon los perfiles mezcla para cada grasa láctea con cada uno de los perfiles de las grasas no lácteas considerando los niveles de 2, 5, 10 y 15% de adulteración. Estos porcentajes se propusieron de manera de considerar un valor muy bajo de adulteración como es el de 2% y un valor medio

como el de 15%, difíciles de detectar con las metodologías clásicas (Índice de RM, Índice de refracción, etc.).

III.4.2.2 Análisis de relaciones de ácidos grasos

Las relaciones de concentración de dos o más ácidos grasos es una de las herramientas utilizadas para la detección de adulteración de la grasa láctea. El CAA en su artículo 555 bis propone cuatro relaciones para detectar la presencia de grasa no láctea de origen animal (Tabla III.5) y en bibliografía (Pinto *et al.*, 2002a; Ulberth, 1994; Toppino *et al.*, 1982; Juárez y Martínez - Castro, 1980) se proponen otras relaciones para detectar adulteraciones con grasa animal y vegetal (Tabla III.6). Se observa una gran variabilidad en los rangos propuestos lo que puede deberse a que las grasas lácteas fueron estudiadas en diferentes épocas y además provienen de distintos orígenes (australianas y europeas). En la Tabla IV.8 de Resultados y Discusión se resumen estos valores en un rango global.

En primer lugar se calcularon las relaciones mencionadas para las muestras de grasas lácteas genuinas y los valores obtenidos se compararon con los valores propuestos por el CAA y por los distintos autores.

Tabla III.5 Relaciones de ácidos grasos propuestas en el CAA para la detección de grasas animales. Rango de variación

Relación de Ácidos grasos	Rango de Variación
C_{10:0}/C_{8:0}	1,85 – 2,30
C_{12:0}/C_{10:0}	0,95 – 1,30
C_{14:0}/C_{12:0}	3,0 – 4,1
C_{14:0}/C_{18:1}	> 0,30

Tabla III.6 Relaciones de ácidos grasos obtenidas de bibliografía para detectar adulteraciones en la grasa láctea

Relación de Ácidos grasos	Juárez y Martínez – Castro	Toppino <i>et al.</i> , 1982	Ulberth 1994	Pinto <i>et al.</i> , 2002a
$C_{4:0}/C_{6:0}$	1,34 – 1,69 1,32 – 1,98 1,42 – 2,22	-	1,43 – 1,92	1,49 – 2,13
$C_{6:0}/C_{8:0}$	1,40 – 1,77 1,58 – 2,16 1,71 – 2,49	-	1,70 – 1,97	1,48 – 1,87
$C_{10:0}/C_{8:0}$	2,10 – 2,29 1,74 – 2,48	-	1,98 – 2,32	1,90 – 2,42
$C_{12:0}/C_{8:0}$	1,69 – 3,07 1,00 – 1,20	-	-	2,14 – 3,02
$C_{12:0}/C_{10:0}$	1,09 – 1,24 0,92 – 1,32 2,32 – 3,67	0,90 – 1,52	1,09 – 1,19	1,07 – 1,29
$C_{14:0}/C_{12:0}$	2,63 – 3,50 2,51 – 4,33	2,36 – 4,17	3,18 – 3,90	2,72 – 4,31
$C_{14:0}/C_{18:0}$	-	0,77 – 1,70	0,77 – 1,53	-
$C_{14:0}/C_{18:2}$	-	3,13 – 9,44	5,71 – 13,08	-
$C_{16:0}/C_{12:0}$	- 1,93 – 2,74	-	8,64 – 11,39	-
$C_{16:0}/C_{14:0}$	2,21 – 2,65 2,32 – 3,26	-	2,57 – 3,06	1,91 – 3,42
$C_{18:0}/C_{8:0}$	-	4,13 – 9,71	5,65 – 10,85	-
$C_{18:0}/C_{12:0}$	-	1,73 – 4,25	2,10 – 4,99	-
$C_{18:1}/C_{16:0}$	0,71 – 1,19 0,63 – 1,11	-	-	0,60 – 1,25
$C_{18:1}/C_{18:0}$	-	1,99 – 3,07	1,84 – 2,48	-
$C_{18:2}/C_{8:0}$	- 0,74 – 1,33	0,72 – 2,43	0,70 – 1,46	-
$C_{4:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$	0,85 – 1,03 0,85 – 1,29	0,74 – 1,67	0,84 – 1,26	0,89 – 1,39
$C_{12:0}/(C_{4:0} + C_{6:0})$	-	-	0,39 – 0,61	-
$C_{18:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	1,52 – 3,36	2,05 – 3,71	-
$(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	-	11,58 – 18,91	-
$(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	-	0,70 – 1,77	0,65 – 1,35	-
$(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	5,60 – 12,00	6,67 – 11,60	-

Posteriormente se calcularon estas relaciones para las muestras adulteradas y se analizaron los resultados comparándolos con los valores obtenidos para las grasas lácteas, con el propósito de observar cual de ellas permitió detectar la presencia del adulterante.

III.4.2.3 Análisis por regresión lineal simple y múltiple. Obtención del modelo de predicción

Se estudió la adulteración aplicando técnicas de Regresión Lineal Simple y Múltiple, de manera de obtener un modelo o ecuación matemática que permita predecir el porcentaje de adulteración.

En ambos casos se fijó como variable dependiente el porcentaje de adulteración y como variable(s) independiente(s) la concentración de el (los) ácido(s) graso(s) cuantificado(s).

En la Regresión Lineal Simple (**RLS**) la variable dependiente “y” está linealmente relacionada con una variable independiente “x” a través de una simple línea. El modelo lineal simple se expresa de la siguiente forma:

$$y = \alpha + \beta x$$

Donde los coeficientes de regresión poblacionales son α , ordenada al origen y β , pendiente. Las estimaciones de los parámetros α y β , denominadas “a y b”, se obtienen aplicando el método de los mínimos cuadrados. En el mismo se trata de encontrar la mejor línea de regresión que minimice las desviaciones positivas o negativas en la dirección de “y” (conocidas como residuos de “y”) entre

los puntos experimentales y la línea calculada (Walpole y Myers, 1992; Hair *et al.*, 1999).

Cuando en los modelos de regresión se incluyen más de una variable independiente, y por lo tanto la respuesta medida es función de varias variables más que de una sola, la técnica de regresión se conoce como regresión lineal múltiple (**RLM**) y se expresa de la siguiente manera:

$$y = \alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_k X_k$$

donde X_1 , X_2 , X_k representan las “k” variables experimentales o independientes, α es el término constante y los términos β_i son los coeficientes de regresión parciales que representan el cambio esperado en la respuesta por unidad de cambio en la variable experimental considerando todas las variables restantes como constantes. De igual manera que para la RLS, con el método de los cuadrados mínimos se encuentran los estimadores de los parámetros α y β_i , denominados “a, b_1 , b_2 y b_k ”, en el modelo de regresión lineal múltiple.

Métodos de selección de variables para RLM

Por lo mencionado, la calibración multivariada consiste en establecer una relación entre matrices de datos. Para ello en este trabajo se utilizó la matriz de datos cromatográficos y el porcentaje de adulteración para construir el modelo matemático.

Para obtener el modelo de regresión más adecuado se aplicaron varios métodos que permitieron seleccionar una cantidad de variables independientes altamente relacionadas con la variable dependiente y con mínima correlación entre ellas.

Con este propósito se pueden utilizar los métodos de búsqueda secuencial que ayudan en la búsqueda del “mejor” modelo de regresión, en los que se valoran las variables individualmente en función de su contribución a la predicción de la variable dependiente y se añaden o eliminan según su contribución relativa.

Estos métodos maximizan la predicción con un número reducido de variables. Los mismos proporcionan varios modelos que se desarrollan a partir de un mismo conjunto de datos, seleccionándose el que mejor predice de acuerdo a los valores del error de predicción siendo el estadístico más utilizado para ello el error medio cuadrático (MSE o S^2).

Estos métodos son: a) estimación por etapas y b) eliminación progresiva y regresiva.

a) Estimación por etapas, paso a paso o stepwise: es el método más popular para seleccionar variables. Se lo utiliza cuando el número de muestras es insuficiente y cuando existe multicolinealidad en las variables independientes, es decir cuando alguna de las variables independientes puede ser prácticamente predicha por otras, por lo que comparten información. La multicolinealidad no es deseable debido a que los coeficientes de regresión son pobremente estimados ya que pequeñas fluctuaciones en las muestras tendrán un gran impacto en sus estimadores (Coker *et al.*, 2005; Molina *et al.*, 1999; Molina Hernández y Martín-Alvarez, 1996). También hace difícil la interpretación de la contribución de cada variable, debido a que los efectos de las otras variables independientes influyen o se confunden, dando como resultado porciones mas grande de varianza compartida y mas baja de varianza única (Hair *et al.*, 1999).

Esta técnica examina la contribución de cada variable independiente al modelo de regresión y considera la inclusión de cada una de ellas antes de desarrollar la ecuación. Comienza con el modelo de regresión simple, utilizando la variable independiente que se encuentra más correlacionada con la variable dependiente, luego ingresa una variable independiente adicional que explica además de una parte significativa de la variabilidad, la mayor parte del error que queda de la primera ecuación de regresión. Seguidamente recalcula la ecuación de regresión con las dos variables y examina si la contribución de la primera todavía es significativa dada la presencia de la nueva variable.

Este procedimiento se lleva a cabo para cada variable que se va a incluir en la ecuación y se examinan las incluidas previamente para juzgar su permanencia en el modelo (Hair *et al.*, 1999).

b) Adición progresiva (forward) y Eliminación regresiva (backward):

son fundamentalmente procesos de ensayo y error para buscar los mejores estimadores de la regresión. El modelo de adición progresiva es similar al procedimiento por etapas, mientras que el de eliminación regresiva implica calcular una ecuación de regresión con todas las variables independientes para luego ir eliminando las que no contribuyen significativamente (Hair *et al.*,1999; Walpole y Myers, 1992).

c) Otro método para seleccionar el modelo final es el ***best subset regression models***, que proporciona todos los posibles modelos y de ellos se elige el mejor. Este procedimiento es muy utilizado cuando el número de variables independientes es moderado ya que si son numerosas se utiliza la selección paso a paso (Martens y Naes, 1989).

En el proceso de selección del mejor modelo es apropiado utilizar al menos dos métodos de los mencionados para ver si arrojan el mismo resultado.

Criterios de Selección

Para escoger el modelo más apropiado en los métodos de selección de variables se aplican diferentes criterios. Los más utilizados para este fin son el C_p de Mallows, el coeficiente de determinación múltiple R^2 y el test F (Hair *et al.*,1999; Walpole y Myers, 1992; Martens y Naes, 1989).

El **Cp de Mallows** es una función simple del número total de parámetros en el modelo propuesto y del error medio cuadrático (MSE), y se lo puede considerar como un estimador de la habilidad predictiva. Este estadístico tiene en cuenta que el modelo seleccionado sea equilibrado (parsimonioso), es decir que represente una solución de compromiso entre un ajuste muy pobre (se seleccionan pocas variables para el modelo) y cuando se realiza un ajuste excesivo (se tienen variables redundantes en el modelo).

El C_p da un indicio del sesgo, si el $C_p > p$ (donde el p es el número de parámetros en el modelo) indica que un modelo es sesgado debido a que su ajuste es pobre, mientras que los buenos modelos tienen un C_p cercanos o menores al p (Walpole y Myers, 1992).

El R^2 y el R^2 ajustado son estadísticos de la bondad de ajuste y son útiles para comparar modelos. El $R^2 \times 100$ mide la proporción de varianza explicada por la regresión en la variable dependiente y está influenciado por el número de variables independientes relativas al tamaño muestral, para lo cual se han propuesto varias reglas que van desde un mínimo de 4 a 10 ó 15 muestras por variable independiente. El R^2 se incrementa a medida que una nueva variable independiente se incluye en el modelo, aún si la misma no posee relación alguna con la variable dependiente. Por lo tanto cuando se quieren comparar modelos de diferentes tamaños, ya sea por la cantidad de muestras o de variables independientes, se utiliza el R^2 ajustado que está ajustado por el número de variables independientes en el modelo (Hair *et al.*, 1999; Martens y Naes, 1989).

El C_p y el R^2 se utilizan frecuentemente en el *best subset regression models* y en los métodos de búsqueda secuencial como el *forward* y el *backward* (Statistix User's manual, 2000; Martens y Naes, 1989).

En la selección *forward*, se calculan los valores F para cada variable que no forma parte del modelo y la del coeficiente más significativo se incorpora al mismo, terminando el proceso cuando la variable independiente no incorporada es significativa. En la eliminación *backward* la variable con el menor valor F se elimina del modelo y el proceso termina cuando todas las variables independientes que forman parte del modelo son significativas (Martens y Naes, 1989).

Una vez obtenido el mejor modelo en la etapa de calibración, se debe llevar a cabo la validación del mismo. Para ello se puede aplicar la validación interna, siendo la **validación cruzada** una de las metodologías a emplear. La misma consiste en quitar de la matriz de calibración una muestra a la vez y realizar la calibración con el resto de las muestras. La respuesta de la muestra excluida es luego predicha con el modelo obtenido. Estos pasos se repiten hasta que todas las muestras que componen la matriz se han excluido una vez.

Sin embargo la habilidad predictiva real de un modelo no puede ser juzgada solamente utilizando la validación interna, sino que el modelo propuesto debe ser validado con otras muestras diferentes a las de la calibración, por lo que es conveniente preparar una matriz de predicción (validación externa) (Rodríguez-Nogales, 2006; Ragno *et al.*, 2004; Hair *et al.*, 1999).

III.4.2.3.1 Preparación de las matrices de calibración y de predicción para los distintos adulterantes

Para obtener los modelos de regresión se construyó una matriz de calibración y una de predicción por cada adulterante, seleccionándose del total de grasas lácteas analizadas algunas muestras para la matriz de calibración y otras para la de predicción.

En ambas matrices se incluyeron además de las grasas lácteas genuinas, las mezclas con los adulterantes en los niveles de adulteración estudiados, según III.4.2.1.

De la aplicación de la Regresión Lineal Simple y Múltiple a las matrices de calibración se obtuvieron funciones matemáticas para cada adulterante, que relacionaron el porcentaje de adulteración, A% (variable respuesta o dependiente), con los ácidos grasos seleccionados, C_i (variables independientes o predictoras), de acuerdo a los siguientes modelos generales.

Para RLS: **$%A = b_0 + b_1C_i$**

Para RLM: **$%A = b_0 + b_1C_i + \dots + b_kC_k$**

Para las ecuaciones obtenidas además de los coeficientes de regresión y el coeficiente de determinación R², se calcularon otros parámetros estadísticos. Para la calibración se calculó la raíz cuadrada del error medio cuadrático (RMSEC) que evalúa el buen ajuste del modelo; para la validación interna, la raíz cuadrada

del error medio cuadrático para la validación cruzada ($RMSE_{CV}$) y para la validación externa se calcularon los intervalos de predicción y la raíz cuadrada del error medio cuadrático de predicción (RMSEP), que sirve como un criterio para validar el modelo construido (Rodríguez-Nogales y Vázquez, 2007; Rodríguez-Nogales, 2006; Amador-Hernández *et al.*, 1999).

Las ecuaciones de los parámetros estadísticos se describen a continuación:

$$RMSEC = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2 / n} = \sqrt{MSE} = S$$

Donde:

n : número de muestras de calibración.

y_i : porcentaje de adulteración teórico.

\hat{y}_i : porcentaje de adulteración predicho para las muestras de calibración.

$$RMSE_{CV} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_{(i)} - y_i)^2 / n}$$

Donde:

$\hat{y}_{(i)}$: porcentaje de adulteración predicho cuando el modelo se construye sin la muestra i

$$\text{RMSEP} = \sqrt{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2 / m}$$

Donde:

m : número de muestras de predicción.

\hat{y}_i : porcentaje de adulteración predicho para las muestras de predicción.

También se calcularon los intervalos de predicción para las muestras incluidas en la matriz de predicción con la siguiente expresión:

$$Y_0 = \hat{y}_0 \pm t_{\alpha/2; n-k-1} * S \sqrt{1 + X_0 (X'X)^{-1} X_0'}$$

Donde:

\hat{y}_0 : porcentaje de adulteración calculado con el modelo de calibración desarrollado.

$t_{\alpha/2; n-k-1}$: valor de la distribución t de Student con $n-k-1$ grados de libertad en $\alpha/2$.

k : número de variables independientes en el modelo de regresión obtenido.

$S \sqrt{1 + X_0 (X'X)^{-1} X_0'}$: es el error estándar de la predicción puntual.

En el tratamiento estadístico de los datos se utilizaron los software Statistix 7.0 (Analytical Software, Tallase, FL, Estados Unidos), The Unscrambler 7.6 (CAMO ASA) y SPSS 10.0 (SPSS Inc., Chicago, USA).

III.4.3 Aplicación de los modelos a muestras de grasas lácteas incógnitas

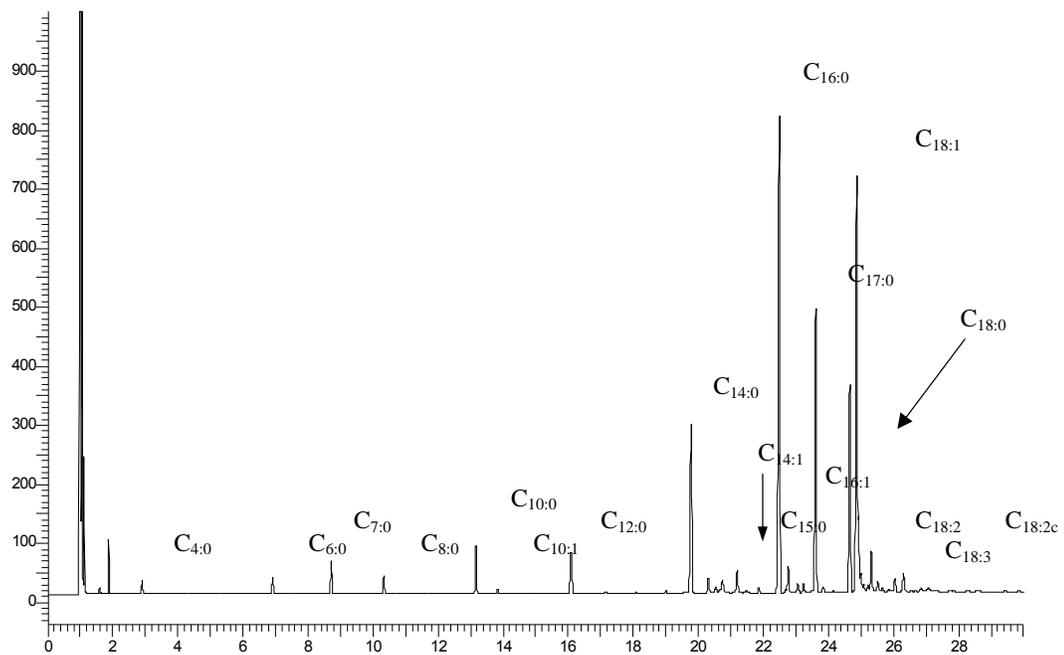
Las ecuaciones obtenidas se aplicaron a grasas lácteas incógnitas provenientes de mantecas, dulces de leche y leches en polvo que se analizaron por duplicado mediante transesterificación en medio ácido y por GC, obteniéndose el perfil de ácidos grasos de las mismas. Los valores de concentración obtenidos se utilizaron para estimar el porcentaje de adulteración aplicando los modelos de RLM seleccionados.

Resultados y Discusión

IV.1 Perfiles cromatográficos de las grasas estudiadas

En la Figura IV.1 se observa como ejemplo el perfil cromatográfico de ácidos grasos de una grasa láctea.

Figura IV.1 Cromatograma característico de grasa láctea



Los perfiles cromatográficos de las grasas utilizadas como adulterantes se muestran desde las Figuras IV.2 a IV.6.

Figura IV.2 Cromatograma característico de grasa vacuna

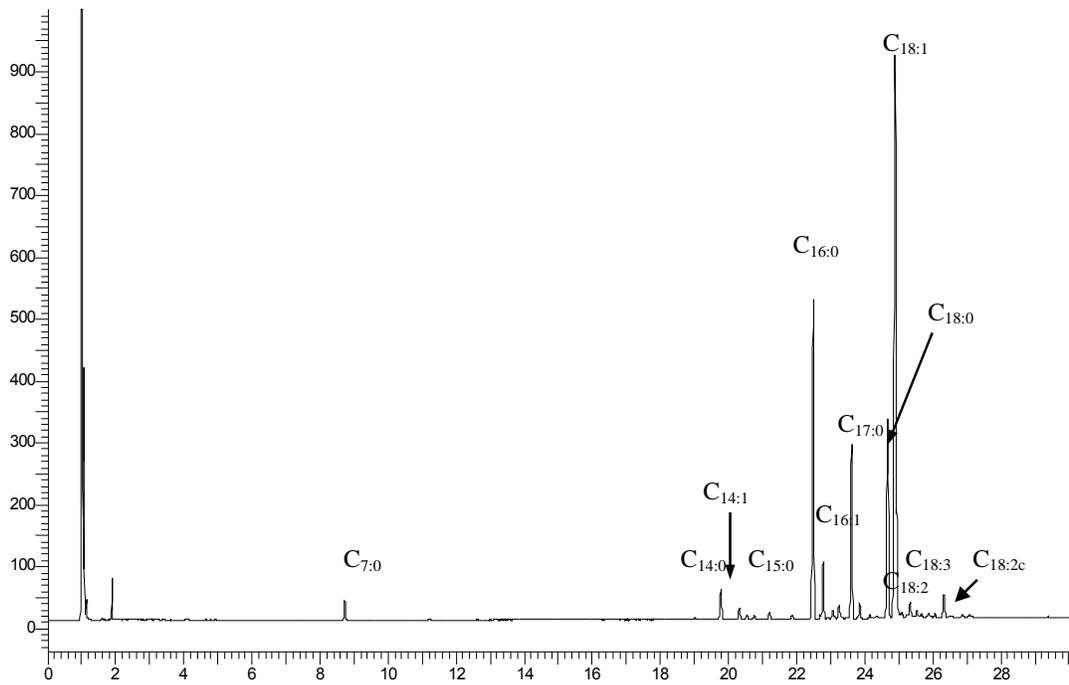


Figura IV.3 Cromatograma característico de grasa porcina

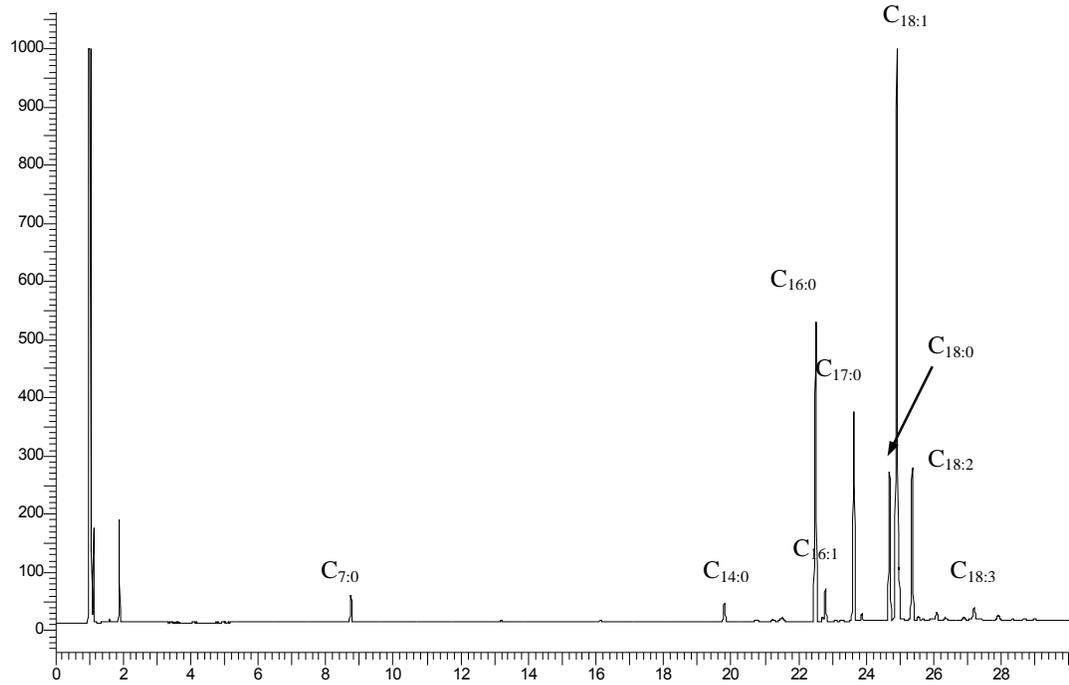


Figura IV.4 Cromatograma característico de aceite de girasol

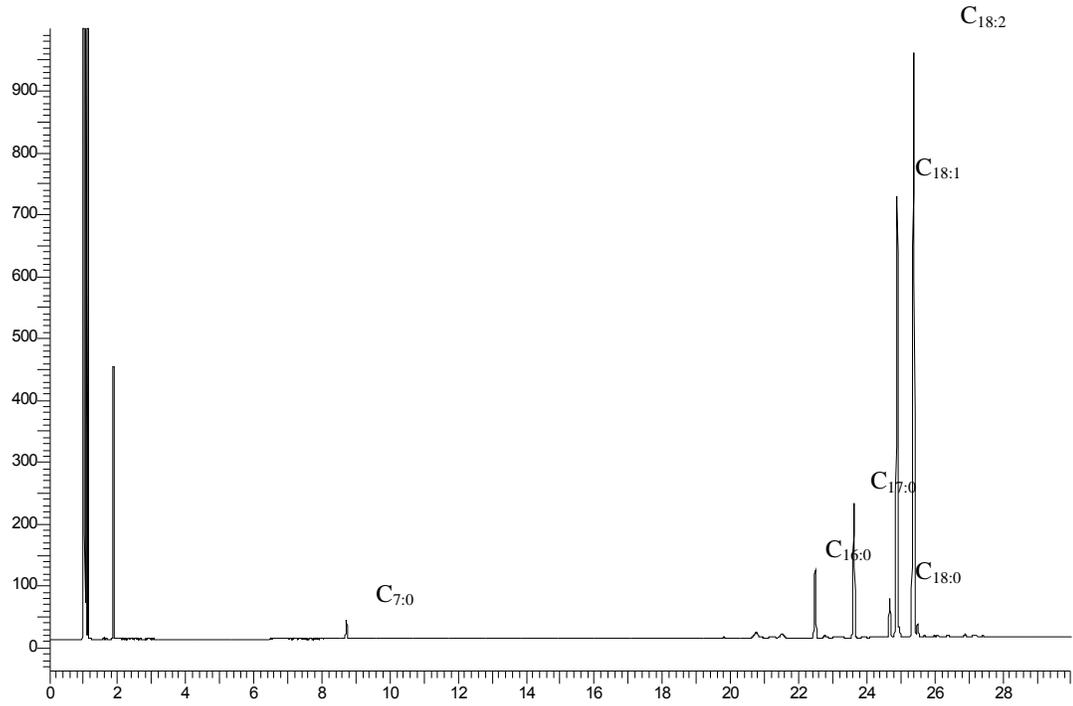


Figura IV.5 Cromatograma característico de aceite de soja

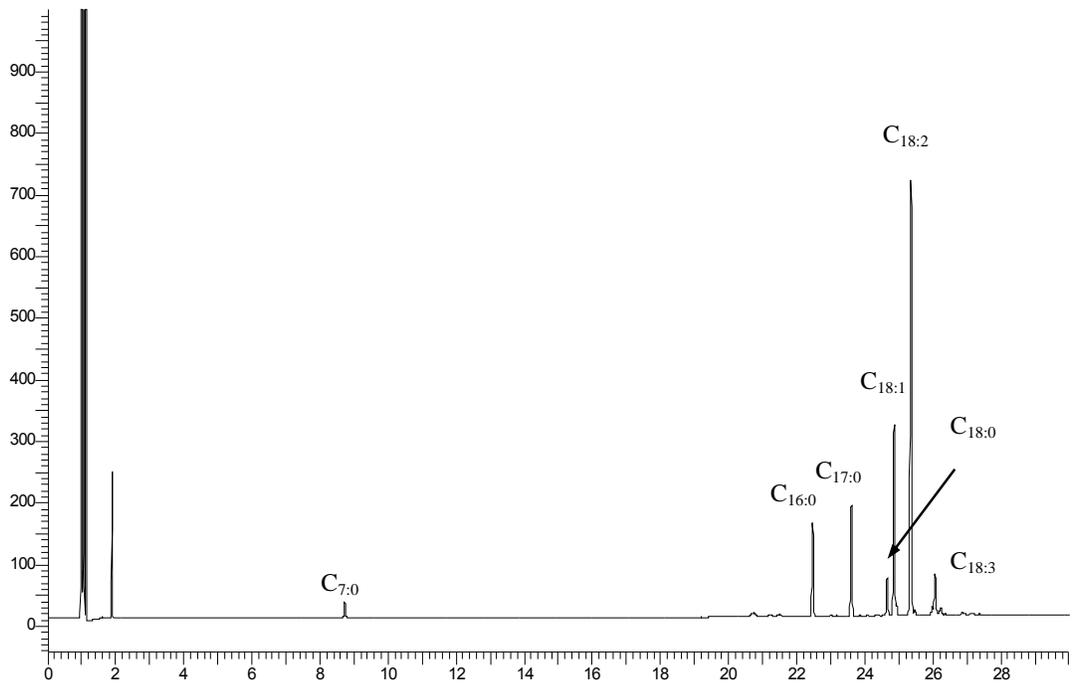
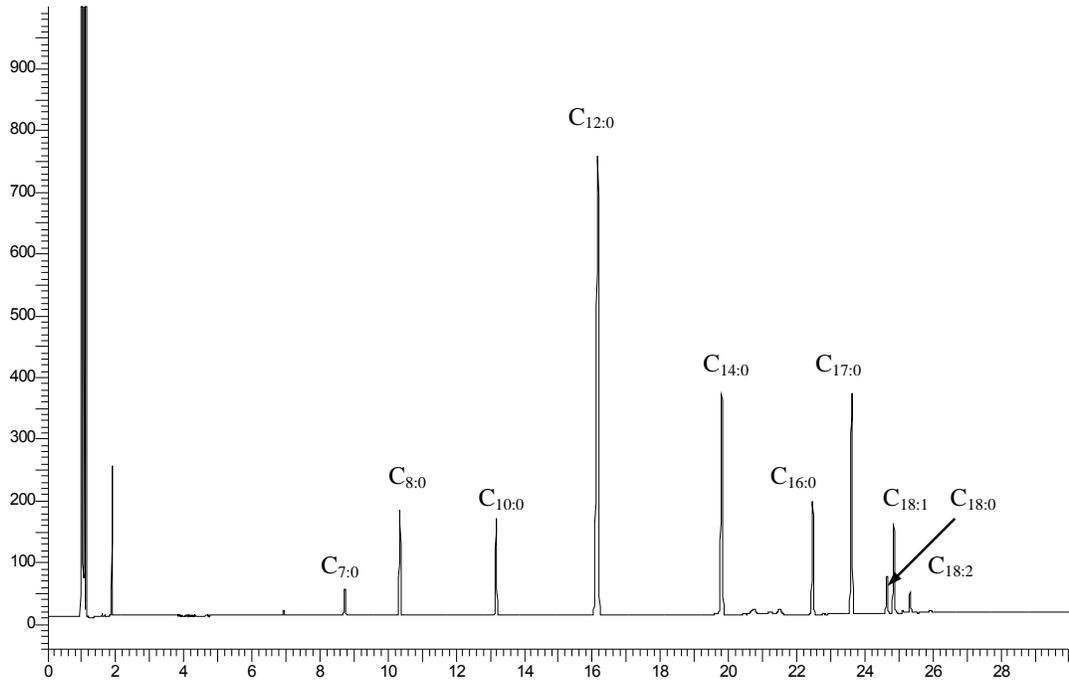


Figura IV.6 Cromatograma característico de grasa de coco



Se observaron diferencias en los perfiles de ácidos grasos para las distintas materias grasas estudiadas.

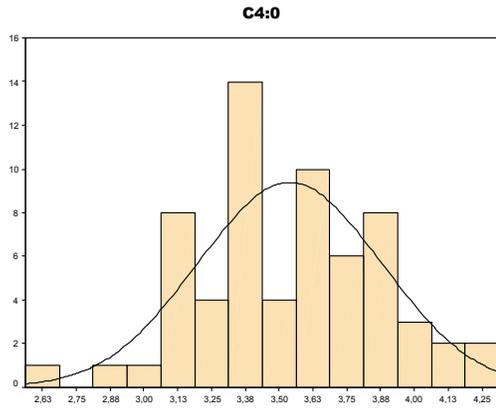
Estas diferencias entre las distintas materias grasas son las que permiten detectar adulteraciones de la grasa láctea con la mayor parte de las metodologías analíticas mencionadas en la introducción.

IV.2 Procesamiento de resultados

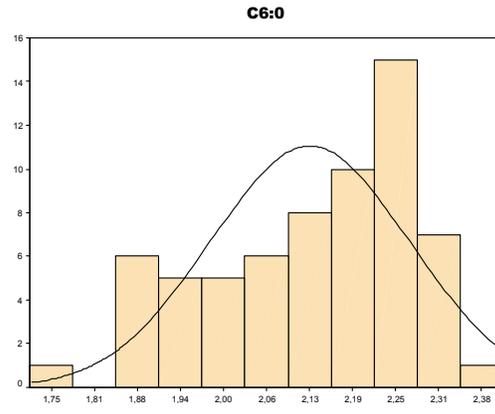
IV.2.1 Análisis previo de los datos

Se cuantificaron 16 ácidos grasos en 64 muestras de grasas lácteas seleccionadas en distintas estaciones durante los años de estudio, la mayor parte procedentes de industrias de primera línea y por lo tanto consideradas en principio como genuinas. En el Apéndice I se observan las concentraciones de los ácidos grasos para las 64 muestras. Estos datos cromatográficos se organizaron en forma matricial quedando conformada la matriz por 16 concentraciones de ácidos grasos (columnas) y 64 grasas lácteas (filas). En primer lugar los datos se analizaron en forma univariada realizándose para cada ácido graso los histogramas (Figuras IV.7 A – P) y los diagramas de cajas y bigotes (Figuras IV.8 A – P).

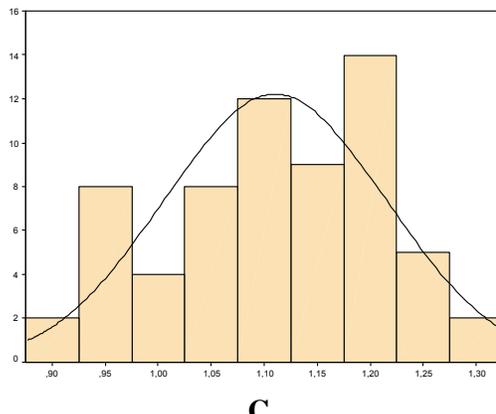
Figuras IV.7 A - P Histogramas de los ácidos grasos



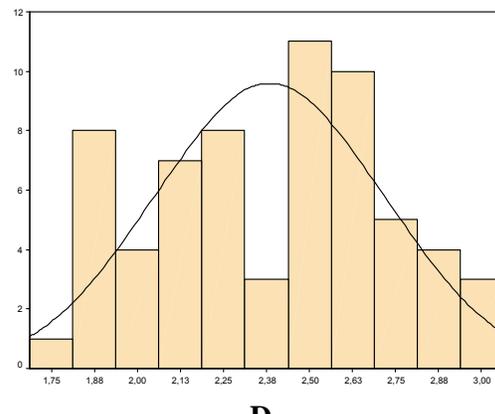
A



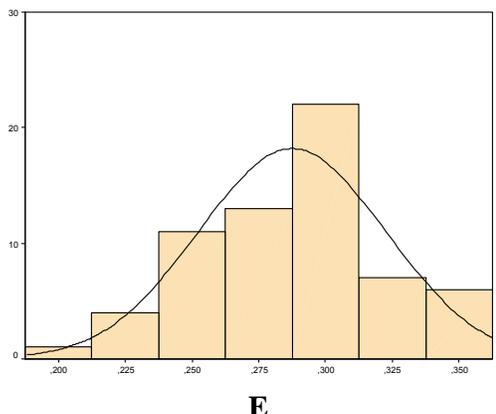
B



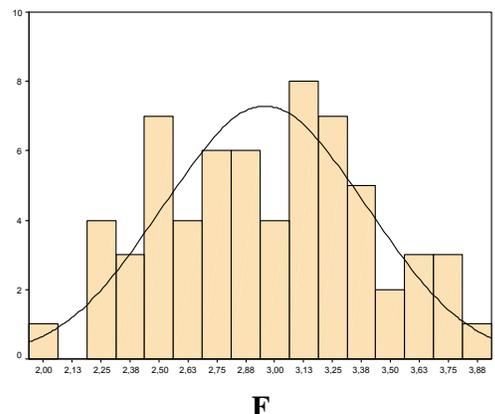
C



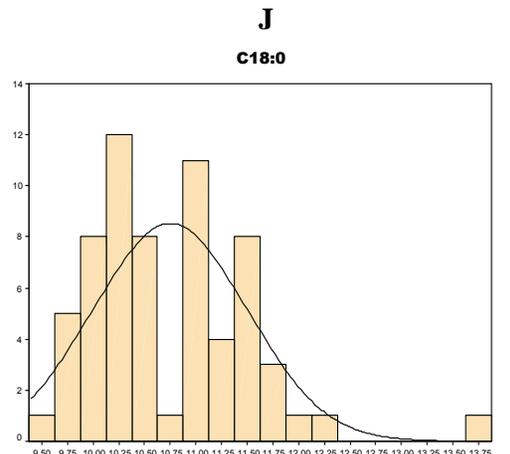
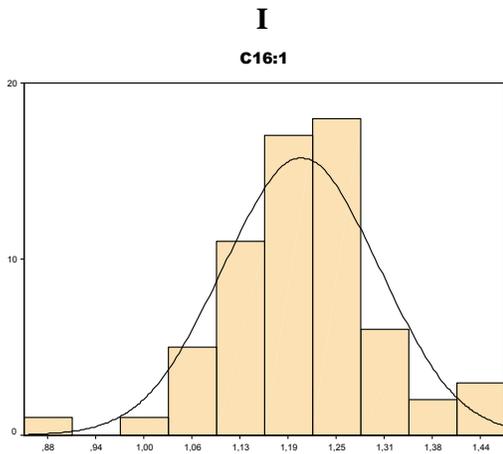
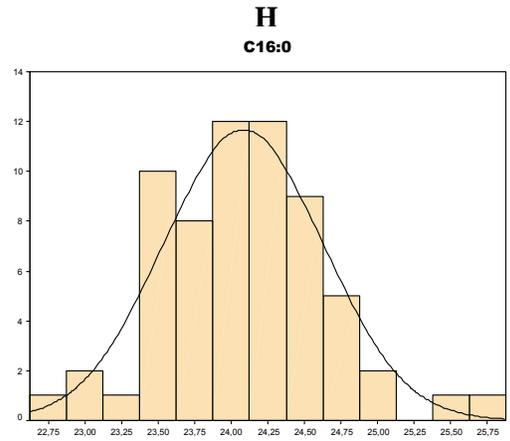
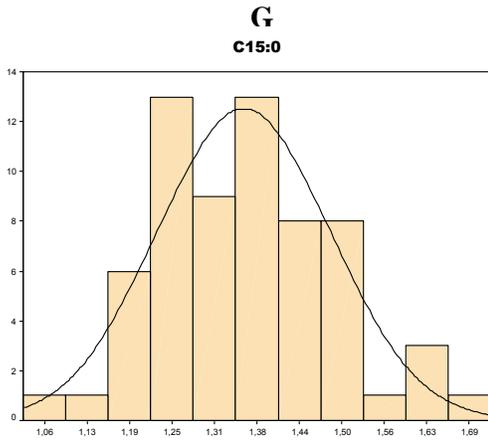
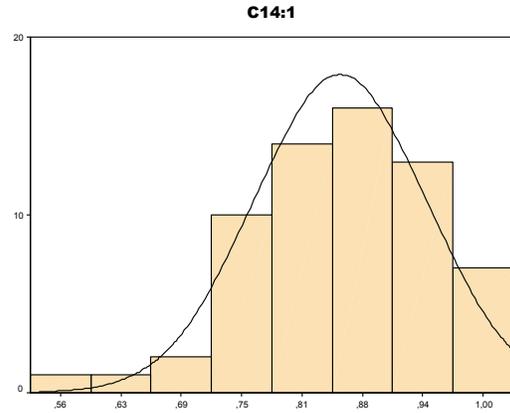
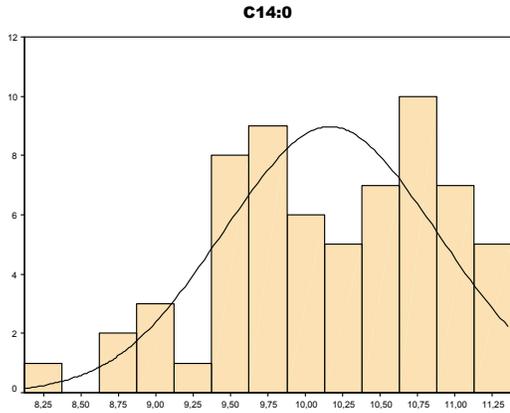
D



E

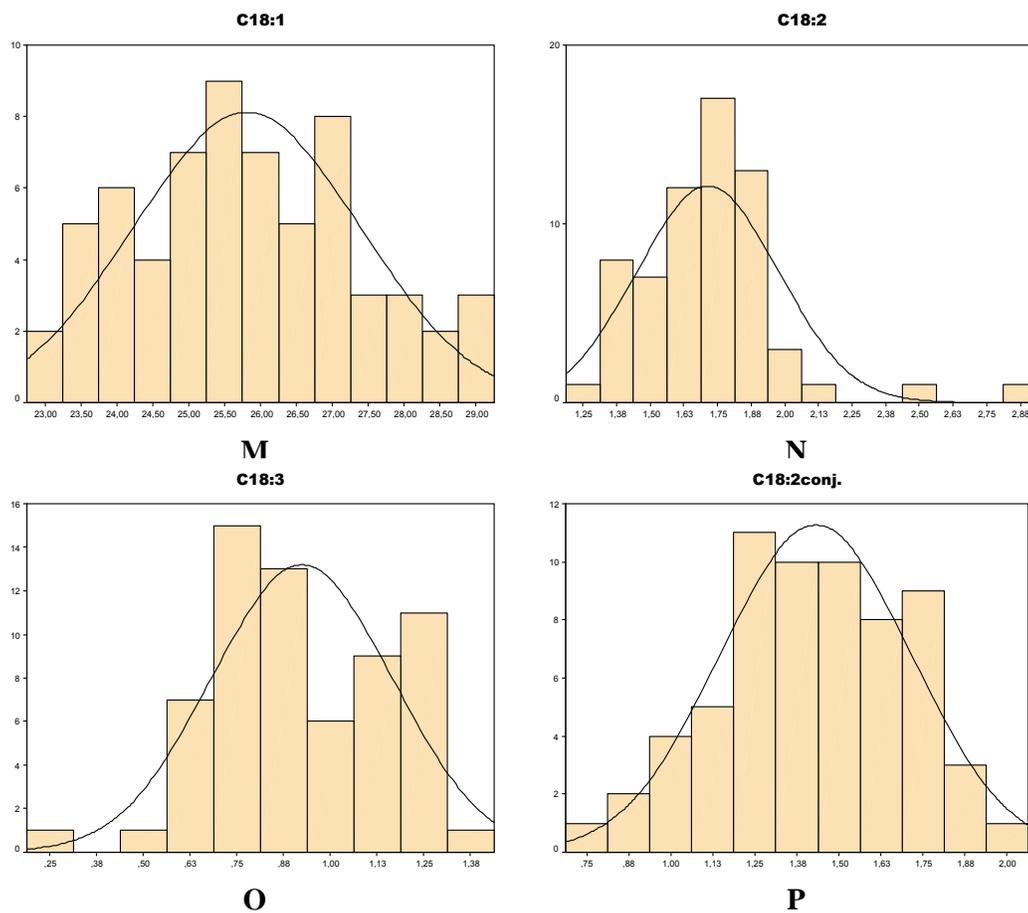


F



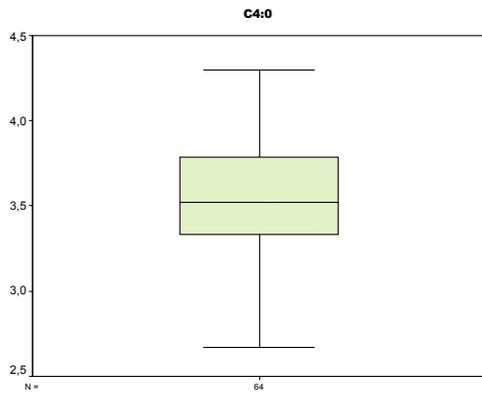
K

L

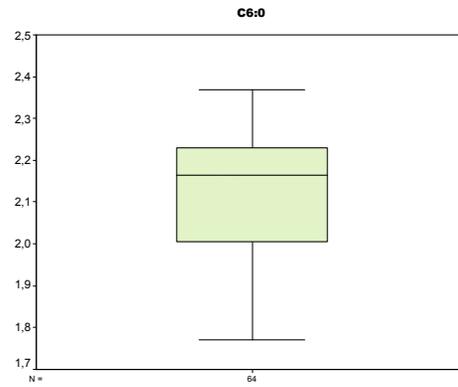


Se observa que la mayoría de los ácidos grasos presentaron distribuciones normales y algunos como C_{6:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:1}, C_{18:0} y C_{18:2} mostraron sesgo.

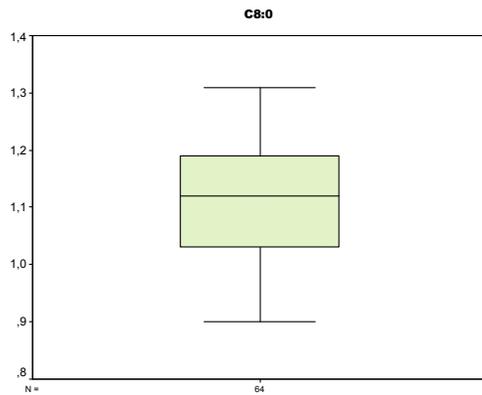
Figuras IV.8 A – P Diagramas de cajas y bigotes de los ácidos grasos



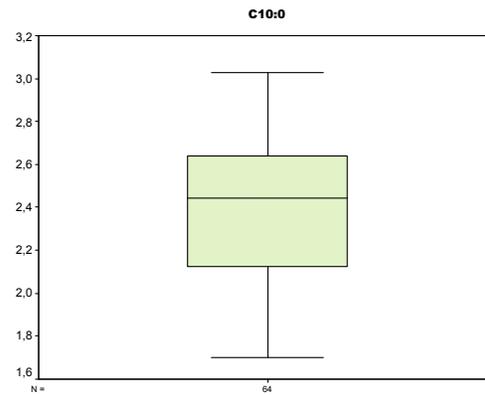
A



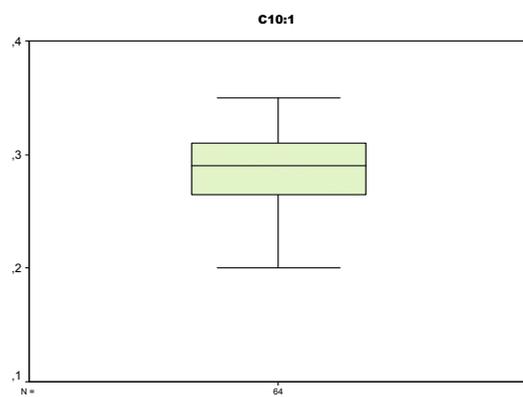
B



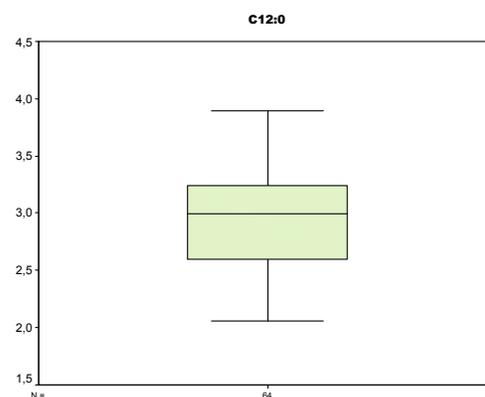
C



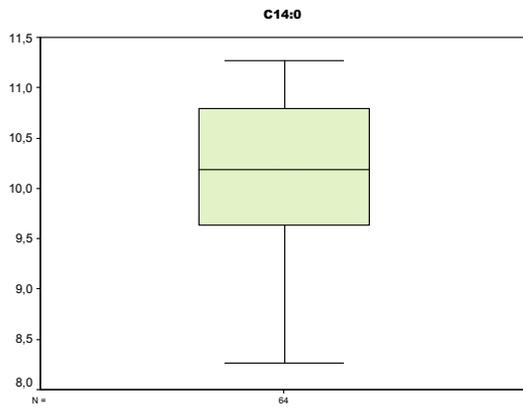
D



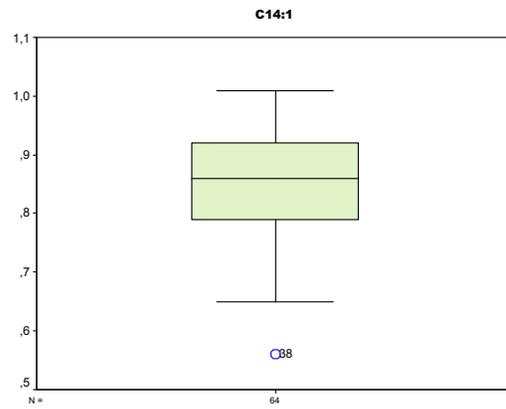
E



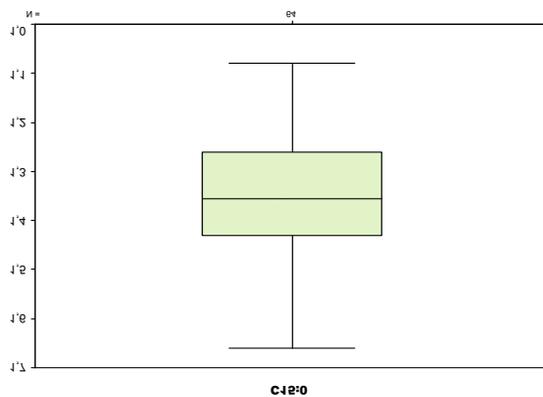
F



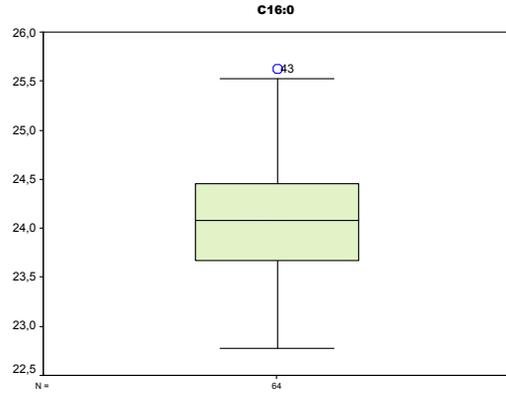
G



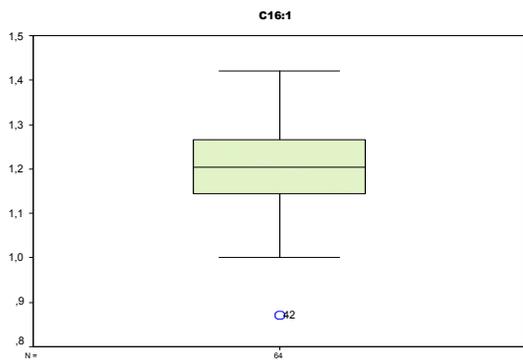
H



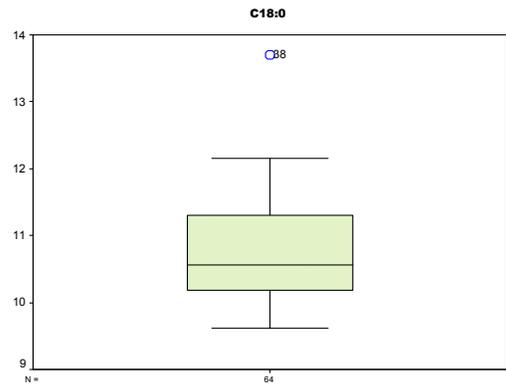
I



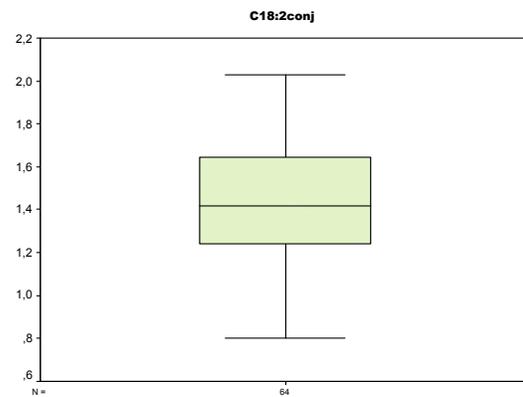
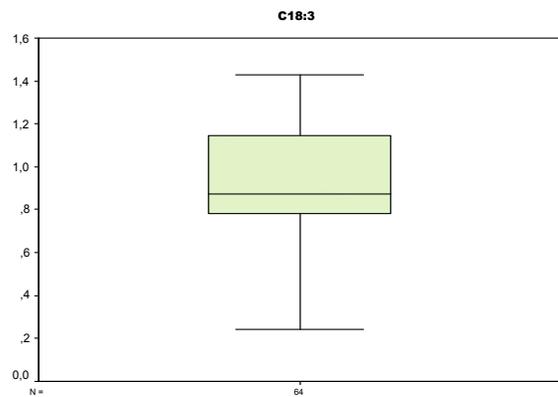
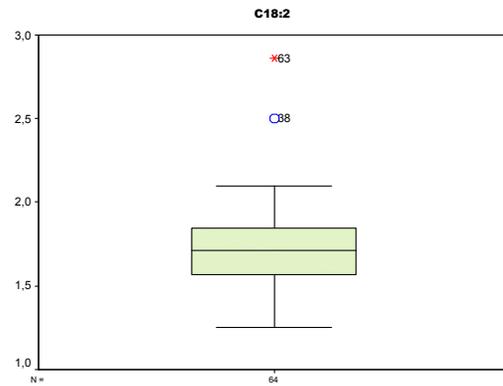
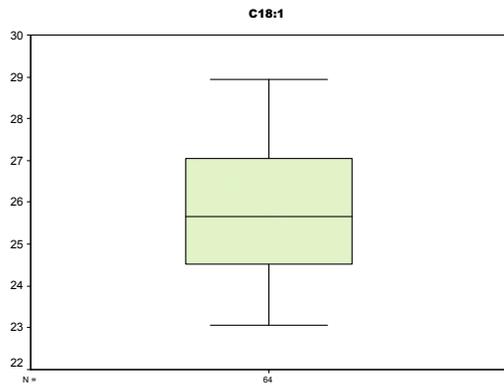
J



K



L



Mediante el análisis de los diagramas se identificaron varios casos atípicos y extremos que se presentan en la Tabla IV.1.

Tabla IV.1 Identificación de casos atípicos en las grasas lácteas estudiadas

Ácido graso	Número de muestra
C _{14:1}	38
C _{16:0}	43
C _{16:1}	42
C _{18:0}	38
C _{18:2}	38; 63

Por lo observado en la Figura IV.8 N la muestra n° 63 está identificada como un caso extremo y en las Figuras IV.8 H, L y N la muestra n° 38 como un caso atípico en 3 variables, por lo que se las deberían eliminar de los análisis posteriores. Sin embargo, estos casos deben ser contemplados en el contexto del análisis y evaluados por el tipo de información que pueden proporcionar, no pudiendo ser clasificados categóricamente como beneficiosos o problemáticos por dicha información (Hair *et al.*, 1999).

Realizado este análisis univariado de los datos, los resultados obtenidos del análisis del perfil de ácidos grasos se analizaron de manera multivariada para estudiar las relaciones entre las variables. Con este propósito a la matriz completa se le aplicó el *Análisis por Componentes Principales (PCA)* para realizar un estudio objetivo acerca de la variabilidad en el set de muestras y evaluar posibles agrupamientos en las mismas.

El análisis se llevó a cabo con la matriz de correlaciones de las variables (ver Tabla IV.2), observándose una elevada correlación entre varios pares de variables lo que es condición necesaria para la reducción de las dimensiones.

Tabla IV.2 Matriz de correlación de las 64 grasas lácteas

	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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2cj}
C _{4:0}	1,00															
C _{6:0}	0,57	1,00														
C _{8:0}	0,21	0,81	1,00													
C _{10:0}	0,10	0,72	0,98	1,00												
C _{10:1}	0,11	0,69	0,89	0,88	1,00											
C _{12:0}	0,06	0,66	0,95	0,98	0,89	1,00										
C _{14:0}	0,31	0,83	0,88	0,84	0,84	0,81	1,00									
C _{14:1}	0,16	0,50	0,55	0,50	0,75	0,53	0,77	1,00								
C _{15:0}	-0,09	0,01	-0,09	-0,10	-0,02	-0,06	-0,04	-0,13	1,00							
C _{16:0}	0,05	0,30	0,24	0,21	0,29	0,17	0,41	0,44	-0,29	1,00						
C _{16:1}	-0,28	-0,44	-0,43	-0,44	-0,20	-0,39	-0,26	0,21	0,05	-0,05	1,00					
C _{18:0}	-0,25	-0,77	-0,82	-0,77	-0,86	-0,76	-0,91	-0,82	0,01	-0,45	0,06	1,00				
C _{18:1}	-0,37	-0,85	-0,92	-0,90	-0,78	-0,86	-0,90	-0,50	0,07	-0,42	0,51	0,78	1,00			
C _{18:2}	-0,09	0,11	0,33	0,41	0,11	0,39	0,14	-0,16	-0,43	-0,11	-0,38	-0,06	-0,35	1,00		
C _{18:3}	0,03	0,35	0,35	0,36	0,26	0,33	0,29	-0,06	0,49	-0,14	-0,13	-0,36	-0,37	0,13	1,00	
C _{18:2cj}	-0,04	-0,16	-0,38	0,42	-0,30	-0,38	-0,33	-0,27	0,74	-0,40	0,26	0,21	0,38	-0,53	0,35	1,00

Para extraer el número óptimo de componentes se pueden seguir distintos criterios. Uno de ellos utiliza los datos que se presentan en la Tabla IV.3, en la que se observa un listado de los *autovalores* asociados a cada PC y el *porcentaje de varianza* que representa cada uno de ellos.

Tabla IV.3 Porcentajes de varianza explicada

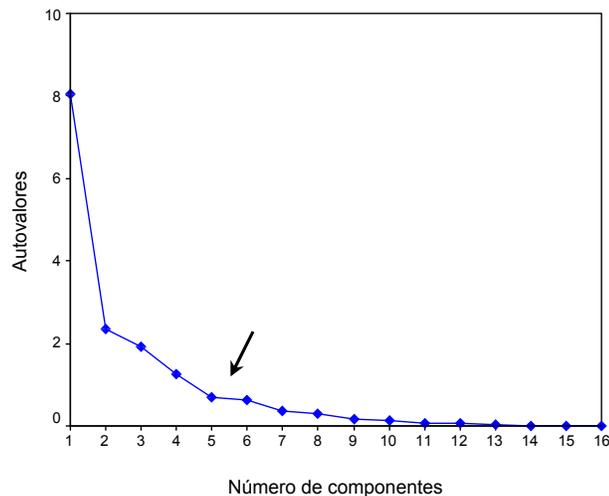
Componente	Autovalores iniciales		
	Total	% de la varianza	% acumulado
1	8,05	50,31	50,31
2	2,38	14,89	65,20
3	1,95	12,20	77,41
4	1,35	8,47	85,87
5	0,75	4,70	90,58
6	0,61	3,84	94,42
7	0,23	1,45	95,87
8	0,20	1,24	97,11
9	0,15	0,97	98,08
10	0,12	0,78	98,86
11	0,09	0,59	99,46
12	0,05	0,32	99,77
13	0,02	0,13	99,90
14	0,01	0,07	99,98
15	$3,3 \cdot 10^{-3}$	0,02	100,00
16	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	100,00

Según el criterio de *porcentaje de varianza explicada*, se deberían elegir una cantidad de componentes que expliquen alrededor del 85 – 90%. Los cuatro primeros componentes explican el 85,9% de la variabilidad total contenida en la matriz de datos, sin embargo si se tiene en cuenta al quinto componente la variabilidad total explicada asciende a 90,6%.

Otro de los criterios es el de *raíz latente*, que se basa en que cualquier componente individual debería justificar la varianza de por lo menos una única variable, por lo que sólo se deben considerar los componentes que tienen raíces latentes o autovalores mayores que uno. En este caso se deberían seleccionar los primeros 4 componentes principales.

Teniendo en cuenta el criterio de *contraste de caída*, en donde se elige el componente para el cual la curva se aplana, sería apropiado elegir para el análisis los cinco primeros componentes (Figura IV.9).

Figura IV.9 Contraste de caída



De acuerdo a los criterios de porcentaje de variabilidad explicada y contraste de caída se decidió realizar el análisis con los primeros 5 Pc`s.

En primer lugar se obtuvo la matriz de las cargas factoriales (Tabla IV.4) para cada uno de los componentes, que explican la correlación entre la variable

original y su componente. Para determinar el nivel de significación de la carga factorial se utilizó una aproximación que tiene en cuenta el tamaño muestral (para nuestro caso 64 muestras). Las cargas factoriales significativas son aquellas superiores a 0,68 (Hair *et al.*, 1999).

Tabla IV.4 Matriz de cargas factoriales

	Componente				
	1	2	3	4	5
C_{4:0}	0,29	0,08	0,01	-0,87	0,31
C_{6:0}	0,85	0,19	-0,03	-0,39	0,02
C_{8:0}	0,97	0,03	-0,14	0,08	0,05
C_{10:0}	0,94	-0,02	-0,20	0,20	0,03
C_{10:1}	0,91	0,10	0,15	0,21	0,10
C_{12:0}	0,92	0,01	-0,18	0,26	0,06
C_{14:0}	0,95	0,10	0,17	-0,03	0,02
C_{14:1}	0,67	0,03	0,66	0,11	0,19
C_{15:0}	-0,13	0,89	-0,12	0,07	-0,16
C_{16:0}	0,39	-0,28	0,52	-0,15	-0,66
C_{16:1}	-0,39	0,16	0,64	0,39	0,28
C_{18:0}	-0,89	-0,19	-0,30	-0,06	-0,02
C_{18:1}	-0,95	-0,01	0,14	0,13	0,13
C_{18:2}	0,29	-0,52	-0,63	0,23	0,11
C_{18:3}	0,32	0,64	-0,42	0,15	-0,16
C_{18:2conj}	-0,42	0,84	-0,01	-0,04	0,02

Para identificar la mayor carga factorial para cada variable se examinó dicha matriz recorriendo los componentes de izquierda a derecha.

Para el primer componente las variables que presentaron cargas factoriales significativas fueron: C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{18:0} y C_{18:1}; para el segundo componente C_{15:0}, C_{18:3} y C_{18:2 conj.}, para el tercero C_{16:1} y C_{18:2}, para el cuarto C_{4:0} y para el quinto C_{16:0}.

Al evaluar las comunalidades (Tabla IV.5) de cada variable todas explicaron un alto porcentaje de variabilidad. La comunalidad representa la proporción de varianza con la que contribuye cada variable a la solución final, la que al menos tiene que explicar la mitad de la varianza de cada variable.

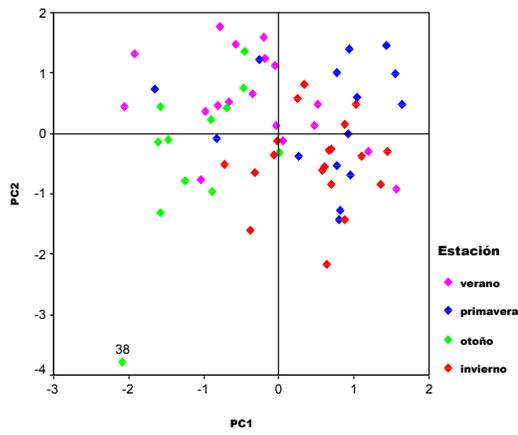
Tabla IV.5 Comunalidades para 5 PC`s

C_{4:0}	0,94
C_{6:0}	0,91
C_{8:0}	0,97
C_{10:0}	0,97
C_{10:1}	0,91
C_{12:0}	0,95
C_{14:0}	0,94
C_{14:1}	0,93
C_{15:0}	0,85
C_{16:0}	0,97
C_{16:1}	0,82
C_{18:0}	0,93
C_{18:1}	0,96
C_{18:2}	0,82
C_{18:3}	0,73
C_{18:2conj}	0,88

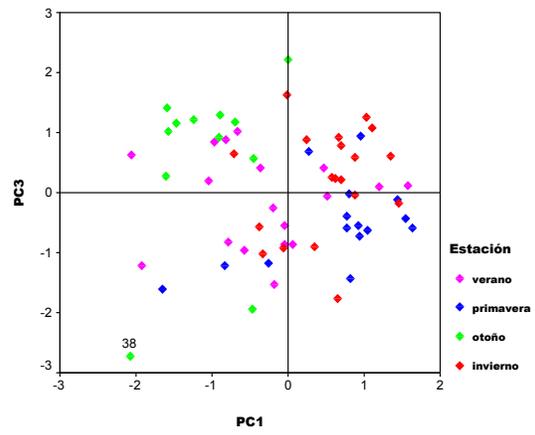
Luego las muestras se representaron en el espacio bidimensional de los componentes principales mediante los PC's scores. En las Figuras IV.10 A – J se observan todas las combinaciones posibles de 2 componentes y las muestras se identificaron por estación.

El propósito de este tipo de análisis es observar la distribución y/o la existencia de grupos de muestras con características similares.

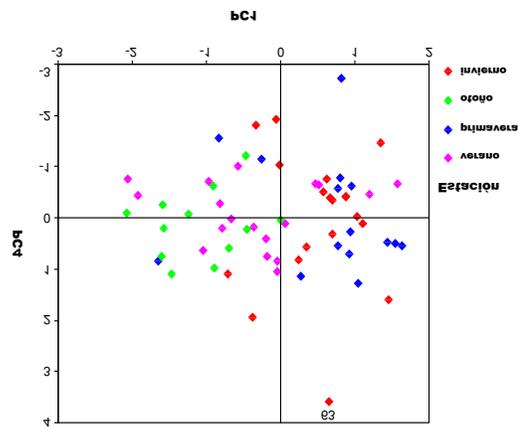
Figuras IV.10 A – J Gráficas de scores de los primeros 5 componentes principales



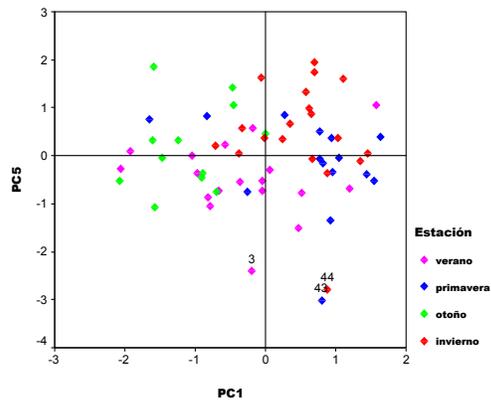
A



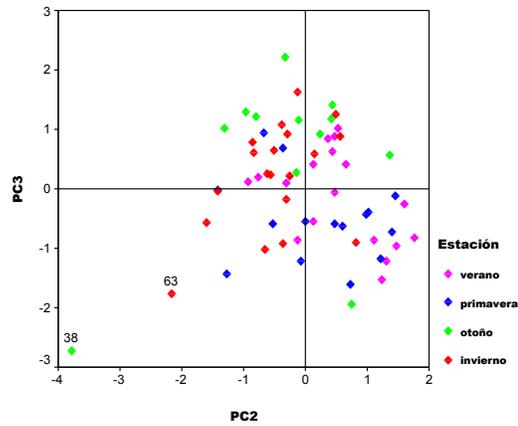
B



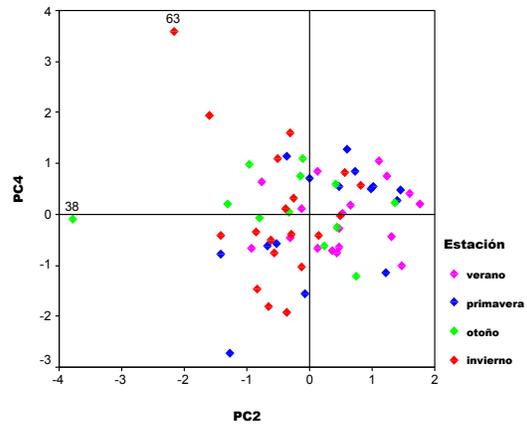
C



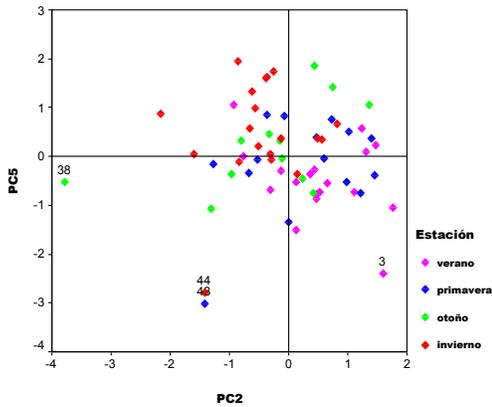
D



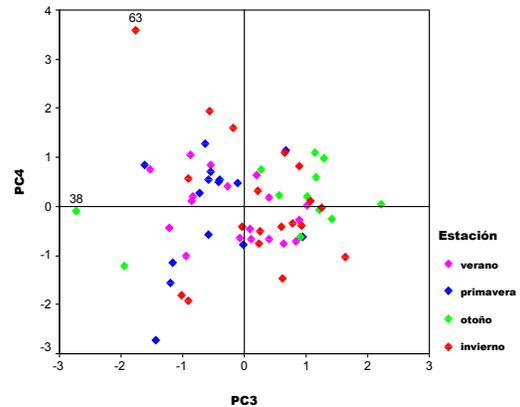
E



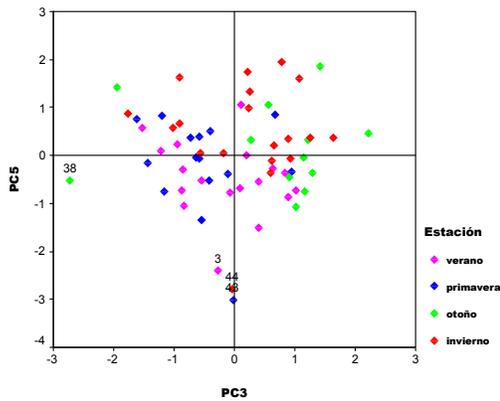
F



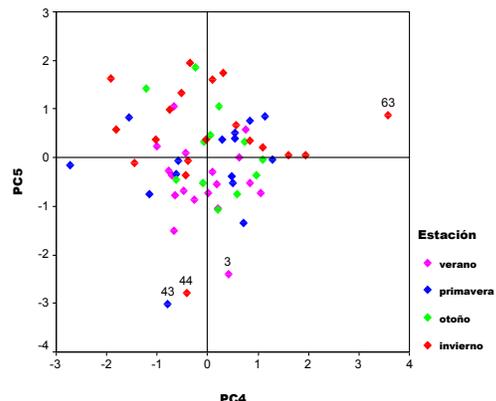
G



H



I



J

En la gráfica de **PC1 y PC2**, las muestras recolectadas en otoño se agruparon en la zona del PC1 negativa y repartidas a lo largo de PC2, y dentro de este grupo la muestra N° 38 se alejó considerablemente de la nube de puntos. Para las muestras recolectadas en verano, invierno y primavera no se observaron agrupamientos.

En **PC1 y PC3** las muestras recolectadas en otoño se agruparon en la zona de PC1 negativa y la mayoría tomaron valores positivos en PC3, y se observó el mismo comportamiento para la muestra N° 38.

Para **PC1 y PC4** se observó que la muestra N° 63 se alejó de la nube de puntos y las muestras de otoño se agruparon a lo largo de PC1 negativo y repartidas en PC4 positivo y negativo.

En cuanto a **PC1 y PC5** se advirtió el mismo comportamiento para las muestras de otoño, y las muestras N° 43 y 44 se ubicaron alejadas de la nube de puntos.

En las gráficas de **PC2 y PC3** se alejaron las muestras N° 38 y 63, las muestras de otoño se agruparon en su mayoría en PC3 positivo y repartidas en PC2.

En **PC2 y PC4** las muestras N° 38 y 63 se mostraron alejadas de la nube de puntos y no se observaron agrupamientos.

Con respecto a **PC2 y PC5** las muestras N° 3, 38, 43 y 44 se alejaron de la mayoría y para las muestras de otoño no se observó agrupamiento.

Para **PC3 y PC4** se observaron las muestras N° 38 y 63 alejadas y las muestras de otoño no se agruparon como en los anteriores PC's.

En la gráfica de **PC3 y PC5** se observaron a las muestras N° 3, 38, 43, y 44 alejadas y la mayoría de las muestras de otoño agrupadas en PC3 positivo y repartidas en PC5.

Finalmente para **PC4 y PC5** se encontraron varias muestras alejadas, N°3, 43, 44 y 63 y no se observó agrupamiento para las muestras de otoño.

Del análisis realizado mediante la observación visual de los PC's scores, se consideró que las muestras no se separan definitivamente por estación.

Las muestras N° 38 y 63 se encontraron claramente fuera de contexto en la mayoría de las combinaciones de los PC's, especialmente en los 3 primeros que son los que reúnen la mayor parte de la variabilidad del sistema.

Por este análisis exploratorio de datos, los tratamientos siguientes se realizaron sobre las muestras de grasas lácteas que mostraron un comportamiento similar en el PCA y que además no mostraron comportamiento extremo en los diagramas de cajas. De esta manera se seleccionaron 62 muestras para el estudio de la adulteración, sin tener en cuenta la época del año en que fueron tomadas.

IV.2.2 Valores de concentración de ácidos grasos para las grasas lácteas

En la Tabla IV.6 se presentan las concentraciones promedio en g 100⁻¹ g de grasa y los valores mínimos y máximos para los ácidos grasos identificados en las 62 grasas lácteas.

Tabla IV.6 Valores en g de ácidos grasos 100⁻¹ g grasa para las grasas lácteas

Ácidos grasos	Media	Valor mínimo	Valor máximo
C_{4:0}	3,56	2,83	4,30
C_{6:0}	2,13	1,86	2,37
C_{8:0}	1,11	0,91	1,31
C_{10:0}	2,38	1,74	3,03
C_{10:1}	0,29	0,22	0,35
C_{12:0}	2,96	2,14	3,89
C_{14:0}	10,20	8,69	11,27
C_{14:1}	0,86	0,65	1,01
C_{15:0}	1,36	1,14	1,66
C_{16:0}	24,10	22,78	25,63
C_{16:1}	1,21	0,87	1,42
C_{18:0}	10,71	9,61	12,19
C_{18:1}^(*)	25,78	23,05	28,87
C_{18:2}	1,68	1,28	2,19
C_{18:3}	0,93	0,49	1,43
C_{18:2conj.}^(**)	1,45	0,85	2,03

^(*) Mayoritariamente 9cis (incluye un mínimo porcentaje de los otros ácidos grasos C_{18:1} que se solapan en las corridas cromatográficas)

^(**) Mayoritariamente 9c – 11t (ácido ruménico)

Los valores obtenidos para cada ácido graso están de acuerdo con los valores publicados para grasas de leches argentinas obtenidas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (Páez *et al.*, 2006; Maritano de Correche, 1982).

IV.2.3 Composición en ácidos grasos de las grasas adulterantes estudiadas

En la Tabla IV.7 se presentan los valores de concentración en g 100⁻¹ g de grasa para los ácidos grasos identificados en las diferentes grasas utilizadas como adulterantes en este trabajo de tesis. Cuando se analizaron más de dos muestras del adulterante se presentan los valores de concentración mínimos y máximos.

Tabla IV.7 Valores en g de ácidos grasos 100⁻¹ g grasa para las grasas utilizadas como adulterantes

Ácidos Grasos	Aceite de Girasol (n=5)		Aceite de Soja (n=2)		Grasa de Coco (n= 2)		Grasa Porcina (n= 7)		Grasa Vacuna (n=10)	
	mín	máx	1	2	1	2	mín	máx	mín	máx
	C_{4:0}									
C_{6:0}										
C_{8:0}					8,98	9,05				
C_{10:0}					6,87	6,92				
C_{10:1}										
C_{12:0}					45,65	41,24				
C_{14:0}					16,95	16,87	0,83	1,95	2,49	5,06
C_{14:1}									0,81	1,59
C_{15:0}									0,42	0,88
C_{16:0}	4,37	5,45	9,52	9,21	6,00	9,37	20,80	26,82	20,52	24,44
C_{16:1}							2,17	3,91	2,94	4,43
C_{18:0}	2,73	3,33	4,00	4,38	1,87	3,75	10,98	14,04	11,75	16,91
C_{18:1}	19,63	42,70	19,53	18,27	4,39	5,62	41,98	45,95	40,96	48,47
C_{18:2}	44,42	66,78	55,26	55,07	0,99	1,87	7,16	11,33	0,66	1,87
C_{18:3}	0,06	0,50	5,56	6,97			0,38	0,98	0,11	0,57
C_{18:2conj.}									0,42	2,43

Comparando las tablas de concentraciones se puede observar, como ya se visualizó en los cromatogramas, que la grasa láctea a diferencia de las otras grasas, exceptuando la de coco, presenta una concentración importante de ácidos grasos de cadena corta y media.

En la grasa de coco es característica una alta concentración de ácido laúrico, y en los aceites de girasol y de soja es importante el contenido de ácido linoleico y en menor medida de ácido oleico. En cuanto a las grasas animales, la porcina contiene una cantidad considerable de ácido linoleico en comparación con la grasa vacuna y la concentración de los ácidos grasos saturados de cadena larga en la grasa vacuna es muy similar a la grasa láctea.

IV.3 Estudios para detectar la adulteración de la grasa láctea

IV.3.1 Análisis de relaciones de ácidos grasos para las grasas lácteas

Con los datos de composición obtenidos para las 62 muestras de grasas lácteas, se calcularon las relaciones de ácidos grasos propuestas por el CAA y las encontradas en bibliografía.

En la Tabla IV.8 se muestran el valor medio y los valores mínimo y máximo para cada una de las relaciones. También se incluyen el rango de variación establecido en el CAA (denominado Rango I) y el rango global (denominado Rango II) proveniente de los valores informados por distintos autores presentados en la Tabla III.6 de la sección de Materiales y Métodos. Los valores obtenidos para cada una de las muestras genuinas que se observan en las Figuras IV.11 a IV.17 son los indicados para el valor “0” del porcentaje de adulteración.

Tabla IV.8 Relaciones de ácidos grasos calculadas para las grasas lácteas

	Relación de Ácidos grasos	Media	Valor Mínimo	Valor Máximo	Rango I (*)	Rango II (**)
R1	$C_{4:0}/C_{6:0}$	1,67	1,40	1,93	-	1,32 – 2,13
R2	$C_{6:0}/C_{8:0}$	1,92	1,70	2,15	-	1,40 – 2,22
R3	$C_{10:0}/C_{8:0}$ (***)	2,13	1,91	2,39	1,85 – 2,30	1,71 – 2,49
R4	$C_{12:0}/C_{8:0}$	2,65	2,33	3,07	-	1,69 – 3,07
R5	$C_{12:0}/C_{10:0}$	1,24	1,13	1,29	0,95 – 1,30	0,90 – 1,52
R6	$C_{14:0}/C_{12:0}$ (***)	3,49	2,89	4,22	3,00 – 4,10	2,32 – 4,33
R7	$C_{14:0}/C_{18:0}$	0,96	0,72	1,16	-	0,77 – 1,70
R8	$C_{14:0}/C_{18:1}$	0,40	0,31	0,48	>0,30	-
R9	$C_{14:0}/C_{18:2}$	6,12	4,52	7,52	-	3,13 – 13,08
R10	$C_{16:0}/C_{12:0}$ (***)	8,32	6,19	11,09	-	8,64 – 11,39
R11	$C_{16:0}/C_{14:0}$	2,37	2,14	2,74	-	1,91 – 3,42
R12	$C_{18:0}/C_{8:0}$ (***)	9,75	7,43	13,41	-	4,13 – 10,85
R13	$C_{18:0}/C_{12:0}$ (***)	3,73	2,56	5,69	-	1,73 – 4,99
R14	$C_{18:1}/C_{16:0}$	1,07	0,93	1,23	-	0,60 – 1,25
R15	$C_{18:1}/C_{18:0}$	2,41	2,21	2,62	-	1,84 – 3,07
R16	$C_{18:2}/C_{8:0}$	1,52	1,21	2,21	-	0,70 – 2,43
R17	$C_{4:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$	1,10	0,89	1,28	-	0,74 – 1,67
R18	$C_{12:0}/(C_{4:0} + C_{6:0})$ (***)	0,52	0,39	0,73	-	0,39 – 0,61
R19	$C_{18:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$ (***)	3,33	2,67	4,26	-	1,52 – 3,71
R20	$(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$ (***)	14,13	11,22	17,94	-	11,58 – 18,91
R21	$(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$ (***)	0,81	0,55	1,06	-	0,65 – 1,77
R22	$(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$ (***)	11,34	9,02	14,42	-	5,60 – 12,00

(*) Valores establecidos por el CAA. (**) Valores dados por distintos autores (Ver Tabla III.6 Materiales y Métodos). (***) Relaciones que presentaron diferencias con los rangos establecidos en bibliografía.

En primer lugar se analizaron los valores obtenidos para las cuatro relaciones mencionadas en el CAA.

Se observó que las relaciones **R5** y **R8** se encontraron comprendidas dentro de los valores propuestos por el CAA. Las relaciones **R3** y **R6** mostraron ligeras diferencias con respecto a los valores del CAA, sin embargo ambos rangos se encontraron comprendidos en los establecidos en bibliografía.

Por otro lado, en la Tabla IV.8 se indican las relaciones que presentaron diferencias entre los valores obtenidos y el Rango II. Como este rango contempla numerosos datos que presentan una gran variabilidad, como ya se mencionó en Materiales y Métodos (III.4.2.2), no se lo utilizó para identificar las relaciones que permitan detectar las adulteraciones, sino que se empleó el obtenido para las muestras genuinas analizadas en este trabajo.

IV.3.2 Análisis de relaciones de ácidos grasos para las grasas adulteradas

Con el propósito de determinar las mejores relaciones que permitan detectar la adulteración de la grasa láctea, se calcularon las 22 relaciones mencionadas en la Tabla IV.8 para las grasas adulteradas. Las mismas se obtuvieron combinando la concentración de ácidos grasos para las muestras de grasas lácteas con cada uno de los adulterantes en distintos niveles de adulteración, según lo indicado en III.4.2.1 de la sección de Materiales y Métodos.

IV.3.2.1 Adulteraciones con grasas de origen animal

a) Grasa vacuna

A las mezclas resultantes de la combinación de las 62 grasas lácteas con cada una de las 10 grasas vacunas, se les calcularon los valores para las relaciones mencionadas.

Los resultados obtenidos para las relaciones propuestas por el CAA se graficaron en función del porcentaje de adulteración (Figura IV.11), indicándose con líneas discontinuas (.....) los valores legales. Se observó que relaciones detectaron la adición de grasa vacuna y se calculó para cada nivel de adulteración el porcentaje de muestras que no estuvieron comprendidas dentro de los límites establecidos para las grasa lácteas (Tabla IV.9).

Figura IV.11 Relaciones propuestas por el CAA para detectar adulteración con grasa animal (grasa vacuna)

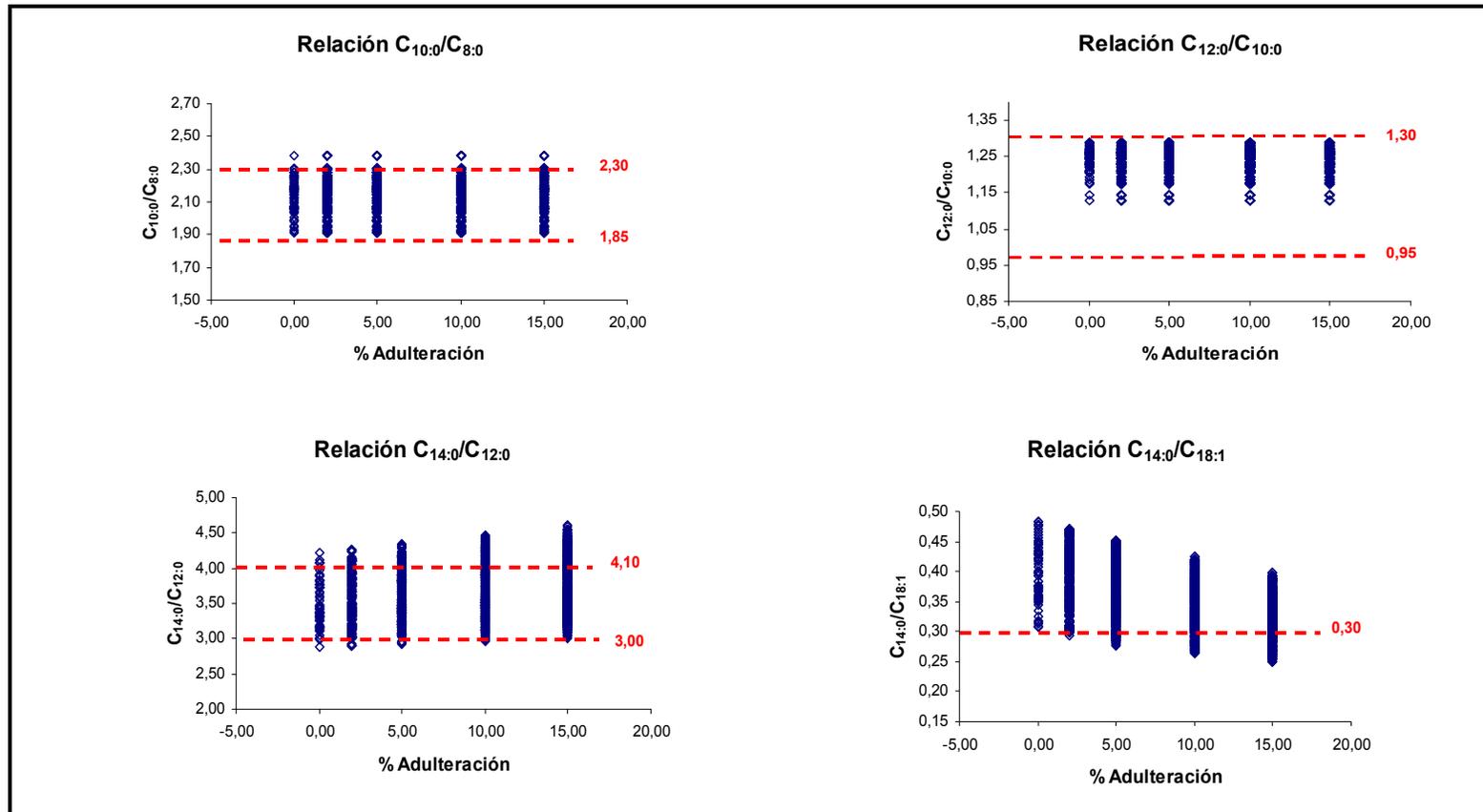


Tabla IV.9 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los límites establecidos

		Adulteración %			
		2%	5%	10%	15%
Relaciones					
R3	C_{10:0}/C_{8:0}	-	-	-	-
R5	C_{12:0}/C_{10:0}	-	-	-	-
R6	C_{14:0}/C_{12:0}	-	1,8	7,6	11,9
R8	C_{14:0}/C_{18:1}	-	3,9	10,0	20,0

Para las relaciones **R3** y **R5** todas las mezclas se encontraron comprendidas dentro del rango legal, por lo que no lograron detectar el agregado de grasa vacuna en los niveles estudiados. Por otro lado, para el nivel de adulteración más alto estudiado en este trabajo, 15%, la **R6** detectó un porcentaje muy bajo de mezclas (12%) y la **R8** logró detectar solamente el 20% de mezclas para el mismo nivel de adulteración.

Del análisis realizado se concluyó que las relaciones propuestas por el CAA no detectaron adulteración de grasa láctea con grasa vacuna en los niveles estudiados.

El mismo análisis se llevó a cabo con las otras relaciones con el propósito de lograr mejores resultados y seleccionar las que sean más sensibles para detectar este agregado.

Los resultados se graficaron en función del porcentaje de adulteración indicándose con líneas discontinuas (.....) el rango obtenido con las muestras analizadas en este trabajo (Figura IV.12).

Figura IV.12 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía

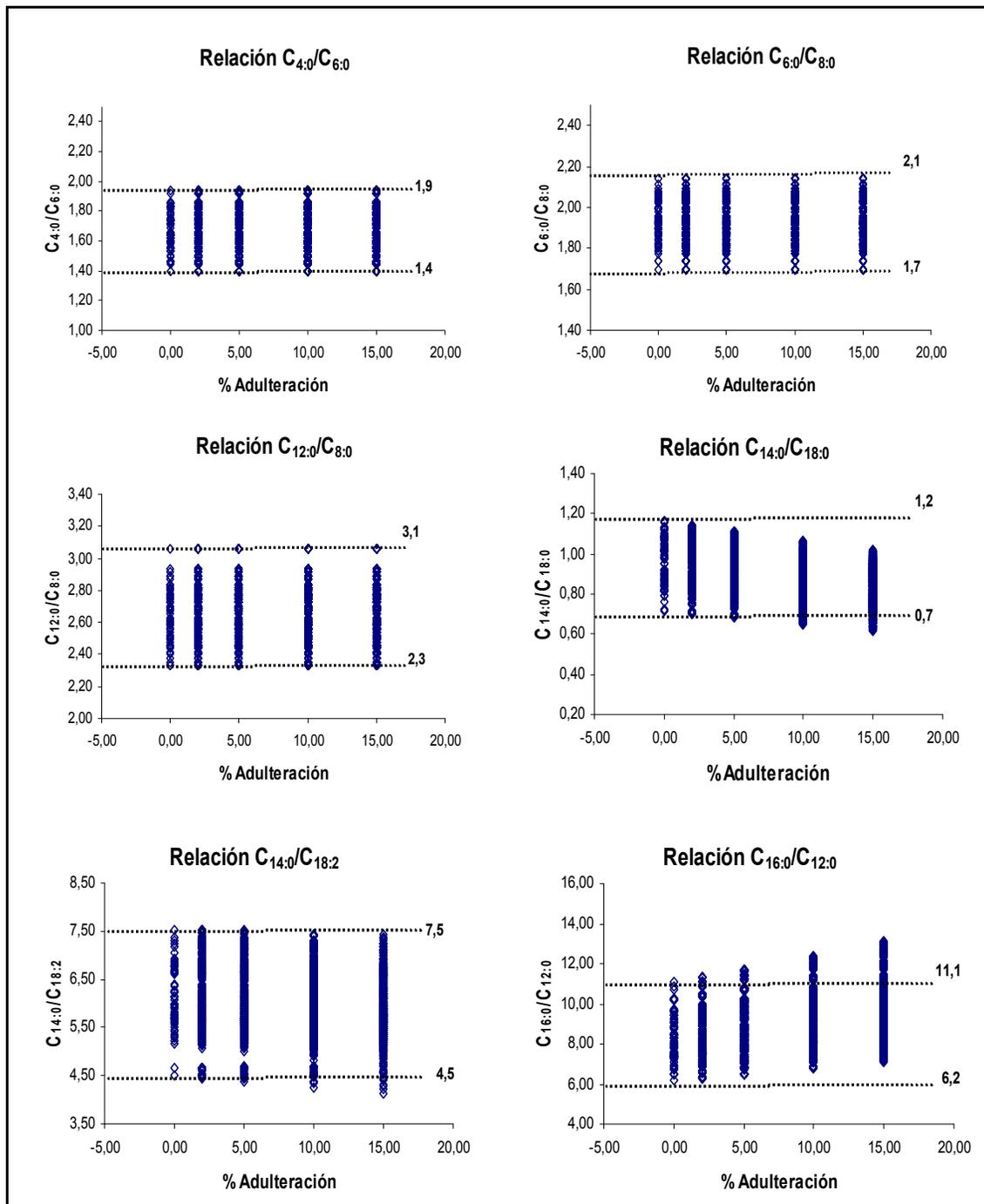


Figura IV.12 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

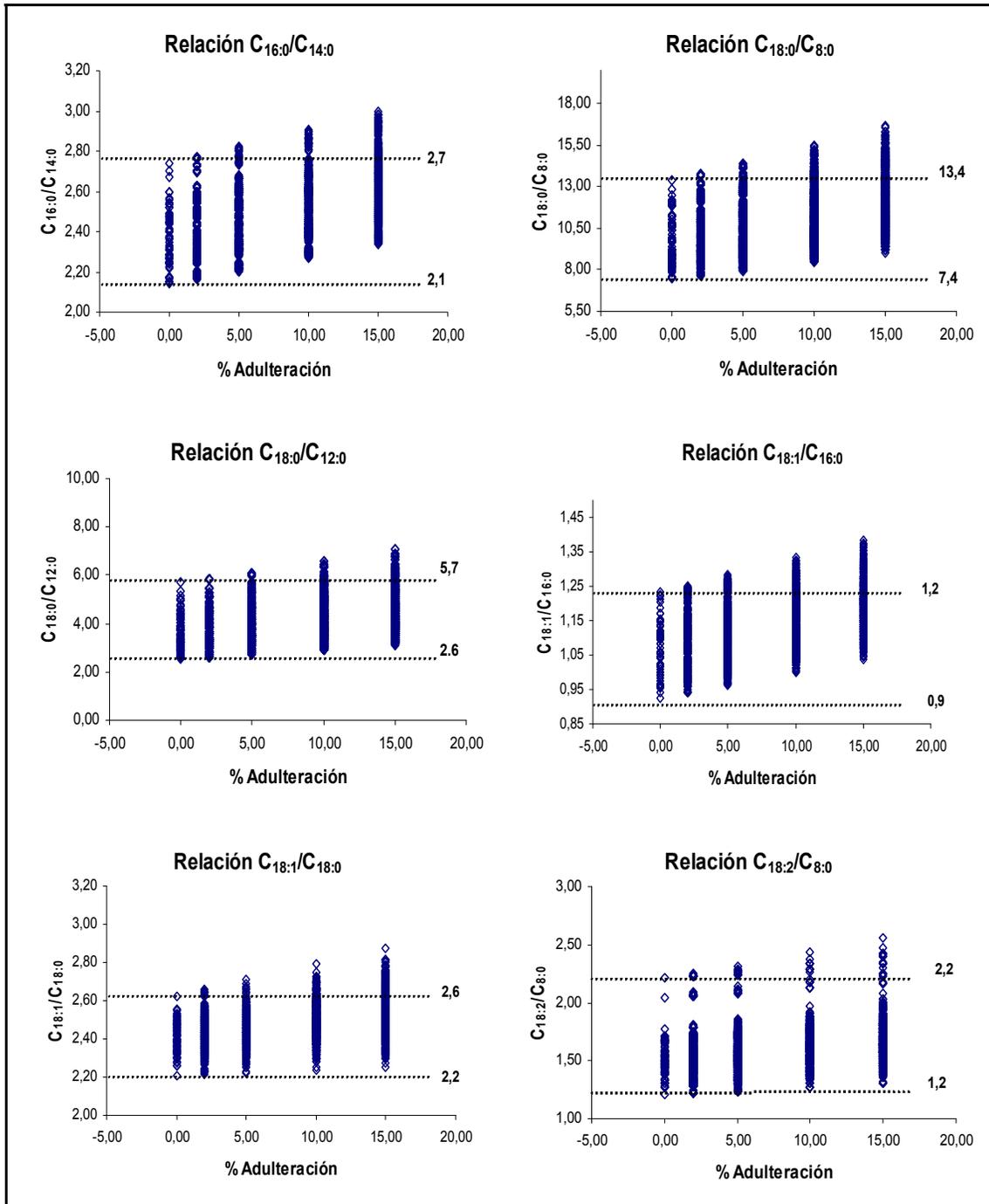
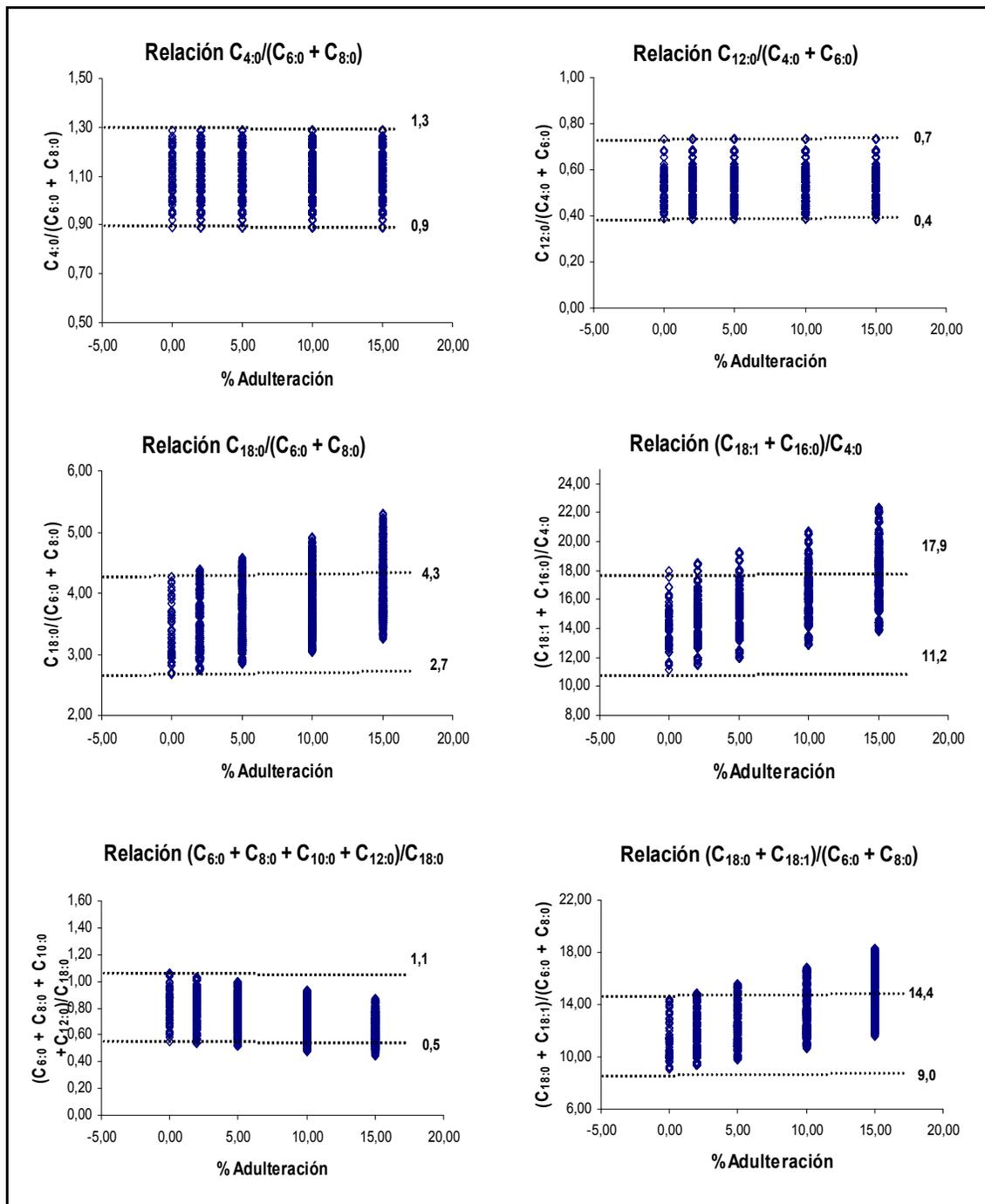


Figura IV.12 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)



En la Tabla IV.10 se presentan los porcentajes de muestras para cada nivel de adulteración que se encontraron fuera del rango.

Tabla IV.10 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea

		Adulteración %			
		2%	5%	10%	15%
Relaciones					
R1	$C_{4:0}/C_{6:0}$	-	-	-	-
R2	$C_{6:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R4	$C_{12:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R7	$C_{14:0}/C_{18:0}$	-	3,2	4,8	25,4
R9	$C_{14:0}/C_{18:2}$	-	-	1,3	1,3
R10	$C_{16:0}/C_{12:0}$	-	4,8	11,3	19,7
R11	$C_{16:0}/C_{14:0}$	-	3,9	6,3	16,4
R12	$C_{18:0}/C_{8:0}$	-	3,2	12,6	22,1
R13	$C_{18:0}/C_{12:0}$	-	1,9	6,3	12,7
R14	$C_{18:1}/C_{16:0}$	-	7,7	13,7	27,6
R15	$C_{18:1}/C_{18:0}$	-	-	8,9	21,9
R16	$C_{18:2}/C_{8:0}$	-	-	1,8	2,6
R17	$C_{4:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	-	-	-
R18	$C_{12:0}/(C_{4:0} + C_{6:0})$	-	-	-	-
R19	$C_{18:0}/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	9,8	19,4	35,5
R20	$(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	5,6	13,6	37,9
R21	$(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	-	-	9,2	16,8
R22	$(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	14,0	25,9	47,9

La mayor detección se logró con la relación **R22** que detectó el 48% de las muestras adulteradas con un 15%. Este resultado no fue suficiente para cumplir con el propósito de este trabajo, ya que para la mitad de las muestras adulteradas no se detectó dicha adulteración.

b) Grasa porcina

Se calcularon las 22 relaciones en las mezclas realizadas con cada uno de los 7 perfiles de grasa porcina y las 62 grasas lácteas para los distintos niveles de adulteración.

Como en el estudio anterior, se graficaron los resultados obtenidos en función del porcentaje de adulteración para las relaciones propuestas por el CAA (Figura IV.13) y para cada nivel de adulteración se calculó el porcentaje de muestras que se encontraron fuera de los límites establecidos para la grasa láctea genuina (Tabla IV.11).

Figura IV.13 Relaciones propuestas por el CAA para detectar adulteración con grasa animal (grasa porcina)

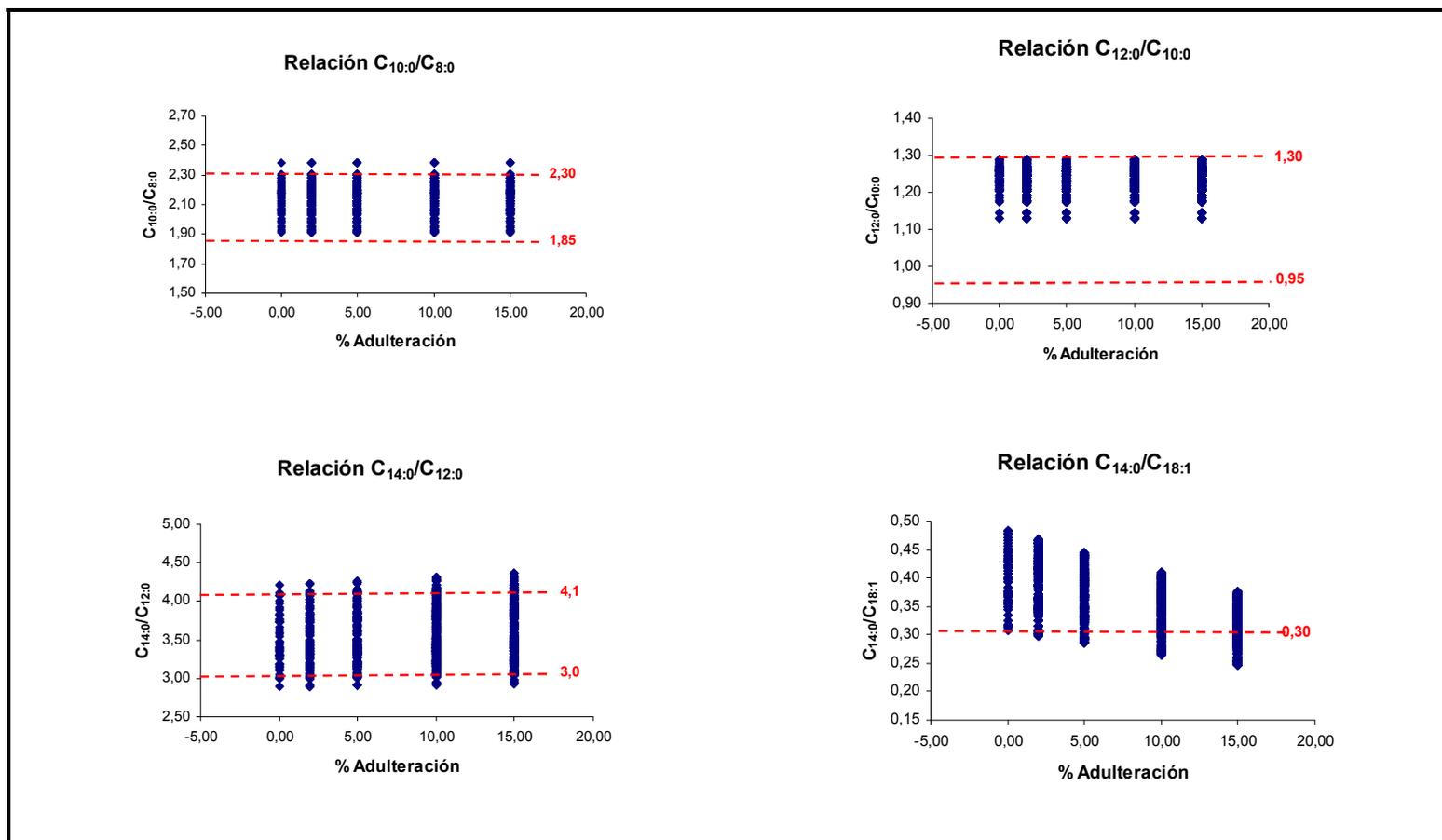


Tabla IV.11 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los límites establecidos

		Adulteración %			
		2%	5%	10%	15%
Relaciones					
R3	C _{10:0} /C _{8:0}	-	-	-	-
R5	C _{12:0} /C _{10:0}	-	-	-	-
R6	C _{14:0} /C _{12:0}	-	-	1,6	2,3
R8	C _{14:0} /C _{18:1}	-	6,9	11,5	34,3

Las relaciones **R3** y **R5** demostraron no ser sensibles a la adición de grasa porcina ya que todas las mezclas se encontraron comprendidas entre el valor mínimo y máximo de las grasas lácteas.

La relación **R6** detectó un muy bajo porcentaje de muestras con un 15% de adulteración, mientras que la **R8** detectó el agregado del 15% de grasa porcina sólo en el 34% de las mezclas.

De igual manera que en grasa vacuna se calcularon las otras relaciones.

Los resultados obtenidos se graficaron en función del porcentaje de adulteración (Figura IV.14) y se calcularon los porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los valores mínimos y/o máximos establecidos para las grasas lácteas (Tabla IV.12).

Figura IV.14 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía

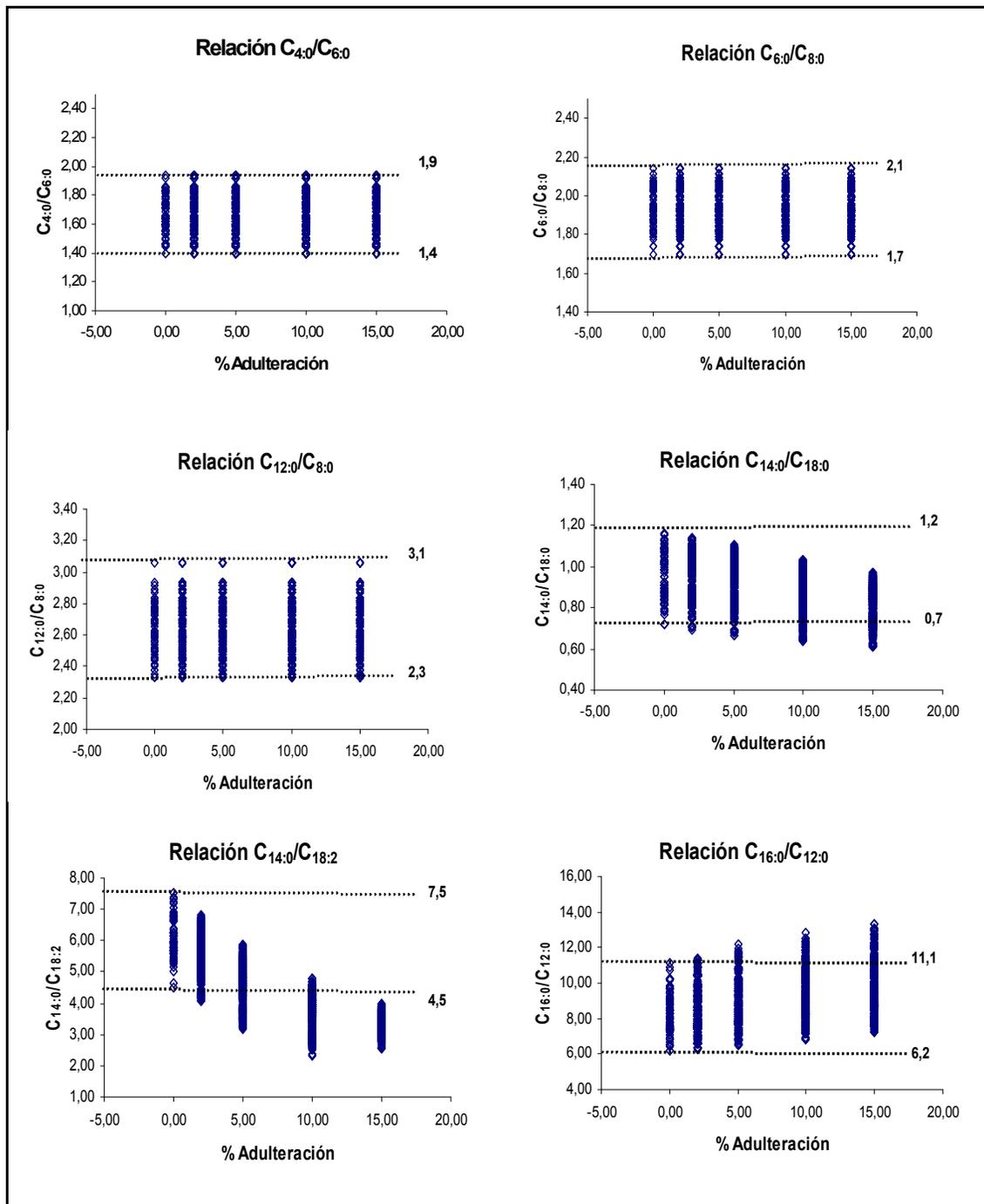


Figura IV.14 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

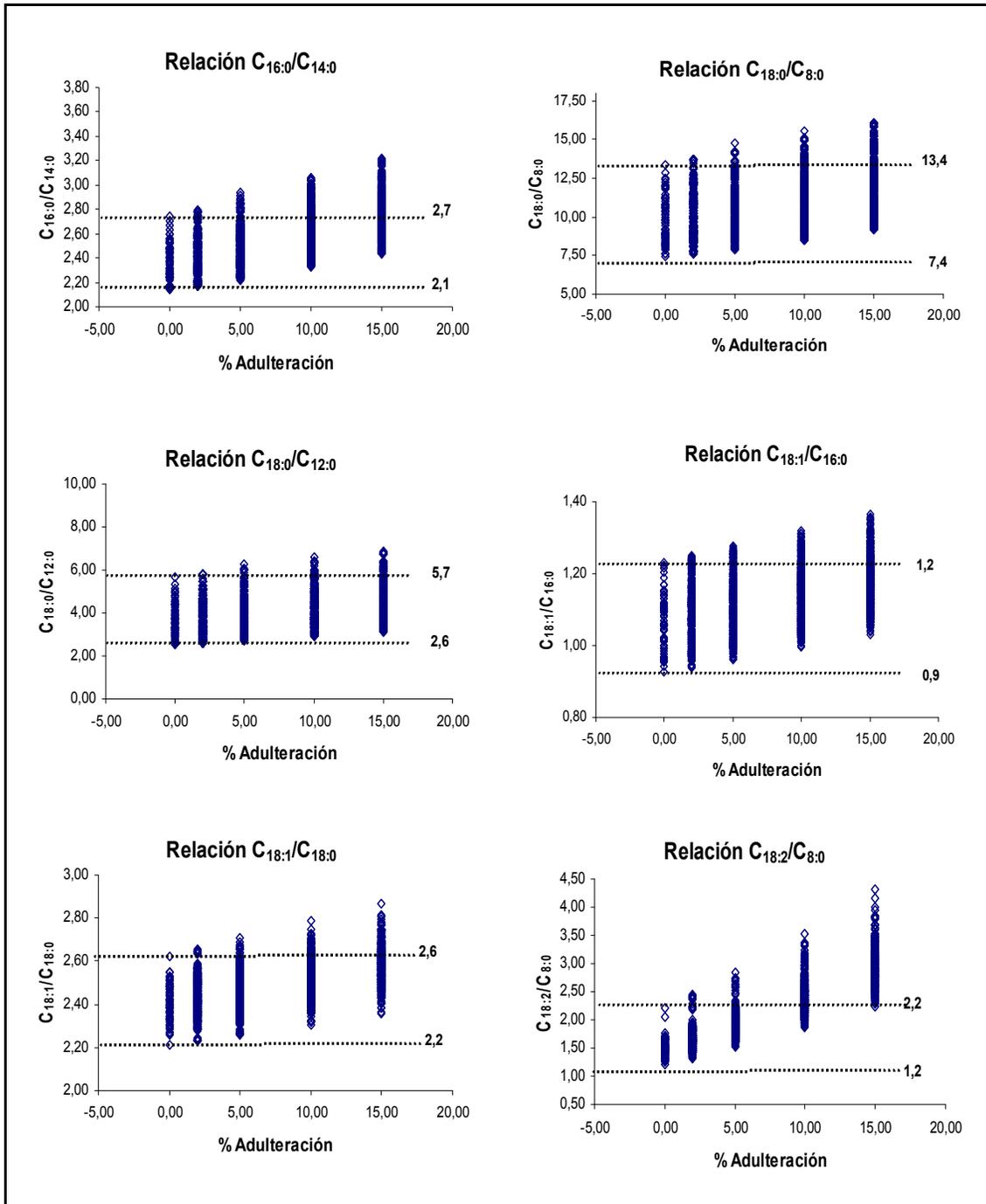


Figura IV.14 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

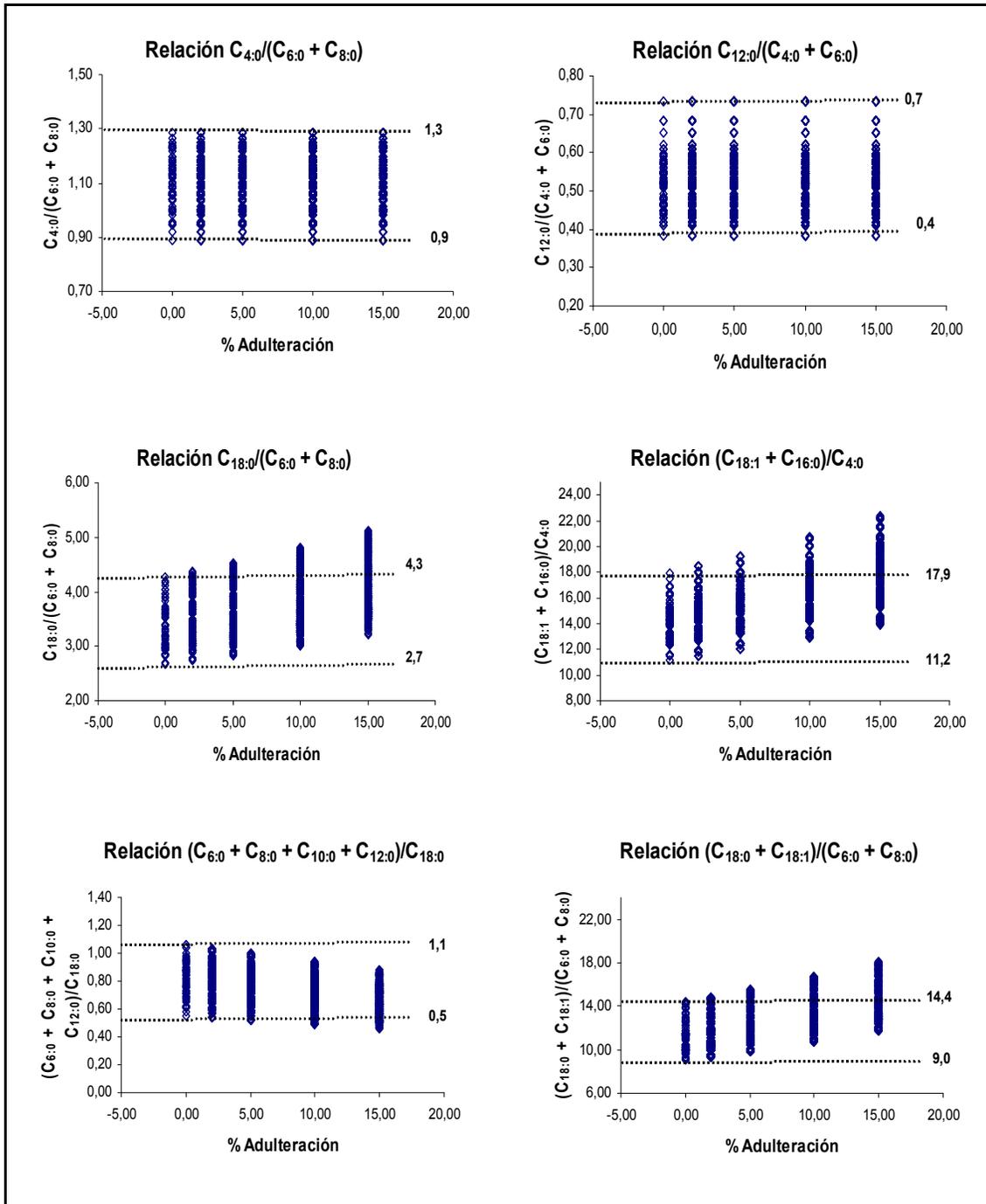


Tabla IV.12 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea

Relaciones	Adulteración %			
	2%	5%	10%	15%
R1 $C_{4:0}/C_{6:0}$	-	-	-	-
R2 $C_{6:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R4 $C_{12:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R7 $C_{14:0}/C_{18:0}$	-	3,2	6,4	17,9
R9 $C_{14:0}/C_{18:2}$	3,2	26,3	95,8	100,0
R10 $C_{16:0}/C_{12:0}$	-	4,8	11,3	21,4
R11 $C_{16:0}/C_{14:0}$	-	4,8	18,7	44,7
R12 $C_{18:0}/C_{8:0}$	-	3,2	11,1	19,6
R13 $C_{18:0}/C_{12:0}$	-	1,6	5,1	11,5
R14 $C_{18:1}/C_{16:0}$	-	7,1	12,2	24,6
R15 $C_{18:1}/C_{18:0}$	-	2,1	12,0	32,0
R16 $C_{18:2}/C_{8:0}$	2,8	6,2	78,6	100,0
R17 $C_{4:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	-	-	-
R18 $C_{12:0} / (C_{4:0} + C_{6:0})$	-	-	-	-
R19 $C_{18:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	9,2	17,5	32,7
R20 $(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	6,2	14,7	38,5
R21 $(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	-	-	7,4	14,5
R22 $(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	13,4	25,8	47,7

Las relaciones más sensibles fueron **R9** y **R16** que detectaron respectivamente el 96% y el 79% de las muestras para un 10% de adulteración y ambas relaciones detectaron el 100% de las muestras para el nivel del 15%.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos para las grasas de origen animal, las relaciones propuestas por el CAA no fueron de utilidad para detectar la adición de estos adulterantes.

En cuanto a las otras relaciones tampoco fueron de utilidad para evaluar el agregado de grasa vacuna, mientras que para la adulteración con grasa porcina se encontraron dos relaciones, R9 y R16, que lograron poner de manifiesto un porcentaje muy elevado de muestras con el 10% de adulteración y la totalidad para el 15%.

IV.3.2.2 Adulteraciones con grasas de origen vegetal

c) Aceite de girasol

Se calcularon las 22 relaciones en las mezclas resultantes de la combinación de las 62 grasas lácteas con cada una de las 5 muestras de aceites de girasol en los niveles de adulteración mencionados.

Los resultados obtenidos se graficaron en función del porcentaje de adulteración (Figura IV.15) y para cada nivel de adulteración se calculó el porcentaje de muestras que se encontraron fuera del rango de las grasas lácteas (Tabla IV.13).

Figura IV.15 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía

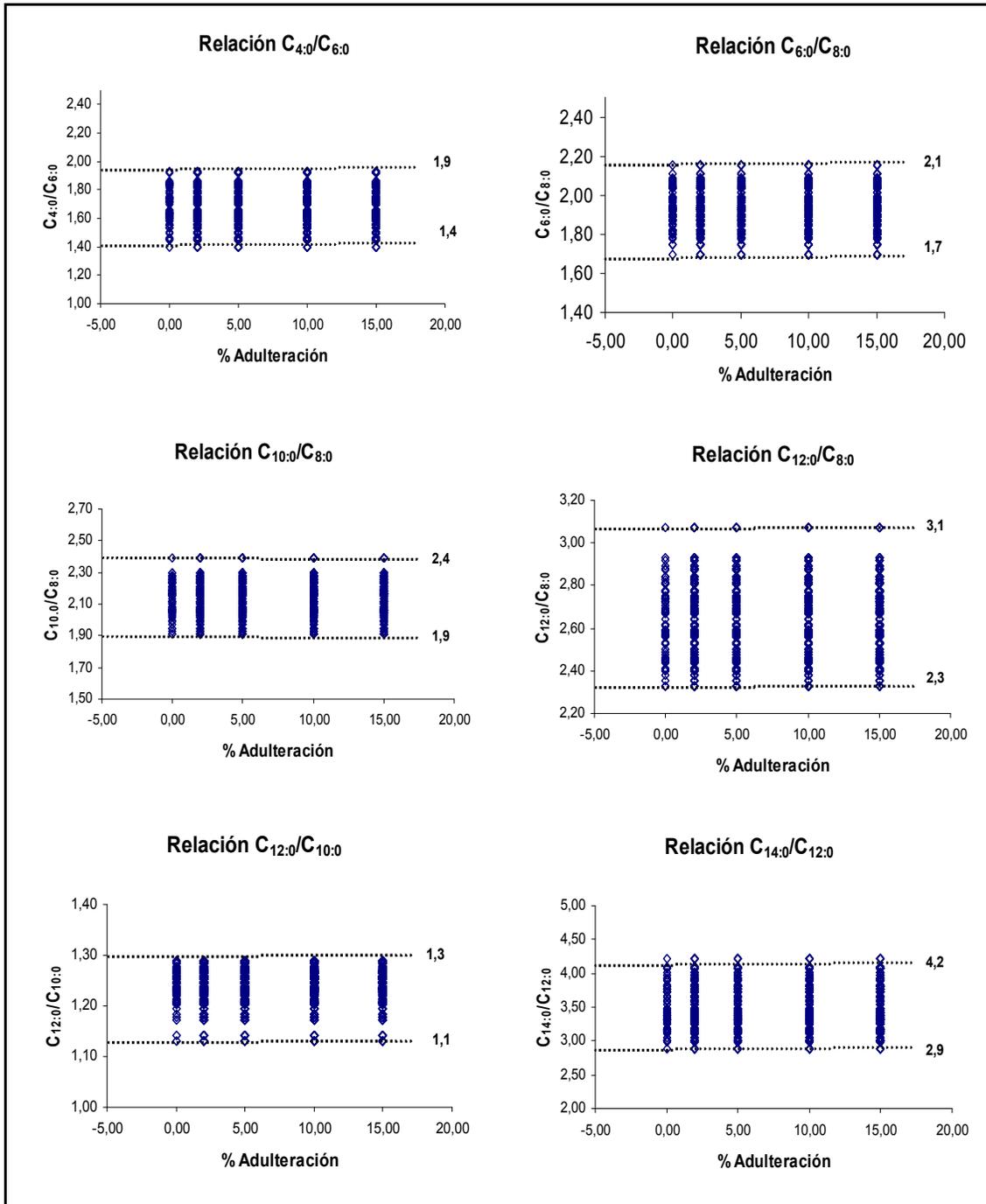


Figura IV.15 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

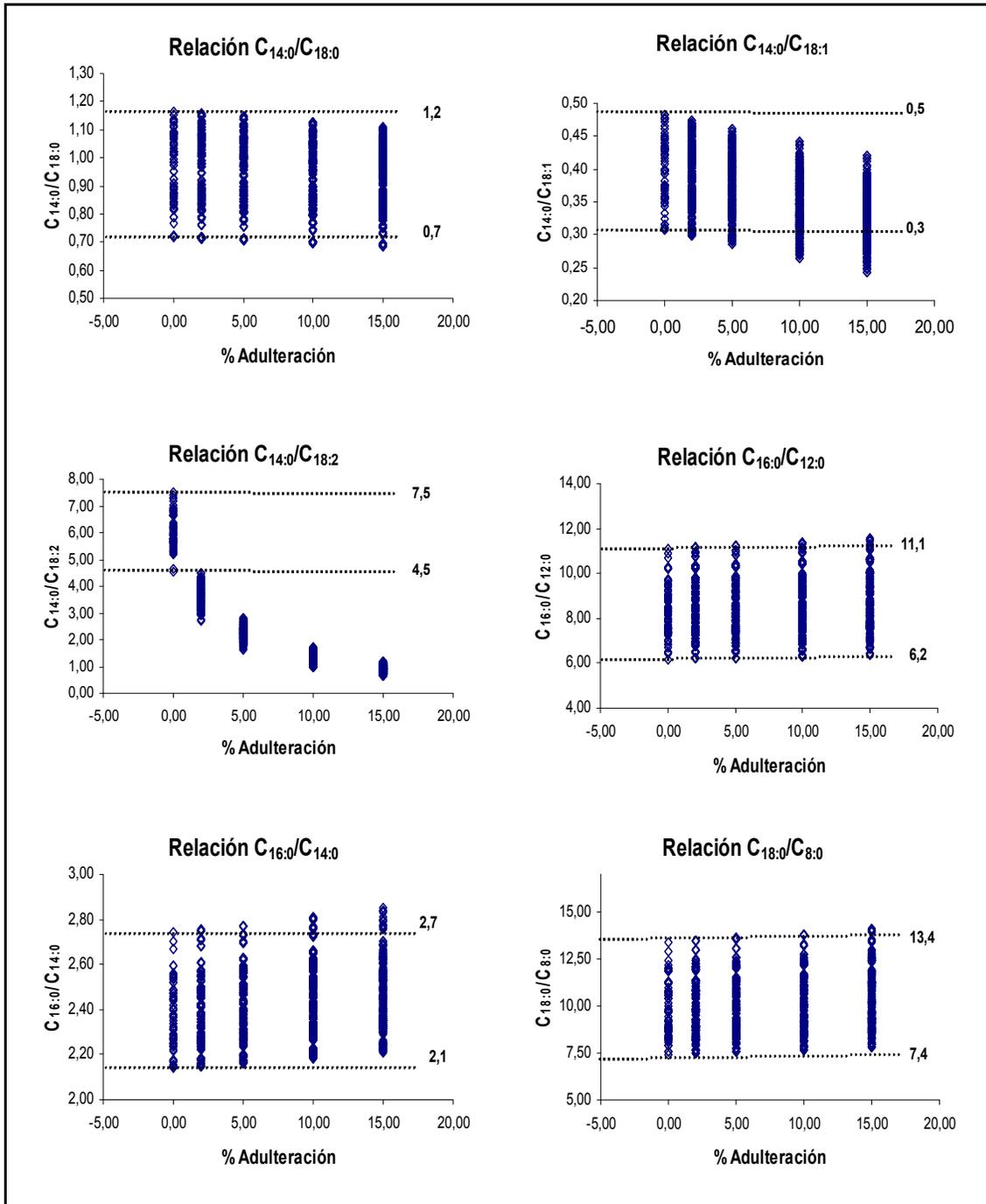


Figura IV.15 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

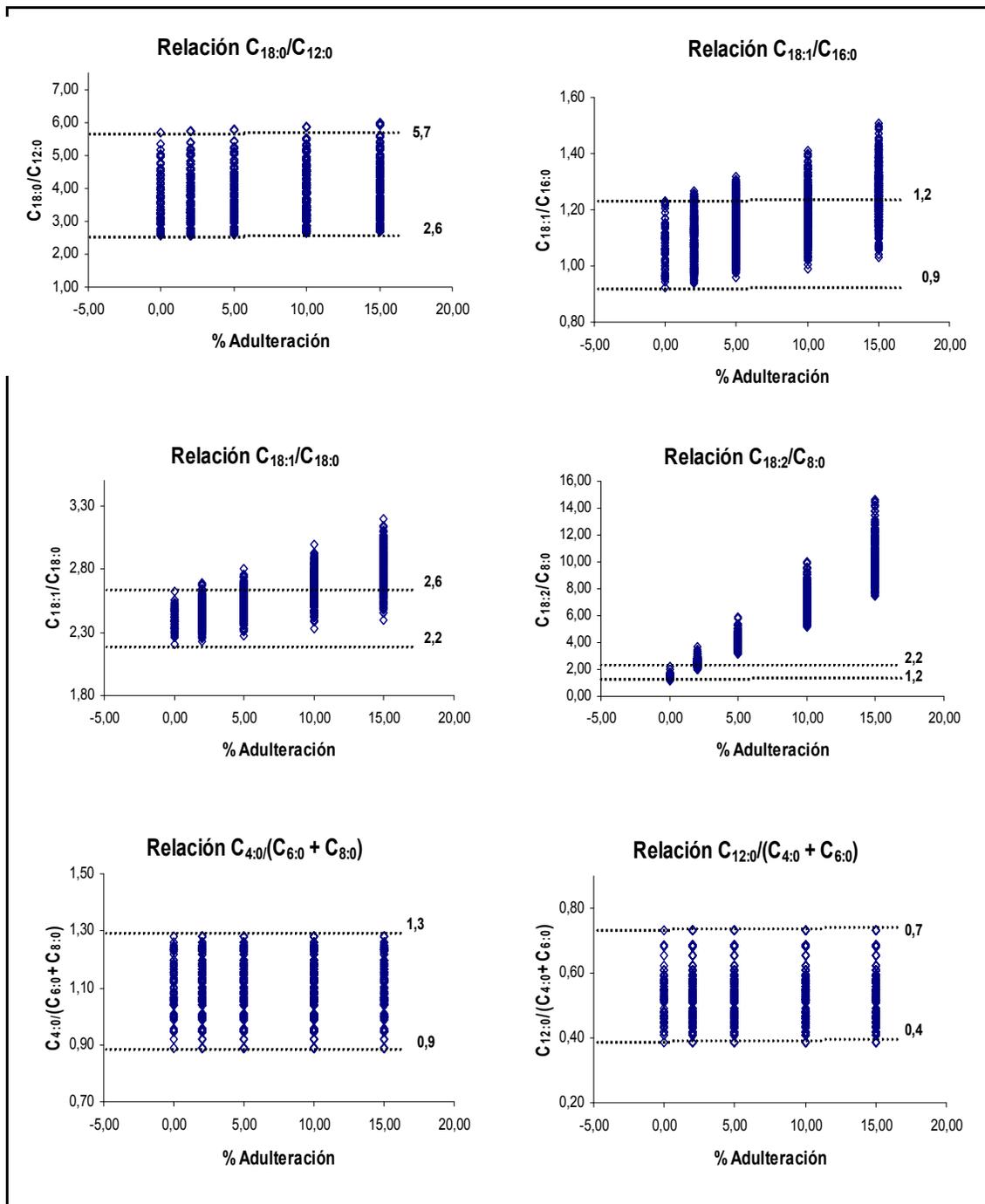


Figura IV.15 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

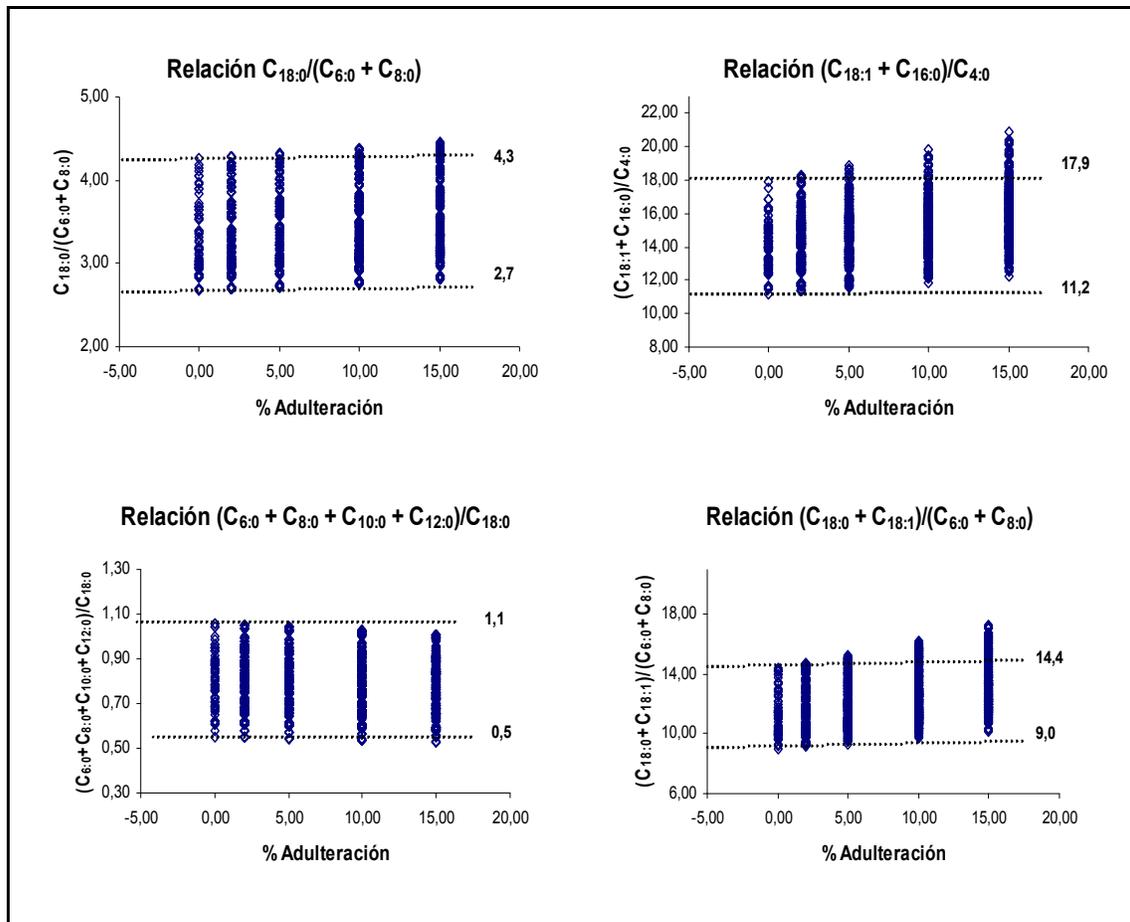


Tabla IV.13 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea

Relaciones	Adulteración %			
	2%	5%	10%	15%
R1 $C_{4:0}/C_{6:0}$	-	-	-	-
R2 $C_{6:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R3 $C_{10:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R4 $C_{12:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R5 $C_{12:0}/C_{10:0}$	-	-	-	-
R6 $C_{14:0}/C_{12:0}$	-	-	-	-
R7 $C_{14:0}/C_{18:0}$	-	-	-	-
R8 $C_{14:0}/C_{18:1}$	-	8,1	14,2	31,3
R9 $C_{14:0}/C_{18:2}$	100,0	100,0	100,0	100,0
R10 $C_{16:0}/C_{12:0}$	-	-	3,2	3,5
R11 $C_{16:0}/C_{14:0}$	-	1,6	3,2	4,8
R12 $C_{18:0}/C_{8:0}$	-	-	1,6	2,9
R13 $C_{18:0}/C_{12:0}$	-	-	-	-
R14 $C_{18:1}/C_{16:0}$	-	10,0	29,3	58,7
R15 $C_{18:1}/C_{18:0}$	1,6	16,4	61,0	86,8
R16 $C_{18:2}/C_{8:0}$	92,6	100,0	100,0	100,0
R17 $C_{4:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	-	-	-
R18 $C_{12:0} / (C_{4:0} + C_{6:0})$	-	-	-	-
R19 $C_{18:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	-	4,2	6,4
R20 $(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	-	6,1	11,6
R21 $(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	-	-	-	-
R22 $(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	9,7	16,1	24,8

Las relaciones **R9** y **R16** demostraron ser muy sensibles para detectar la adulteración con aceite de girasol, ya que detectaron respectivamente el 100% y el 93% de las mezclas para el nivel del 2%.

d) Aceite de soja

Se calcularon las relaciones en las mezclas obtenidas de la combinación de las 62 grasas lácteas con cada una de las 2 muestras de aceites de soja. Los resultados se graficaron en función del porcentaje de adulteración (Figura IV.16) y se calcularon los porcentajes de muestras que se encontraron fuera del rango de las grasas lácteas (Tabla IV.14).

Figura IV.16 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía

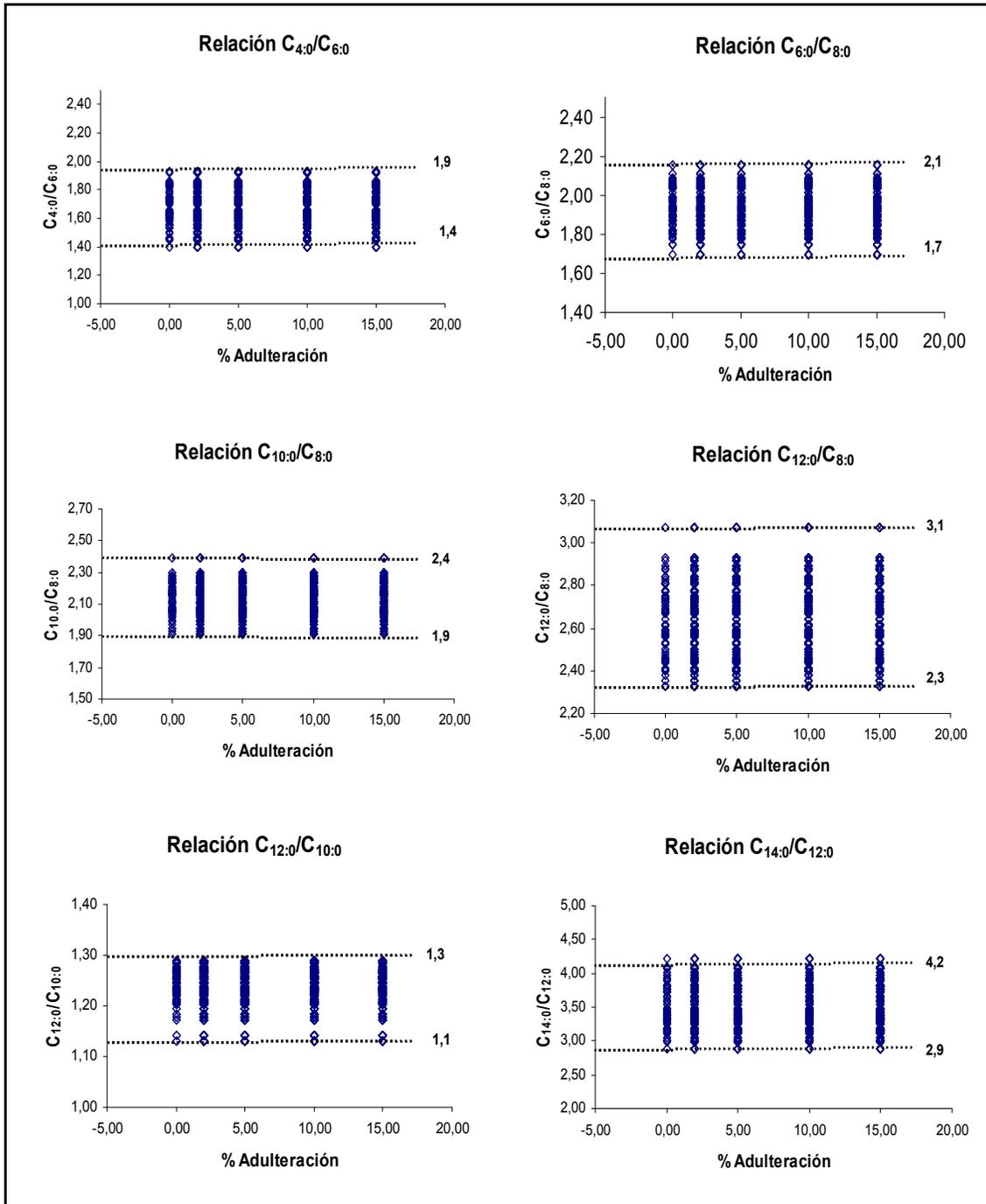


Figura IV.16 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

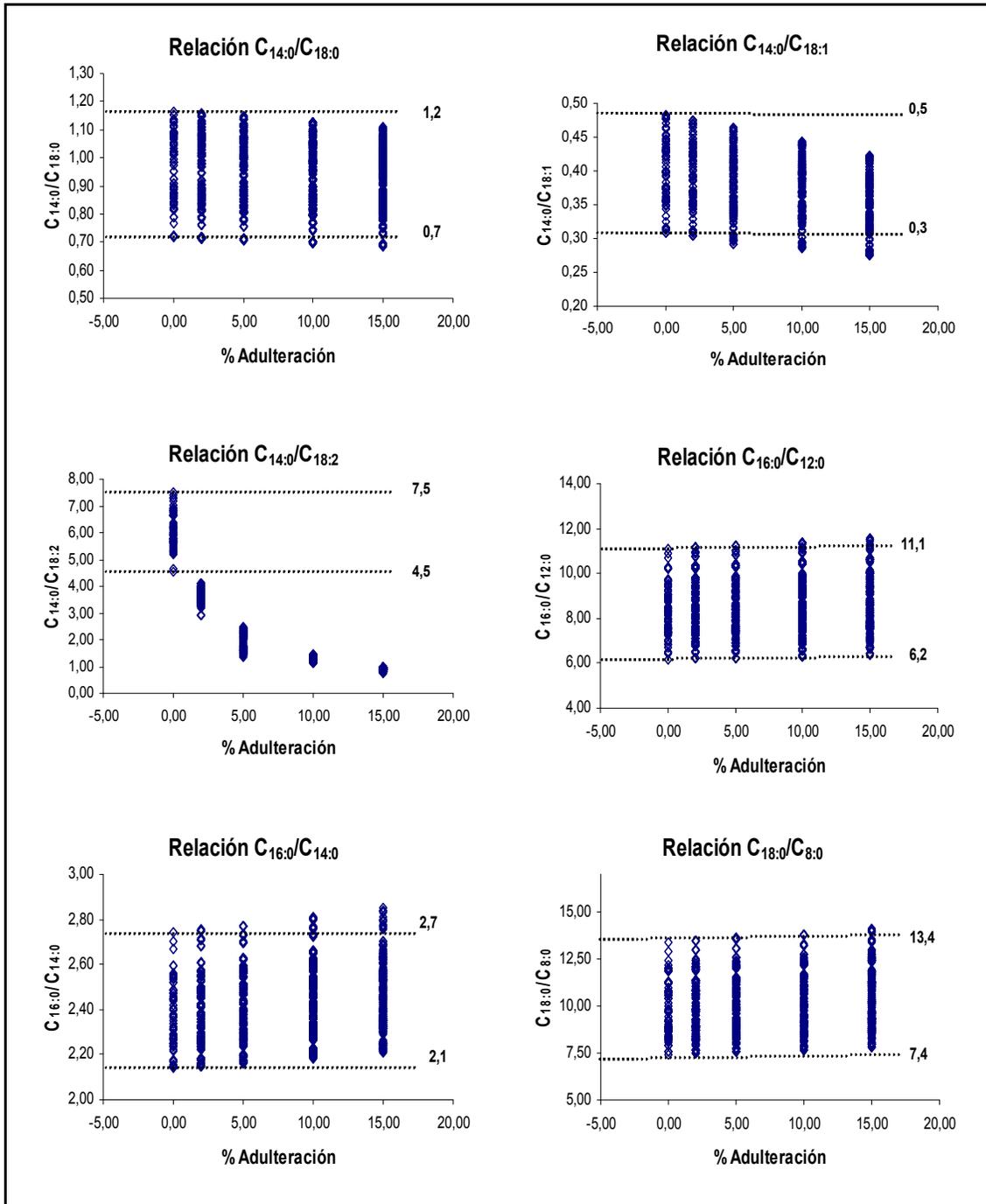


Figura IV.16 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

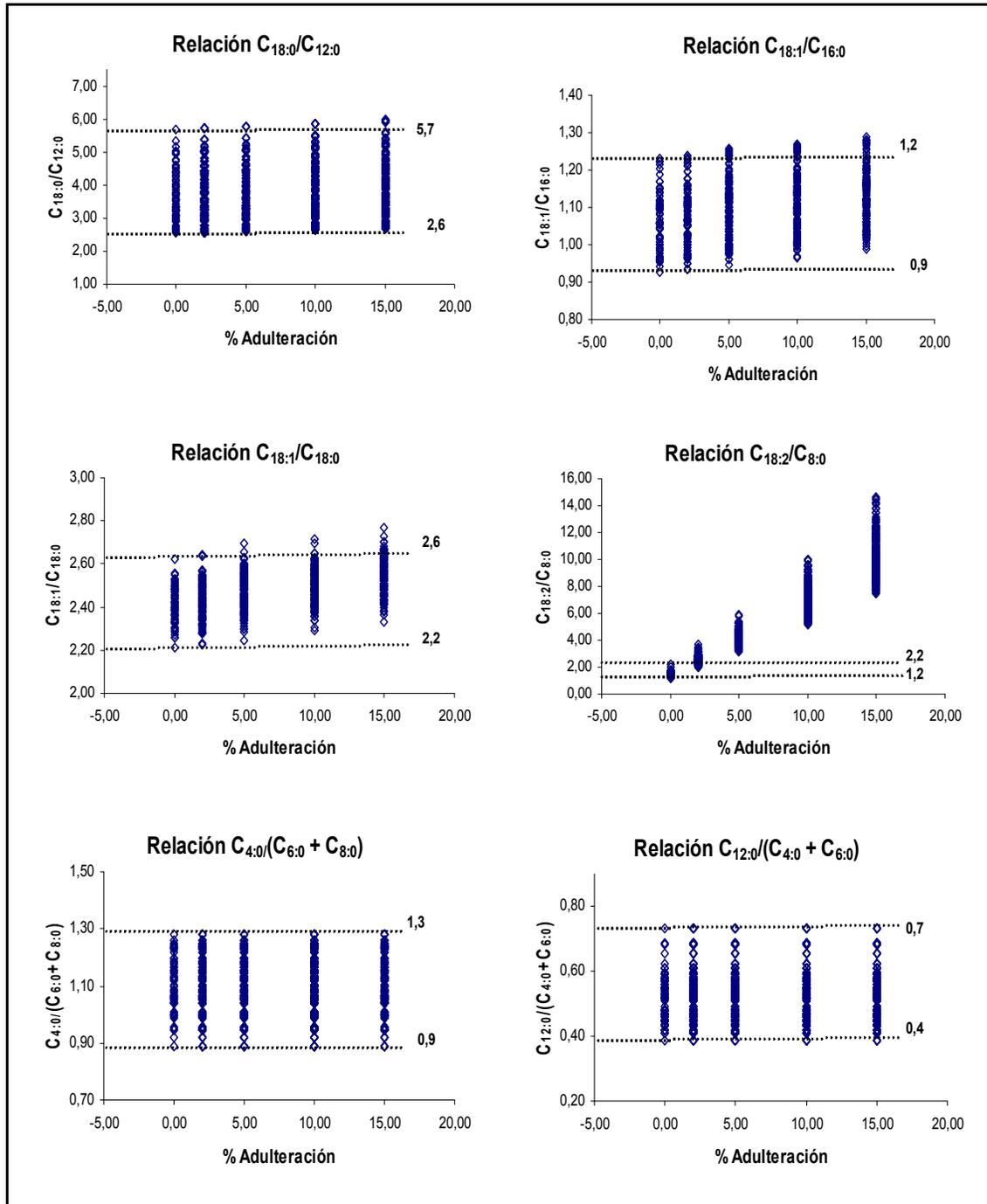


Figura IV.16 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

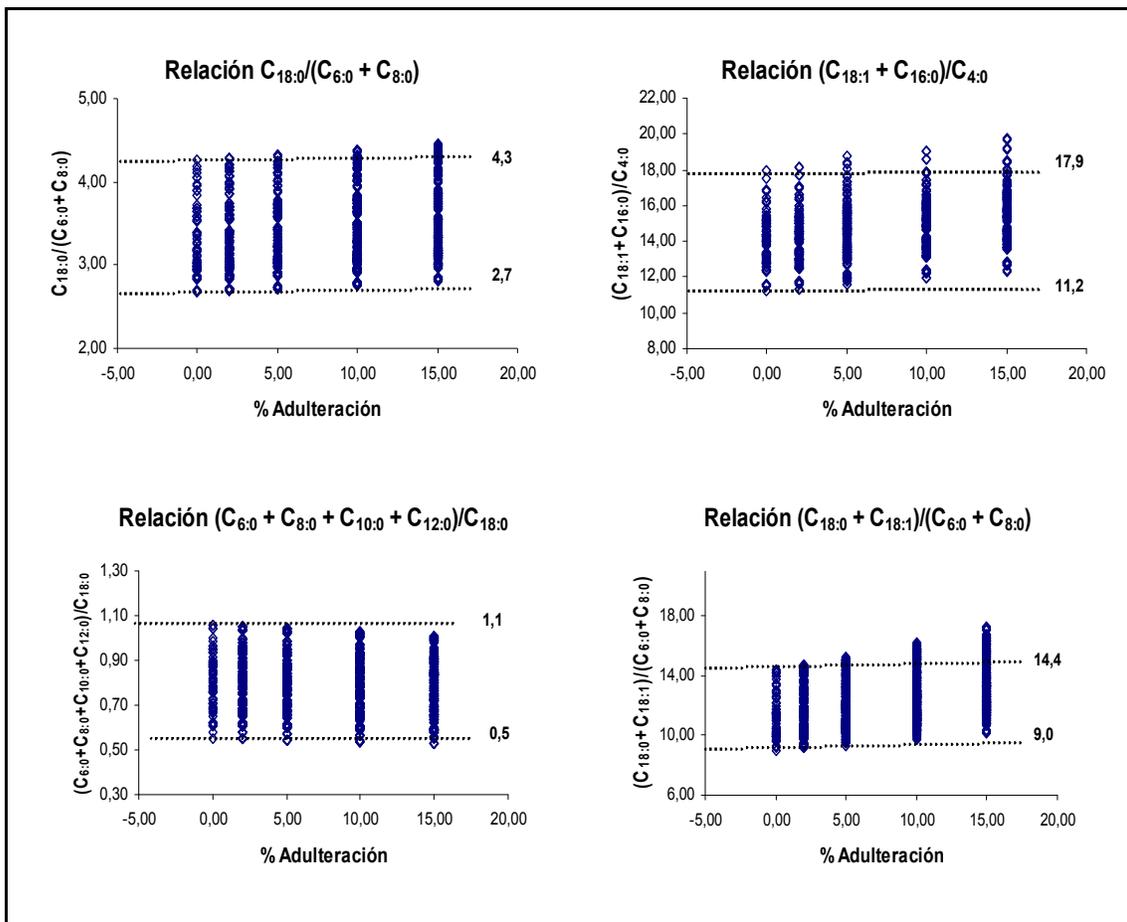


Tabla IV.14 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea

Relaciones	Adulteración %			
	2%	5%	10%	15%
R1 $C_{4:0}/C_{6:0}$	-	-	-	-
R2 $C_{6:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R3 $C_{10:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R4 $C_{12:0}/C_{8:0}$	-	-	-	-
R5 $C_{12:0}/C_{10:0}$	-	-	-	-
R6 $C_{14:0}/C_{12:0}$	-	-	-	-
R7 $C_{14:0}/C_{18:0}$	-	-	-	-
R8 $C_{14:0}/C_{18:1}$	-	-	9,7	11,3
R9 $C_{14:0}/C_{18:2}$	100,0	100,0	100,0	100,0
R10 $C_{16:0}/C_{12:0}$	-	2,4	4,8	4,8
R11 $C_{16:0}/C_{14:0}$	-	4,8	4,8	8,9
R12 $C_{18:0}/C_{8:0}$	-	1,6	1,6	3,2
R13 $C_{18:0}/C_{12:0}$	-	-	1,6	1,6
R14 $C_{18:1}/C_{16:0}$	-	-	-	-
R15 $C_{18:1}/C_{18:0}$	-	2,4	4,0	20,2
R16 $C_{18:2}/C_{8:0}$	96,8	100,0	100,0	100,0
R17 $C_{4:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	-	-	-
R18 $C_{12:0} / (C_{4:0} + C_{6:0})$	-	-	-	-
R19 $C_{18:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	4,0	6,4	9,7
R20 $(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	3,2	3,2	8,1
R21 $(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	-	-	1,6	1,6
R22 $(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	8,9	11,3	16,1

Las relaciones **R9** y **R16** fueron muy sensibles ya que detectaron respectivamente el 100 % y el 97% de las muestras para el 2% de adulteración.

e) Grasa de coco

Para este adulterante también se calcularon las relaciones para las mezclas obtenidas de la combinación de las 62 grasas lácteas con cada una de las 2 muestras de grasas de coco. Los resultados se graficaron en función del porcentaje de adulteración (Figura IV.17) y se calcularon los porcentajes de muestras que se encontraron fuera del rango de las grasas lácteas (Tabla IV.15).

Figura IV.17 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía

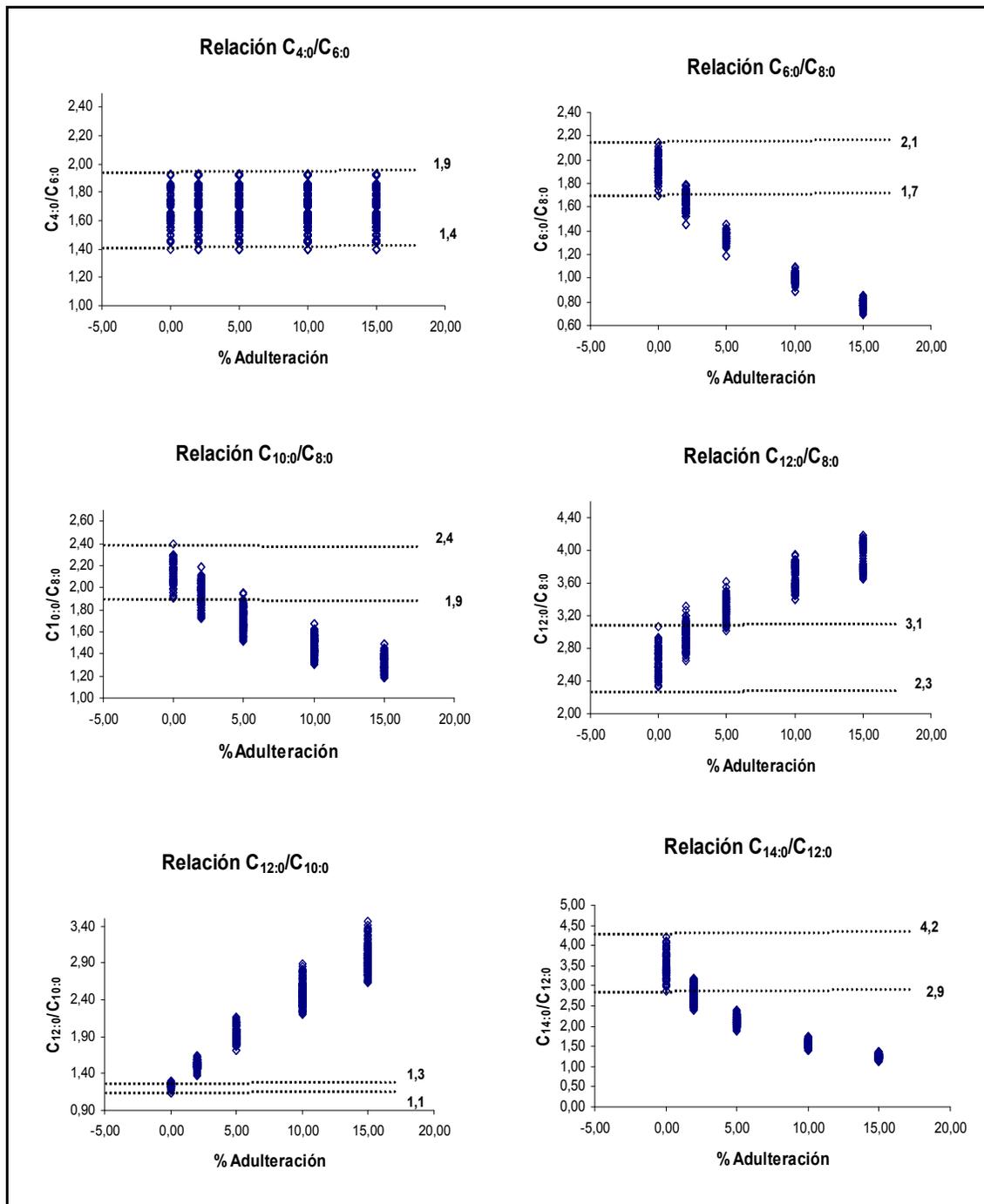


Figura IV.17 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

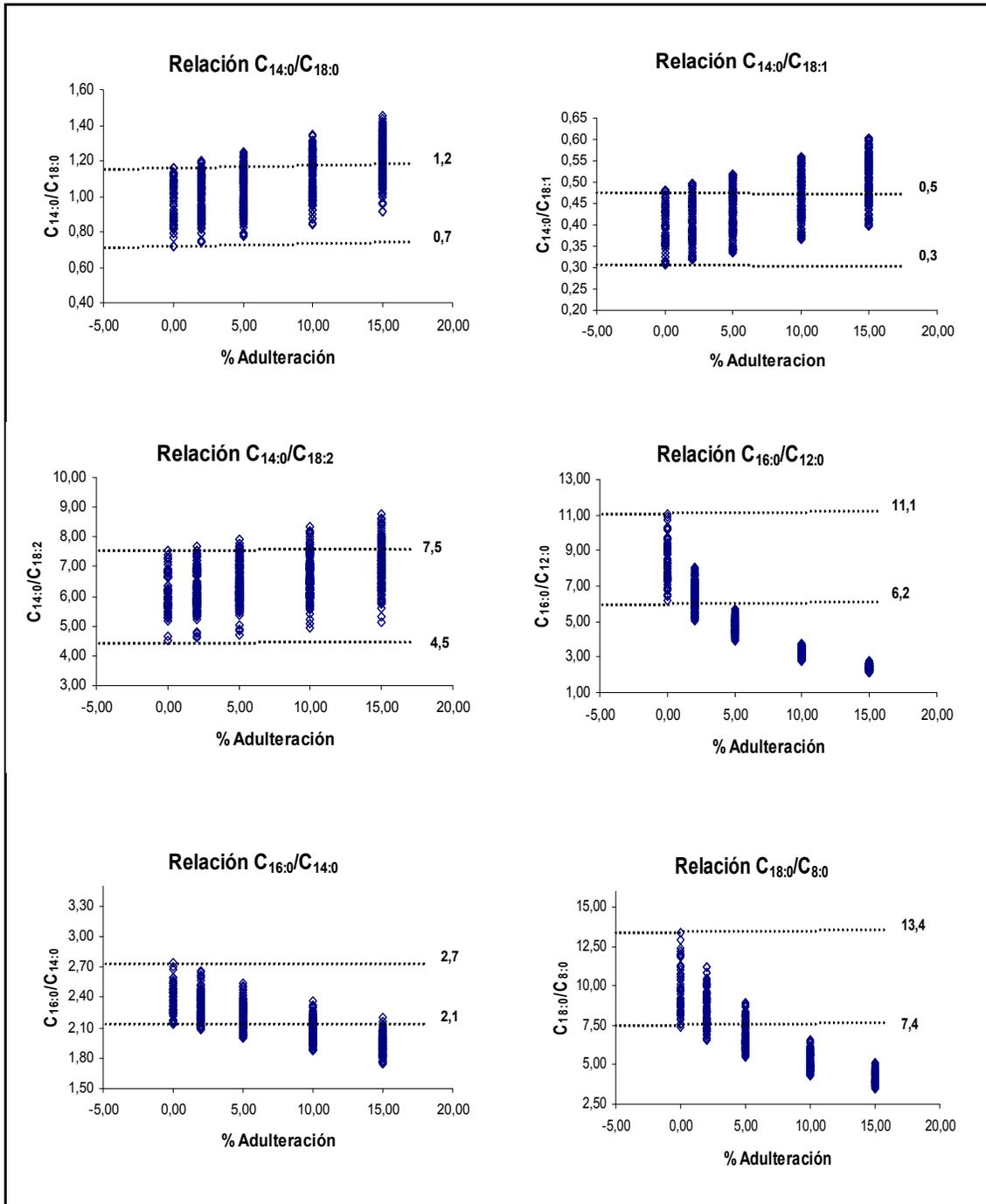


Figura IV.17 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

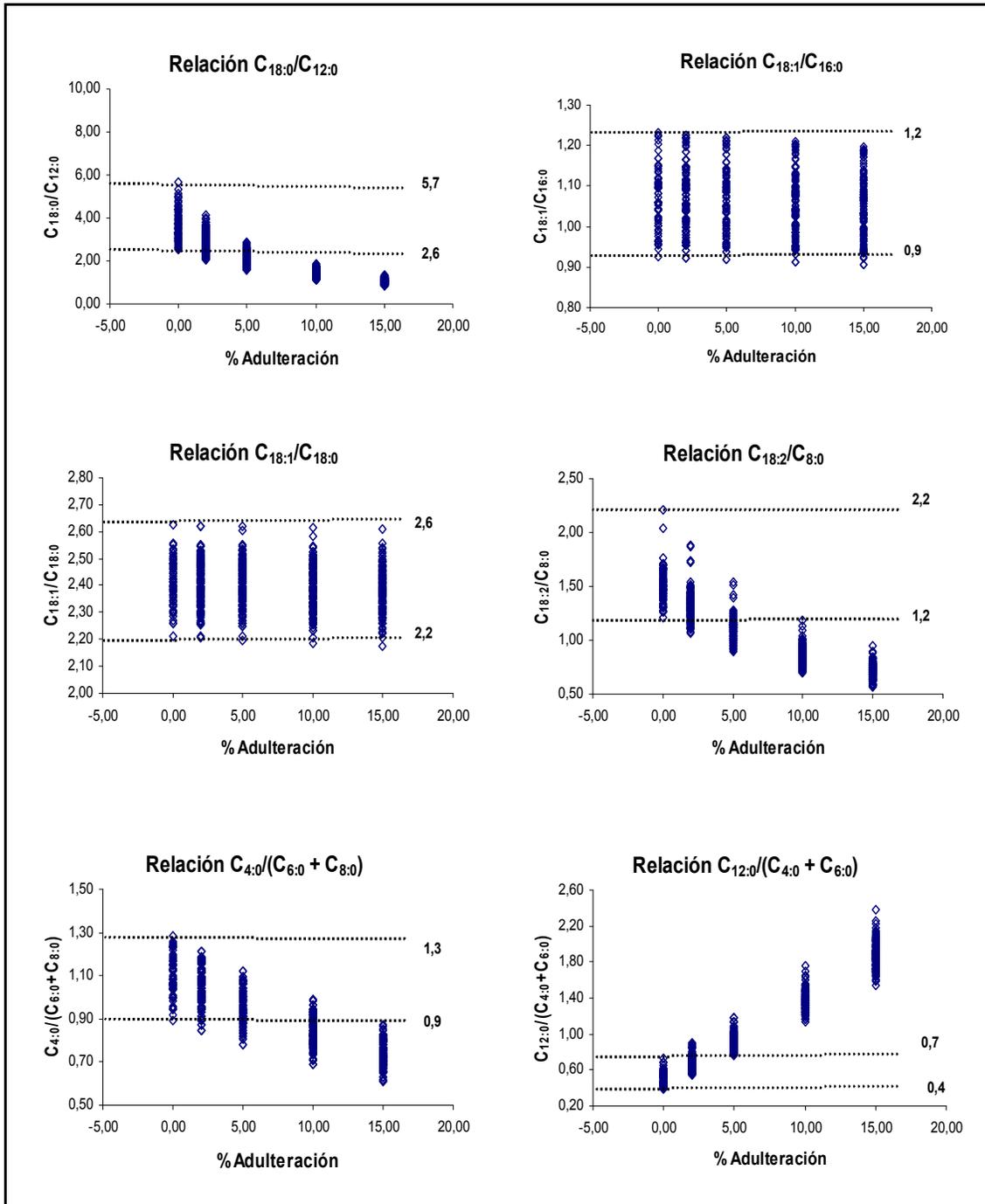


Figura IV.17 Relaciones de ácidos grasos propuestas en bibliografía (continuación)

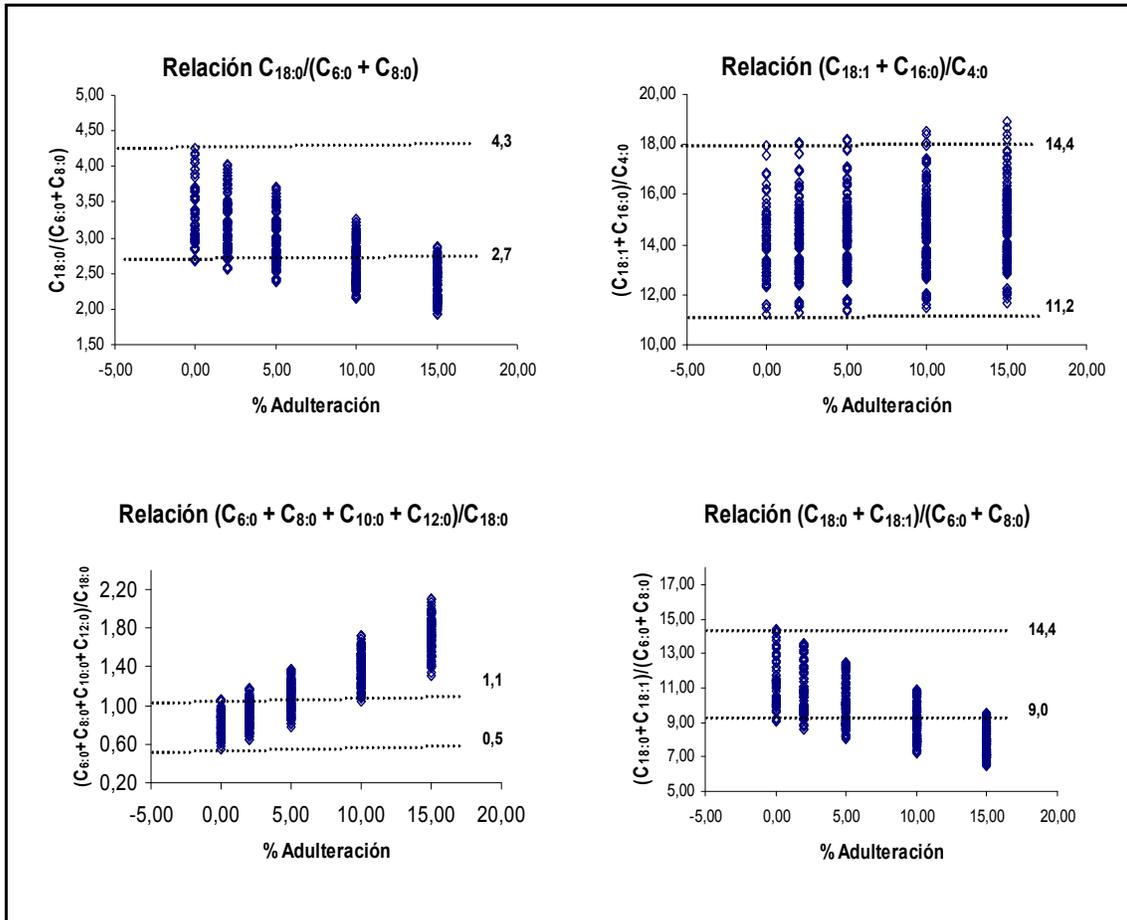


Tabla IV.15 Porcentajes de muestras que se encontraron fuera de los rangos de la grasa láctea

Relaciones	Adulteración %			
	2%	5%	10%	15%
R1 $C_{4:0}/C_{6:0}$	-	-	-	-
R2 $C_{6:0}/C_{8:0}$	72,6	100,0	100,0	100,0
R3 $C_{10:0}/C_{8:0}$	38,7	98,4	100,0	100,0
R4 $C_{12:0}/C_{8:0}$	17,7	97,6	100,0	100,0
R5 $C_{12:0}/C_{10:0}$	100,0	100,0	100,0	100,0
R6 $C_{14:0}/C_{12:0}$	70,2	100,0	100,0	100,0
R7 $C_{14:0}/C_{18:0}$	-	16,1	38,7	56,4
R8 $C_{14:0}/C_{18:1}$	8,9	15,3	39,5	58,9
R9 $C_{14:0}/C_{18:2}$	2,4	4,8	12,9	20,2
R10 $C_{16:0}/C_{12:0}$	44,3	100,0	100,0	100,0
R11 $C_{16:0}/C_{14:0}$	12,9	32,3	71,0	98,4
R12 $C_{18:0}/C_{8:0}$	22,6	68,5	100,0	100,0
R13 $C_{18:0}/C_{12:0}$	30,6	92,7	100,0	100,0
R14 $C_{18:1}/C_{16:0}$	-	-	1,6	2,4
R15 $C_{18:1}/C_{18:0}$	-	-	-	-
R16 $C_{18:2}/C_{8:0}$	19,3	85,5	100,0	100,0
R17 $C_{4:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	3,2	19,3	72,6	100,0
R18 $C_{12:0} / (C_{4:0} + C_{6:0})$	18,5	100,0	100,0	100,0
R19 $C_{18:0} / (C_{6:0} + C_{8:0})$	-	28,2	60,5	89,5
R20 $(C_{18:1} + C_{16:0})/C_{4:0}$	-	1,6	3,2	3,2
R21 $(C_{6:0} + C_{8:0} + C_{10:0} + C_{12:0})/C_{18:0}$	15,3	54,0	99,2	100,0
R22 $(C_{18:0} + C_{18:1})/(C_{6:0} + C_{8:0})$	-	28,2	64,5	87,1

La relación **R5** fue la más sensible, ya que detectó la adulteración con grasa de coco al 2% en la totalidad de las muestras.

En la detección de adulteraciones con grasas de origen vegetal, las relaciones de ácidos grasos demostraron ser una herramienta muy útil ya que se encontraron relaciones que detectaron bajos niveles de adulteración.

A continuación se resumen las relaciones que detectaron el mínimo nivel de adulteración (entre 2 y 15%) para el 100% de las muestras.

Adulterantes de origen animal:

- Grasa vacuna: ninguna
- Grasa porcina: R9 y R16 (15%)

Adulterantes de origen vegetal:

- Aceite de girasol: R9 (2%)
- Aceite de soja: R9 (2%)
- Grasa de coco: R5 (2%)

IV.3.3 Análisis de Regresión

Si bien se encontraron algunas relaciones de ácidos grasos que demostraron ser una herramienta útil para detectar bajos niveles de adulteración de la grasa láctea con aceites o grasas vegetales, no sucedió lo mismo cuando la grasa láctea se adulteró con grasas de origen animal.

El empleo de técnicas cromatográficas en combinación con técnicas de regresión debería ser una metodología más eficiente para detectar niveles bajos de adulteración de la grasa láctea, con grasas animales fundamentalmente con grasa vacuna.

De esta manera con el propósito de obtener ecuaciones que sirvan para predecir el porcentaje de adulteración en la grasa láctea, se utilizó la Regresión Lineal Simple (RLS) y principalmente la Regresión Lineal Múltiple (RLM).

Como se mencionó en Materiales y Métodos, la RLM es una de las técnicas de regresión más adecuadas para el estudio de dependencia entre dos conjuntos de variables (grupos X e Y) analizadas en las mismas muestras (Molina Hernández y Martín-Alvarez, 1996). En la mayoría de las aplicaciones se tiene un elevado número de posibles variables independientes entre las cuales se deben elegir aquéllas a incluir en el modelo, para este caso las dichas variables son los 16 ácidos grasos cuantificados. En la búsqueda del “mejor” modelo de regresión se utilizaron los métodos de búsqueda secuencial como la eliminación regresiva (***backward***), la estimación por etapas (***stepwise***) y el ***best subset regression models***. Para ello se confeccionaron para cada adulterante la matriz de calibración y la matriz de predicción. Se seleccionaron de las 62 muestras de grasas lácteas, 42 para construir la matriz de calibración y 20 para la de predicción.

. Con respecto a los adulterantes, para la grasa vacuna de las 10 muestras analizadas se seleccionaron 6 para realizar la matriz de calibración y 4 para la de predicción. De las 7 muestras de grasa porcina, se seleccionaron 4 para la matriz de calibración y 3 para la de predicción. Para el aceite de girasol de las 5 muestras se escogieron 3 para la matriz de calibración y 2 para la de predicción. En cuanto al aceite de soja y la grasa de coco se seleccionó para cada materia grasa 1 muestra para la calibración y 1 para la predicción.

IV.3.3.1 Diseño experimental de las matrices de calibración

a) Matriz de calibración para grasa vacuna

Para la preparación de las muestras adulteradas se mezclaron las 42 grasas lácteas seleccionadas con 6 muestras de grasa vacuna en los distintos niveles de adulteración. Del conjunto constituido por las grasas lácteas y sus correspondientes mezclas, se seleccionaron muestras al azar de manera que la matriz esté formada por muestras independientes. De esta manera se obtuvo un total de 42 filas, compuestas por 8 grasas lácteas (0%), 8 mezclas al 2%, 9 mezclas al 5%, 9 mezclas al 10% y 8 mezclas al 15%.

b) Matriz de calibración para grasa porcina

.Se prepararon las muestras adulteradas de igual manera que para grasa vacuna, mezclando las 42 grasas lácteas con 4 muestras de grasa porcina en los distintos niveles de adulteración. Para construir la matriz de 42 filas independientes, se seleccionaron al azar del conjunto de muestras, 8 grasas lácteas (0%), 8 mezclas al 2%, 9 mezclas al 5%, 9 mezclas al 10% y 8 mezclas al 15%.

c) Matriz de calibración para aceite de girasol

.En el caso del aceite de girasol se mezclaron las 42 grasas lácteas con 3 muestras de aceite en los distintos niveles.

De este conjunto se tomaron al azar 9 grasas lácteas (0%), 9 mezclas al 2%, 8 mezclas al 5%, 8 mezclas al 10% y 8 mezclas al 15% obteniéndose una matriz de 42 filas independientes.

d) Matriz de calibración para aceite de soja

.Para preparar las muestras adulteradas se mezclaron las 42 grasas lácteas con una muestra de aceite de soja en todos los niveles de adulteración. De este conjunto se tomaron al azar 9 grasas lácteas (0%), 9 mezclas al 2%, 8 mezclas al 5%, 8 mezclas al 10% y 8 mezclas al 15%, obteniéndose una matriz de 42 filas independientes.

e) Matriz de calibración para grasa de coco

.De la misma forma que para aceite de soja, se prepararon las muestras adulteradas mezclando las grasas lácteas con una muestra de grasa de coco en todos los niveles de adulteración. Se construyó la matriz de calibración de 42 filas independientes seleccionando al azar 9 grasas lácteas (0%), 9 mezclas al 2%, 8 mezclas al 5%, 8 mezclas al 10% y 8 mezclas al 15%.

Las matrices de calibración para los 5 adulterantes se pueden observar en el Apéndice I.

IV.3.3.2 Diseño experimental de las matrices de predicción

f) Matriz de predicción para grasa vacuna

Se prepararon las muestras adulteradas combinando las 20 muestras de grasas lácteas con cada una de las 4 muestras de grasas vacunas en los mismos porcentajes de adulteración que los utilizados para la calibración. La matriz de predicción se construyó con las 20 grasas lácteas y las muestras adulteradas dando un total de 340 filas

g) Matriz de predicción para grasa porcina

Las muestras adulteradas se prepararon mezclando las 20 muestras de grasas lácteas con cada una de las 3 muestras de grasas porcina en los distintos niveles de adulteración. La matriz de predicción se construyó con las 20 grasas lácteas y las muestras adulteradas dando un total de 260 filas.

h) Matriz de predicción para aceite de girasol

Las muestras adulteradas se prepararon mezclando las 20 muestras de grasas lácteas con cada una de las 2 muestras de aceites de girasol para cada porcentaje de adulteración. La matriz de predicción se construyó con las 20 grasas lácteas y las muestras adulteradas dando un total de 180 filas.

i) Matriz de predicción para aceite de soja

Las muestras adulteradas se prepararon mezclando para cada porcentaje de adulteración cada una de las 20 grasas lácteas con una muestra de aceite de soja. La matriz de predicción se construyó con las 20 grasas lácteas y las muestras adulteradas dando un total de 100 filas.

j) Matriz de predicción para grasa de coco

Las muestras adulteradas se prepararon mezclando para cada porcentaje de adulteración cada una de las 20 grasas lácteas con una muestra de grasa de coco. La matriz de predicción se formó con las 20 grasa lácteas y con las muestras adulteradas dando un total de 100 filas.

En el Apéndice I se presentan a modo de ejemplo 4 muestras para cada nivel de adulteración que forman parte de las matrices de predicción para los 5 adulterantes.

IV.3.4 Adulteraciones con grasas animales

IV.3.4.a Detección de grasa vacuna

a.1 Obtención del modelo de regresión

En primer lugar, del análisis de la matriz de correlaciones, que se muestra en el Apéndice II, se observó que la variable mejor correlacionada con la variable dependiente fue $C_{16:1}$.

La RLS relacionó el porcentaje de adulteración con $C_{16:1}$ obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) de 0,591, es decir que $C_{16:1}$ explicó el 59% de la varianza de la variable dependiente, por lo que se recurrió a la RLM con el propósito de incrementar este porcentaje.

Para estimar el modelo de regresión múltiple se aplicó a la matriz de calibración el método *backward*, con el que se obtuvieron 5 modelos cuyos parámetros y el análisis de la varianza (ANOVA) para cada uno de ellos se observan en las Tablas IV.16 y IV.17.

Tabla IV.16 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa vacuna

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,954	0,910	0,858	2,0434
2	0,954	0,910	0,863	2,0062
3	0,954	0,910	0,868	1,9752
4	0,953	0,909	0,871	1,9468
5	0,950	0,903	0,868	1,9721

R :coeficiente de correlación, R²: coeficiente de determinación,
R² ajustado: coeficiente de determinación ajustado, S: error estándar de predicción = \sqrt{MSE}

En los modelos están incluidas las siguientes variables:

1 : constante, 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} y C_{18:2 conj}

2 : constante, 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_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

3 : constante, 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_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

4 : constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

5 : constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:2}, y C_{18:2 conj}

Tabla IV.17 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1099,841	15	73,323	17,560	6,5*10 ⁻¹⁰
	Residual	108,564	26	4,176		
	Total	1208,405	41			
2	Regresión	1099,736	14	78,553	19,517	1,4*10 ⁻¹⁰
	Residual	108,669	27	4,025		
	Total	1208,405	41			
3	Regresión	1099,170	13	84,552	21,673	3,2*10 ⁻¹¹
	Residual	109,235	28	3,901		
	Total	1208,405	41			
4	Regresión	1098,494	12	91,541	24,153	6,9* 10 ⁻¹²
	Residual	109,911	29	3,790		
	Total	1208,405				
5	Regresión	1091,724	11	99,248	25,518	3,0*10 ⁻¹²
	Residual	116,681	30	3,889		
	Total	1208,405				

SS= suma de cuadrados, gl= grados de libertad, MS= cuadrado medio, test F, valor del nivel crítico, p.

Para seleccionar el mejor modelo se utilizó el R^2 ajustado (que se usa para comparar modelos con diferentes números de variables independientes) y el S^2 (error medio cuadrático = MSE, debe ser lo más pequeño posible ya que es una medida de la variación de los errores de predicción) (Walpole y Myers, 1992).

De la observación de las Tablas IV.16 y IV.17 se seleccionó el modelo nº 4 con 12 variables debido a que presentó el mejor R^2 ajustado (explicó el 87% de la varianza de la variable dependiente), el menor S^2 y una regresión lineal significativa indicando que el hiperplano definido por la ecuación de regresión ofrece un buen ajuste de la nube de puntos.

Para este modelo en la Tabla IV.18 se presentan los coeficientes no estandarizados, los estandarizados, las correlaciones y un estadístico de colinealidad (VIF).

Tabla IV.18 Modelo de 12 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-43,96		0,140				
C _{4:0}	2,32	0,16	0,099	-0,57	0,30	0,09	2,85
C _{8:0}	-62,42	-1,29	0,068	-0,47	-0,33	-0,11	147,48
C _{10:0}	72,34	4,41	0,000	-0,34	0,68	0,28	253,99
C _{10:1}	-89,87	-0,61	0,024	-0,47	-0,40	-0,13	21,03
C _{12:0}	-22,35	-1,78	0,006	-0,34	-0,48	-0,17	114,41
C _{14:0}	-6,90	-0,99	0,001	-0,50	-0,56	-0,20	23,69
C _{14:1}	23,79	0,38	0,053	-0,03	0,35	0,11	11,50
C _{16:0}	2,08	0,19	0,021	-0,23	0,41	0,14	1,98
C _{16:1}	22,73	0,63	0,000	0,77	0,59	0,22	7,95
C _{18:2}	-3,84	-0,14	0,151	-0,07	-0,26	-0,08	2,84
C _{18:3}	-3,31	-0,12	0,192	-0,08	-0,24	-0,07	2,71
C _{18:2conj}	4,85	0,25	0,030	0,15	0,39	0,13	3,71

B: coeficientes no estandarizados, β : coeficientes estandarizados, p: significación, VIF: factor de inflación de la varianza, Correlaciones con la variable dependiente (%A).

Con respecto a los coeficientes estandarizados, β , que dan idea de la importancia relativa de cada variable independiente en la ecuación de regresión cuando la colinealidad es mínima (Hair *et al.*, 1999), se observó que la mayoría son menores a 2 (1,96 es el *t* crítico para un 95% de confianza), a excepción de C_{10:0}.

La significación estadística de los coeficientes de regresión (p) proporciona información acerca de cuales coeficientes son diferentes de cero e indica las variables que son relevantes en la ecuación (Hair *et al.*, 1999). En este modelo las variables que presentaron coeficientes no significativos ($p > 0,05$ o $p > 0,1$) fueron $C_{18:2}$ y $C_{18:3}$.

También fue evaluada la existencia de multicolinealidad realizando un examen de las correlaciones entre las variables independientes (matriz de correlación, Apéndice II) y del **factor de inflación de la varianza (VIF)**, que es una de las medidas más utilizadas para determinar si existe multicolinealidad, estableciendo que valores superiores a 10 denotan una elevada multicolinealidad (Statistix user's manual, 2000; Hair *et al.*, 1999).

Se encontraron valores muy altos de VIF para $C_{8:0}$, $C_{10:0}$ y $C_{12:0}$ por lo que se concluyó la existencia de multicolinealidad en el modelo obtenido. Las correlaciones de Pearson fueron muy elevadas por lo que se debería considerar la eliminación de algunas de estas variables. En cuanto a las correlaciones parciales (expresan el grado de relación existente entre cada variable independiente y la dependiente eliminando de ambas el efecto de las otras variables incluidas en la ecuación), y las semiparciales (expresan el grado de relación existente entre la variable dependiente y la parte de cada variable independiente que no está explicada por el resto de las otras), las variables $C_{10:0}$, $C_{14:0}$, y $C_{16:1}$ presentaron una elevada contribución, mientras que $C_{4:0}$, $C_{18:2}$ y $C_{18:3}$ contribuyeron poco.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\begin{aligned} \% A = & -43,96 + 2,32 C_{4:0} - 62,42 C_{8:0} + 72,34 C_{10:0} - 89,87 C_{10:1} - 22,35 \\ & C_{12:0} - 6,90 C_{14:0} + 23,79 C_{14:1} + 2,08 C_{16:0} + 22,73 C_{16:1} - 3,84 C_{18:2} - 3,31 C_{18:3} + \\ & 4,85 C_{18:2conj}. \end{aligned}$$

Debido a que este modelo presentó problemas de multicolinealidad se continuó con la aplicación del *stepwise*. El mismo eligió un modelo con una sola variable que fue $C_{16:1}$.

También se aplicó el *best subset regression models*, que utiliza el R^2 ajustado y el Cp de Mallows para escoger un modelo equilibrado (parsimonioso) y con buen ajuste.

El resultado de este método se puede observar en el Apéndice II. En primer lugar se eligió un modelo constituido por 7 variables que presentó un Cp de 9,3, cercano al valor P de 8 dado por el número de términos involucrados en el modelo, y que explicó el 85% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado de 0,847). Presentó además un S^2 de 4,50 con una regresión lineal significativa ($p < 0,05$).

En la Tabla IV.19 se observan los parámetros del modelo escogido.

Tabla IV.19 Modelo de 7 variables obtenido por best subset regression models

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	13,96		0,258				
C _{10:0}	48,85	2,98	0,000	-0,34	0,68	0,33	81,71
C _{10:1}	-134,19	-0,91	0,000	-0,47	-0,588	-0,26	12,44
C _{12:0}	-17,44	-1,39	0,011	-0,34	-0,42	-0,16	72,25
C _{14:0}	-8,04	-1,15	0,000	-0,50	-0,64	-0,29	15,32
C _{14:1}	35,23	0,57	0,002	-0,03	0,49	0,20	7,85
C _{16:1}	18,67	0,52	0,001	0,77	0,55	0,23	4,94
C _{18:2}	-5,94	-0,21	0,011	-0,07	-0,42	-0,16	1,71

En este modelo los coeficientes estandarizados fueron menores a 2, excepto para C_{10:0}, y todas las variables presentaron coeficientes significativos.

Con respecto a la multicolinealidad se encontraron valores muy altos de VIF para C_{10:0} y C_{12:0}, además estas variables están altamente correlacionadas entre sí. De acuerdo a los valores de las correlaciones parciales las variables C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0} y C_{16:1} presentaron una elevada contribución, y teniendo en cuenta los valores de las correlaciones semiparciales las variables C_{12:0} y C_{18:2} tuvieron escasa contribución.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 13,96 + 48,85 C_{10:0} - 134,19 C_{10:1} - 17,44 C_{12:0} - 8,04 C_{14:0} + 35,23 C_{14:1} + 18,67 C_{16:1} - 5,94 C_{18:2}$$

Como este modelo presentó elevada multicolinealidad, se eliminó la variable $C_{12:0}$ (escasa contribución y alta correlación con $C_{10:0}$) obteniéndose un modelo alternativo de 6 variables, que explicó el 82% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado = 0,820), presentó un C_p de 14,7 para un P de 7 y un S^2 de 5,29 con una relación lineal significativa ($p < 0,05$).

Los parámetros del modelo obtenido se muestran en la Tabla IV.20.

Tabla IV.20 Modelo de 6 variables obtenido por best subset regression models

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	8,17		0,533				
$C_{10:0}$	26,31	1,60	0,000	-0,34	0,78	0,48	10,94
$C_{10:1}$	-161,31	-1,10	0,000	-0,47	-0,64	-0,33	11,17
$C_{14:0}$	-6,22	-0,89	0,001	-0,50	-0,53	-0,25	12,82
$C_{14:1}$	28,11	0,45	0,016	-0,03	0,39	0,17	7,35
$C_{16:1}$	20,06	0,55	0,001	0,77	0,54	0,25	4,88
$C_{18:2}$	-4,97	-0,18	0,042	-0,07	-0,34	-0,14	1,67

Todos los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos.

Las variables $C_{10:0}$, $C_{10:1}$ y $C_{14:0}$ presentaron valores de VIF más bajos, aunque ligeramente superiores a 10, además de presentar altas correlaciones de Pearson. Teniendo en cuenta las correlaciones parciales las variables $C_{10:0}$, $C_{10:1}$, $C_{14:0}$ y $C_{16:1}$ presentaron una elevada contribución, mientras que $C_{14:1}$ y $C_{18:2}$ tuvieron una escasa contribución reflejada en los valores de las correlaciones semiparciales.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 8,17 + 26,31 C_{10:0} - 161,31 C_{10:1} - 6,22 C_{14:0} + 28,11 C_{14:1} + 20,06 C_{16:1} - 4,97 C_{18:2}.$$

Con el propósito de reducir aún más la escasa multicolinealidad todavía existente se eliminó del modelo anterior la variable $C_{18:2}$. De esta manera se obtuvo un modelo de 5 variables que explicó el 80% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado = 0,803) con un Cp de 18,1 para un P de 6. El mismo presentó un S^2 de 5,80 con una regresión lineal significativa.

En la Tabla IV.21 se muestran los parámetros del modelo.

Tabla IV.21 Modelo de 5 variables obtenido por best subset regression models

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	3,83		0,776				
$C_{10:0}$	22,77	1,39	0,000	-0,34	0,75	0,47	8,55
$C_{10:1}$	-132,51	-0,90	0,000	-0,47	-0,58	-0,30	9,20
$C_{14:0}$	-6,50	-0,93	0,001	-0,50	-0,53	-0,26	12,74
$C_{14:1}$	27,45	0,44	0,024	-0,03	0,37	0,16	7,35
$C_{16:1}$	19,76	0,55	0,001	0,77	0,51	0,25	4,88

En este modelo todos los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos.

Debido a que solamente $C_{14:0}$ presentó un valor de VIF ligeramente superior a 10, la multicolinealidad estaría reducida y la mayoría de las variables

presentaron una elevada contribución, por lo que se lo seleccionó para detectar la adulteración de la grasa láctea con grasa vacuna.

El modelo seleccionado para predecir la adulteración de grasa láctea con grasa vacuna fue el siguiente:

$$\% A = 3,83 + 22,77 C_{10:0} - 132,51 C_{10:1} - 6,50 C_{14:0} + 27,45 C_{14:1} + 19,76 C_{16:1}$$

a.2 Validación del modelo de RLM

Por lo mencionado en Materiales y Métodos, la habilidad predictiva real de un modelo de calibración además de ser juzgada por la validación interna, debe ser validada con muestras que no están incluidas en la matriz de calibración (Rodríguez-Nogales, 2006; Ragno *et al.*, 2004). Debido a ello con la matriz de calibración se realizó la validación interna y con la matriz de predicción se efectuó la validación externa.

Para la validación interna se empleó la validación cruzada, en la que se obtuvo un RMSE_{CV} de 2,54% y cuando se aplicó el modelo a la matriz de predicción se obtuvo un RMSEP de 2,80%.

Para cada una de las muestras de la matriz de predicción se calculó el porcentaje de adulteración predicho y el error estándar de la predicción. En la

Tabla IV.22 se muestran a modo de ejemplo los valores obtenidos para 4 muestras de cada nivel.

Tabla IV. 22 Resultados obtenidos para la validación externa

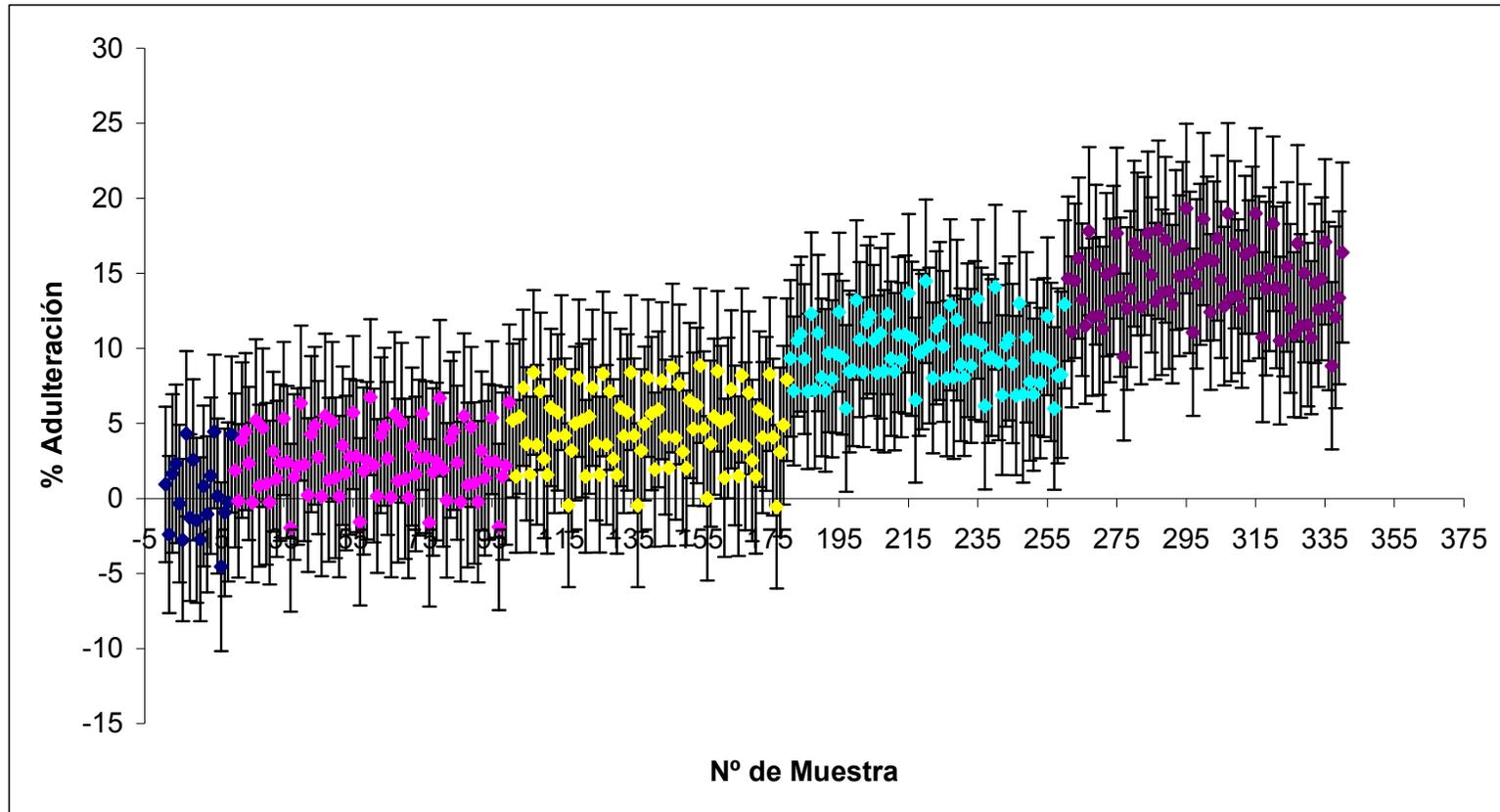
Valor teórico (%A)	Valor predicho (%A)	Error estándar pred.
0,00	-2,72	2,50
0,00	1,53	2,51
0,00	2,58	2,55
0,00	-1,12	2,65
2,00	-2,73	2,64
2,00	6,14	2,48
2,00	1,25	2,44
2,00	3,13	2,46
5,00	3,06	2,54
5,00	5,19	2,52
5,00	4,67	2,48
5,00	4,14	2,46
10,00	11,55	2,47
10,00	8,15	2,47
10,00	10,84	2,49
10,00	9,57	2,47
15,00	11,46	2,46
15,00	14,08	2,46
15,00	16,02	2,64
15,00	12,29	2,69

Para estimar el error específico en cada determinación se calcularon y graficaron los intervalos de predicción (Figura IV.18), según la fórmula presentada

en la sección de Materiales y Métodos, que incluyen el error estándar de predicción.

Se analizó para cada grupo de muestras si dichos intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico y se calculó el porcentaje detectado de muestras adulteradas.

Figura IV.18 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa vacuna



(♦) muestras genuinas (0% de adulteración), (♦) muestras adulteradas al 2%, (♦) muestras adulteradas al 5%, (♦) muestras adulteradas al 10%, (♦) muestras adulteradas al 15%.

Para el grupo de las muestras genuinas, todos los intervalos de predicción comprendieron el eje de la abcisa, que corresponde al nivel del 0% de adulteración. Del grupo de las muestras adulteradas al 2% todos los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico pero como la mayoría incluyó también el nivel del 0%, solo fue posible detectar la adulteración en el 12% de las muestras. Para las muestras adulteradas al 5% todos los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico, pero solo fue posible detectar la adulteración en el 46% de las muestras, ya que las restantes también comprendieron el nivel del 0%. Los intervalos de predicción de las muestras adulteradas al 10 y al 15% comprendieron sus niveles de adulteración teóricos, y como no comprendieron el nivel del 0% fue posible detectar la adulteración en el 100% de las muestras adulteradas de cada grupo.

Con la aplicación de RLM se detectó el 100% de las muestras adulteradas con niveles de adulteración iguales o mayores al 10%.

IV.3.4.b Detección de grasa porcina

b.1 Obtención del modelo de regresión

Del análisis de la matriz de correlaciones (Apéndice II) se observó que la variable independiente mejor correlacionada con la variable dependiente fue $C_{18:2}$. La RLS relacionó el porcentaje de adulteración con $C_{18:2}$ obteniéndose un coeficiente de determinación (R^2) de 0,786, es decir que explicó el 79% de la

varianza de la variable dependiente. Con el propósito de incrementar este porcentaje se aplicó la RLM.

Con la aplicación del método *backward* se obtuvieron 4 modelos, cuyos parámetros y el ANOVA de cada uno de ellos se observan en las Tablas IV.23 y IV.24.

Tabla IV.23 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa porcina

Modelo	R	R²	R² ajustado	S
1	0,981	0,962	0,938	1,3487
2	0,981	0,962	0,940	1,3244
3	0,981	0,962	0,942	1,3054
4	0,980	0,961	0,943	1,3016

En los modelos están incluidas las siguientes variables:

- 1 : constante, 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_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}
- 2 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}
- 3 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}
- 4 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

Tabla IV.24 Análisis de la varianza de los modelos de regresión obtenidos por backward

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1162,929	16	72,683	39,957	$7,7 \cdot 10^{-14}$
	Residual	45,476	25	1,819		
	Total	1208,405	41			
2	Regresión	1162,801	15	77,520	44,197	$1,2 \cdot 10^{-14}$
	Residual	45,604	26	1,754		
	Total	1208,405	41			
3	Regresión	1162,395	14	83,028	48,724	$1,8 \cdot 10^{-15}$
	Residual	46,009	27	1,704		
	Total	1208,405	41			
4	Regresión	1160,972	13	89,306	52,718	$3,6 \cdot 10^{-16}$
	Residual	47,433	28	1,694		
	Total	1208,405	41			

Se seleccionó el modelo nº4, construido con 13 variables, debido a que presentó el mejor R^2 ajustado (explicó el 94% de la varianza de la variable dependiente) y el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

En la Tabla IV.25 se presentan los coeficientes no estandarizados, los estandarizados, las correlaciones y un estadístico de colinealidad (VIF).

Tabla IV. 25 Modelo de 13 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-1134,41		0,000				
C _{4:0}	13,29	0,83	0,001	-0,57	0,56	0,13	37,64
C _{6:0}	15,69	0,46	0,010	-0,62	0,46	0,10	19,89
C _{10:0}	16,90	0,97	0,042	-0,34	0,37	0,08	147,54
C _{12:0}	14,05	1,08	0,006	-0,34	0,49	0,11	93,95
C _{14:0}	12,27	1,56	0,000	-0,47	0,61	0,15	105,32
C _{15:0}	10,13	0,27	0,003	-0,53	0,52	0,12	4,93
C _{16:0}	13,59	1,35	0,000	-0,03	0,66	0,17	60,49
C _{16:1}	11,40	0,32	0,000	0,67	0,69	0,19	2,77
C _{18:0}	11,45	1,26	0,000	-0,08	0,62	0,16	64,00
C _{18:1}	12,29	3,82	0,000	0,53	0,63	0,16	554,31
C _{18:2}	19,29	1,51	0,000	0,89	0,84	0,31	23,26
C _{18:3}	7,67	0,31	0,003	0,05	0,53	0,12	6,30
C _{18:2conj}	8,88	0,48	0,004	-0,30	0,51	0,12	16,34

Se observó que la mayoría de los coeficientes estandarizados fueron menores a 2, excepto para C_{18:1} y además todas las variables presentaron coeficientes significativos.

El modelo presentó multicolinealidad debido a que la mayoría de las variables tuvieron elevados valores de VIF, además las correlaciones de Pearson (Apéndice II) fueron muy elevadas por lo que se debería considerar la eliminación de alguna de estas variables.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\begin{aligned} \% A = & -1134,41 + 13,29 C_{4:0} + 15,69 C_{6:0} + 16,90 C_{10:0} + 14,05 C_{12:0} + 12,27 C_{14:0} \\ & + 10,13 C_{15:0} + 13,59 C_{16:0} + 11,40 C_{16:1} + 11,45 C_{18:0} + 12,29 C_{18:1} + 19,29 C_{18:2} + \\ & 7,67 C_{18:3} + 8,88 C_{18:2conj}. \end{aligned}$$

Para eliminar o disminuir la multicolinealidad se aplicó *stepwise* con el que se obtuvieron 4 modelos. En las Tablas IV.26 y IV.27 se muestran los parámetros y el ANOVA.

Tabla IV. 26 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método *stepwise* para detectar grasa porcina

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,887	0,786	0,781	2,5428
2	0,944	0,892	0,886	1,8312
3	0,956	0,913	0,906	1,6603
4	0,961	0,923	0,915	1,5825

En los modelos están incluidas las siguientes variables:

- 1 : constante, C_{18:2}
- 2 : constante, C_{8:0}, C_{18:2}
- 3 : constante, C_{8:0}, C_{16:1}, C_{18:2}
- 4 : constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{16:1}, C_{18:2}

Tabla IV. 27 Análisis de la varianza de los modelos de regresión obtenidos por stepwise

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	949,771	1	949,771	146,891	$8,3 \cdot 10^{-17}$
	Residual	258,63	40	6,466		
	Total	1208,405	41			
2	Regresión	1077,628	2	538,814	160,684	$1,2 \cdot 10^{-18}$
	Residual	130,777	39	3,353		
	Total	1208,405	41			
3	Regresión	1103,649	3	367,883	133,449	$3,1 \cdot 10^{-20}$
	Residual	104,756	38	2,757		
	Total	1208,405	41			
4	Regresión	1115,740	4	278,935	111,376	$3,9 \cdot 10^{-20}$
	Residual	92,665	37	2,504		
	Total	1208,405	41			

El modelo nº4 con 4 variables fue el de mejor R^2 ajustado (explicó el 91% de la varianza de la variable dependiente), y el de menor S^2 , presentando una regresión lineal significativa.

Los parámetros se muestran en la Tabla IV.28.

Tabla IV. 28 Modelo de 4 variables obtenido por stepwise

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-4,03		0,464				
C _{4:0}	-1,91	-0,12	0,034	-0,57	-0,34	-0,10	1,41
C _{8:0}	-10,78	-0,21	0,001	-0,49	-0,52	-0,17	1,52
C _{16:1}	6,49	0,18	0,005	0,67	0,44	0,14	1,72
C _{18:2}	9,14	0,71	0,000	0,89	0,91	0,60	1,41

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. No existió multicolinealidad ya que los valores de VIF de todas las variables fueron menores a 10 y además las mismas presentaron una buena contribución.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = -4,03 - 1,91 C_{4:0} - 10,78 C_{8:0} + 6,49 C_{16:1} + 9,14 C_{18:2}.$$

Además se aplicó el *best subset regression models* (Apéndice II) y se encontró que el mejor modelo tenía 4 variables, seguido por el obtenido en el *stepwise*.

Este modelo explicó el 92% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado de 0,916) y tuvo un S^2 de 2,49. El mismo presentó un C_p de 18,6 para un P de 5 con una relación lineal significativa ($p < 0,05$).

Los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla IV.29.

Tabla IV.29 Modelo de 4 variables seleccionado con el *best subset regression models*

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-77,68		0,000				
C _{16:0}	1,27	0,13	0,012	-0,03	0,40	0,12	1,13
C _{16:1}	6,38	0,18	0,006	0,67	0,43	0,13	1,76
C _{18:1}	0,92	0,29	0,000	0,53	0,63	0,23	1,62
C _{18:2}	9,51	0,74	0,000	0,89	0,92	0,66	1,28

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. No existió multicolinealidad debido a que los valores de VIF de todas las variables fueron menores a 10 y además las mismas presentaron una buena contribución.

Por lo mencionado se seleccionó este último modelo para la detección de adulteraciones con grasa porcina.

El modelo seleccionado para predecir la adulteración de grasa láctea con grasa porcina fue el siguiente:

$$\% A = -77,68 + 1,27 C_{16:0} + 6,38 C_{16:1} + 0,92 C_{18:1} + 9,51 C_{18:2}$$

b. 2 Validación del modelo de RLM

Con la validación cruzada se obtuvo un $RMSE_{CV}$ de 1,71% y cuando el modelo se aplicó a la matriz de predicción se obtuvo un $RMSEP$ de 1,77%.

En la Tabla IV.30 se muestran a modo de ejemplo el valor del porcentaje de adulteración teórico, del porcentaje de adulteración predicho y el error estándar de la predicción para 4 muestras de cada nivel.

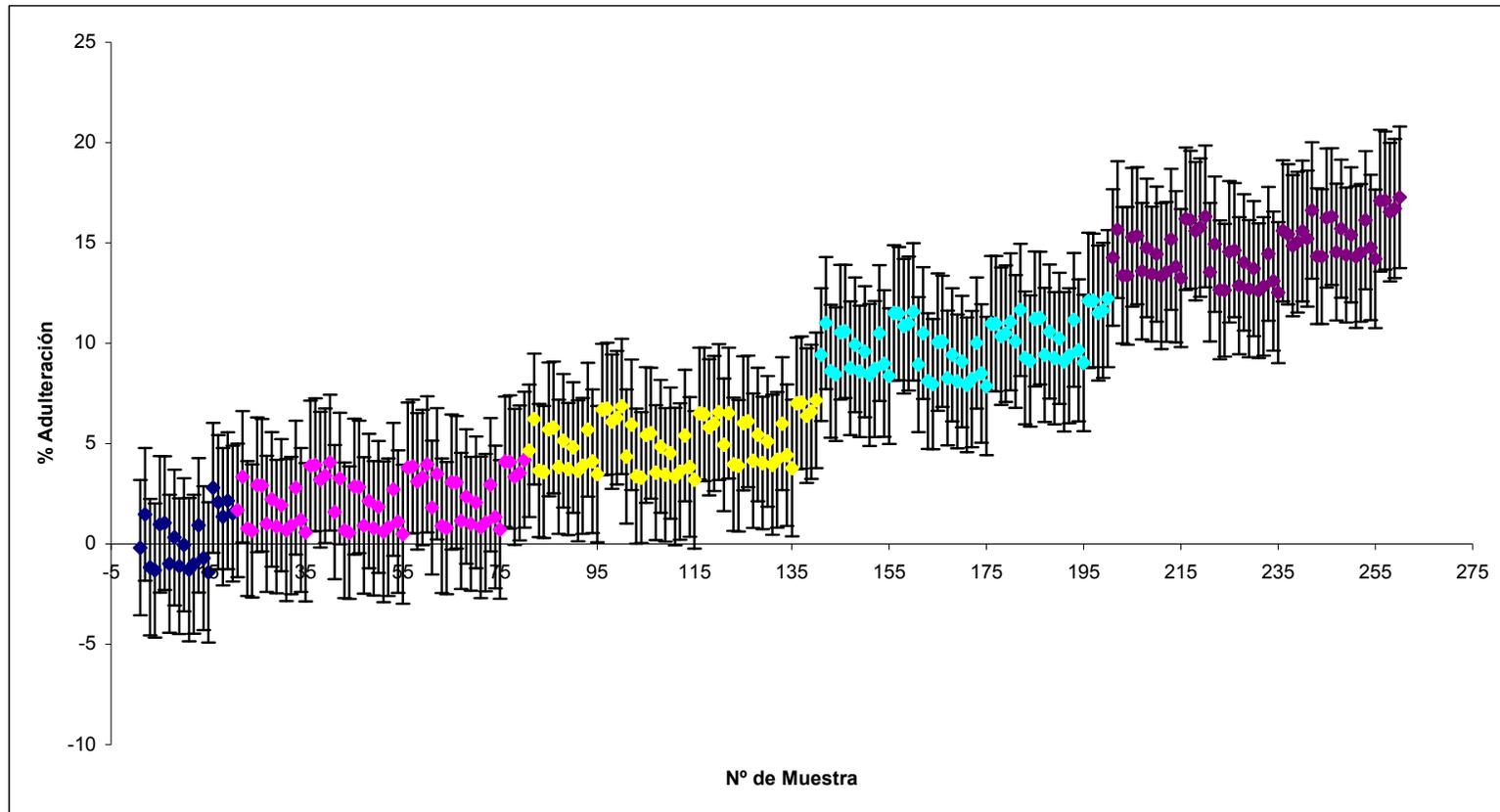
Tabla IV.30 Resultados obtenidos para la validación externa

Valor teórico (%A)	Valor predicho (A%)	Error estándar pred.
0,00	-0,18	1,67
0,00	-1,10	1,67
0,00	-1,27	1,77
0,00	2,17	1,69
2,00	0,77	1,66
2,00	3,95	1,64
2,00	3,31	1,67
2,00	3,37	1,68
5,00	3,47	1,68
5,00	4,47	1,62
5,00	3,56	1,68
5,00	5,41	1,65
10,00	8,73	1,65
10,00	7,93	1,61
10,00	11,11	1,65
10,00	9,43	1,63
15,00	15,68	1,69
15,00	15,31	1,70
15,00	13,11	1,72
15,00	16,21	1,71

Para cada una de las muestras de la matriz de predicción se calcularon y graficaron los intervalos de predicción que se muestran en la Figura IV.19.

Se analizó para cada grupo de muestras si dichos intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico y se calculó el porcentaje detectado de muestras adulteradas.

Figura IV.19 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa porcina



(♦) muestras genuinas (0% de adulteración), (♦) muestras adulteradas al 2%, (♦) muestras adulteradas al 5%, (♦) muestras adulteradas al 10%, (♦) muestras adulteradas al 15%.

Los intervalos de predicción para el grupo de las muestras genuinas comprendieron el nivel del 0% de adulteración. Todos los intervalos de las muestras adulteradas al 2% comprendieron el nivel de adulteración teórico, sin embargo como la mayoría incluyó también al 0%, sólo fue posible detectar la adulteración en el 22% de las muestras. Para el grupo de las muestras adulteradas al 5%, todos los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico, pudiéndose detectar la adulteración en el 97% de las muestras debido a que no incluyeron el nivel del 0%. Los intervalos de predicción de las muestras adulteradas al 10 y al 15% comprendieron el nivel de adulteración teórico correspondiente, y en ambos grupos fue posible detectar el 100% de las muestras adulteradas.

Con la aplicación de la RLM se detectó prácticamente la totalidad de las muestras adulteradas con niveles de adulteración iguales o mayores al 5%.

IV.3.5 Adulteraciones con aceites y/o grasas vegetales

Si bien para los aceites y/o grasas vegetales las relaciones de determinados ácidos grasos lograron la detección de bajos niveles de adulteración, también se aplicaron técnicas de regresión (RLS y RLM) como se hizo para las grasas de origen animal.

IV.3.5.a Detección de aceite de girasol

a.1 Obtención del modelo de regresión

En la matriz de correlaciones (Apéndice II), se observó que la variable independiente mejor correlacionada con la dependiente fue $C_{18:2}$. De la aplicación de la RLS se obtuvo un R^2 de 0,939. Para incrementar el porcentaje de varianza explicada de la variable dependiente se aplicó RLM.

Con la aplicación del método *backward* se obtuvieron 6 modelos cuyos parámetros y análisis de la varianza de cada uno de ellos se muestran en las Tablas IV.31 y IV.32.

Tabla IV.31 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar aceite de girasol

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,997	0,994	0,991	0,5329
2	0,997	0,994	0,991	0,5236
3	0,997	0,994	0,991	0,5145
4	0,997	0,994	0,992	0,5084
5	0,997	0,994	0,992	0,5013
6	0,997	0,994	0,992	0,4942

En los modelos están incluidas las siguientes variables

1 : constante, 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_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

2 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, 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_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

3 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

4 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

5 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

6 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

Tabla IV.32 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1244,043	16	77,753	273,790	5,1*10 ⁻²⁴
	Residual	7,100	25	0,284		
	Total	1251,143	41			
2	Regresión	1244,015	15	82,934	302,536	3,0*10 ⁻²⁵
	Residual	7,127	26	0,274		
	Total	1251,143	41			
3	Regresión	1243,995	14	88,857	335,634	1,6*10 ⁻²⁶
	Residual	7,148	27	0,265		
	Total	1251,143	41			
4	Regresión	1243,907	13	95,685	370,249	9,8*10 ⁻²⁸
	Residual	7,236	28	0,258		
	Total	1251,143	41			
5	Regresión	1243,856	12	103,655	412,527	5,2*10 ⁻²⁹
	Residual	7,287	29	0,251		
	Total	1251,143	41			
6	Regresión	1243,815	11	113,074	462,921	2,5*10⁻³⁰
	Residual	7,328	30	0,244		
	Total	1251,143	41			

Se seleccionó el modelo n°6 con 11 variables independientes, que explicó el 99% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado de 0,992) y presentó el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se pueden observar en la Tabla IV.33.

Tabla IV.33 Modelo de 11 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	119,94		0,000				
C _{4:0}	-1,39	-0,10	0,002	-0,71	-0,53	-0,05	4,48
C _{6:0}	-4,38	-0,14	0,003	-0,73	-0,51	-0,04	10,33
C _{10:1}	22,35	0,13	0,009	-0,35	0,45	0,04	12,24
C _{12:0}	-4,51	-0,34	0,000	-0,37	-0,77	-0,09	13,43
C _{14:1}	-11,04	-0,17	0,000	-0,39	-0,62	-0,06	8,26
C _{16:0}	-1,58	-0,34	0,000	-0,88	-0,87	-0,13	6,34
C _{16:1}	-4,30	-0,09	0,002	-0,61	-0,53	-0,05	3,82
C _{18:0}	-3,31	-0,47	0,000	-0,54	-0,93	-0,20	5,66
C _{18:1}	-0,23	-0,06	0,033	0,37	-0,38	-0,03	4,24
C _{18:3}	-2,31	-0,10	0,000	-0,57	-0,63	-0,06	2,60
C _{18:2conj}	-1,34	-0,07	0,006	-0,35	-0,48	-0,04	2,81

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y las variables presentaron coeficientes significativos. La multicolinealidad fue moderada ya que las variables C_{6:0}, C_{10:1} y C_{12:0} exhibieron valores de VIF ligeramente superiores a 10. Además la correlación de Pearson (Apéndice II) para C_{10:1} y C_{12:0} fue elevada.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 119,94 - 1,39 C_{4:0} - 4,38 C_{6:0} + 22,35 C_{10:1} - 4,51 C_{12:0} - 11,04 C_{14:1} - 1,58 C_{16:0} - 4,30 C_{16:1} - 3,31 C_{18:0} - 0,23 C_{18:1} - 2,31 C_{18:3} - 1,34 C_{18:2conj}$$

Se aplicó además el método *stepwise* con el que se obtuvieron 4 modelos, cuyos parámetros y el análisis de la varianza se muestran en las Tablas IV.34 y IV.35.

Tabla IV.34 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por *stepwise* para detectar aceite de girasol

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,969	0,939	0,937	1,3839
2	0,976	0,952	0,950	1,2378
3	0,991	0,983	0,981	0,7533
4	0,996	0,991	0,990	0,5401

En los modelos están incluidas las siguientes variables

- 1 : constante, C_{18:2}
- 2 : constante, C_{18:1}, C_{18:2}
- 3 : constante, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 4 : constante, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}

Tabla IV.35 Análisis de la varianza de los modelos de regresión obtenidos por *stepwise*

Modelo	SS	gl	MS	F	p
1 Regresión	1174,534	1	1174,534	613,263	8,3*10 ⁻¹⁷
Residual	76,609	40	1,915		
Total	1251,143	41			
2 Regresión	1191,386	2	595,693	388,778	1,2*10 ⁻²⁸
Residual	59,757	39	1,532		
Total	1251,143	41			
3 Regresión	1229,581	3	409,860	722,334	1,5*10 ⁻³³
Residual	21,562	38	0,567		
Total	1251,143	41			
4 Regresión	1240,348	4	310,087	1062,856	1,2*10 ⁻³⁷
Residual	10,795	37	0,292		
Total	1251,143	41			

Se escogió el modelo nº4 con 4 variables independientes, que explicó el 99% de la varianza de la variable independiente (R^2 ajustado 0,990) y que presentó el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

Los parámetros de este modelo se muestran en la Tabla IV.36.

Tabla IV.36 Modelo de 4 variables obtenido por stepwise

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-3,03		0,090				
C _{16:1}	-5,32	-0,11	0,000	-0,61	-0,71	-0,09	1,54
C _{18:0}	-1,78	-0,25	0,000	-0,54	-0,88	-0,17	2,22
C _{18:1}	1,03	0,28	0,000	0,37	0,91	0,21	1,80
C _{18:2}	1,31	0,70	0,000	0,97	0,98	0,44	2,52

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. No existió multicolinealidad ya que las variables presentaron valores de VIF menores a 10.

Igualmente se realizó el *best subset regression models* (Apéndice II) y se encontró que el modelo obtenido con el *stepwise* fue el mejor en el subset de 4 variables, ya que presentó un Cp de 6 para un P de 5. Por consiguiente este modelo fue elegido para detectar adulteraciones con aceite de girasol.

El modelo seleccionado para predecir la adulteración de grasa láctea con aceite de girasol fue el siguiente:

$$\% A = -3,03 - 5,32 C_{16:1} - 1,78 C_{18:0} + 1,03 C_{18:1} + 1,31 C_{18:2}$$

a.2 Validación del modelo de RLM

Con la validación cruzada se obtuvo un $RMSE_{CV}$ de 0,54% y con la validación externa se obtuvo un $RMSEP$ de 0,74%.

Para cada una de las muestras de la matriz de predicción se calculó el porcentaje de adulteración predicho y el error estándar de la predicción.

A modo de ejemplo en la Tabla IV.37 se muestran los valores obtenidos para 4 muestras de cada nivel.

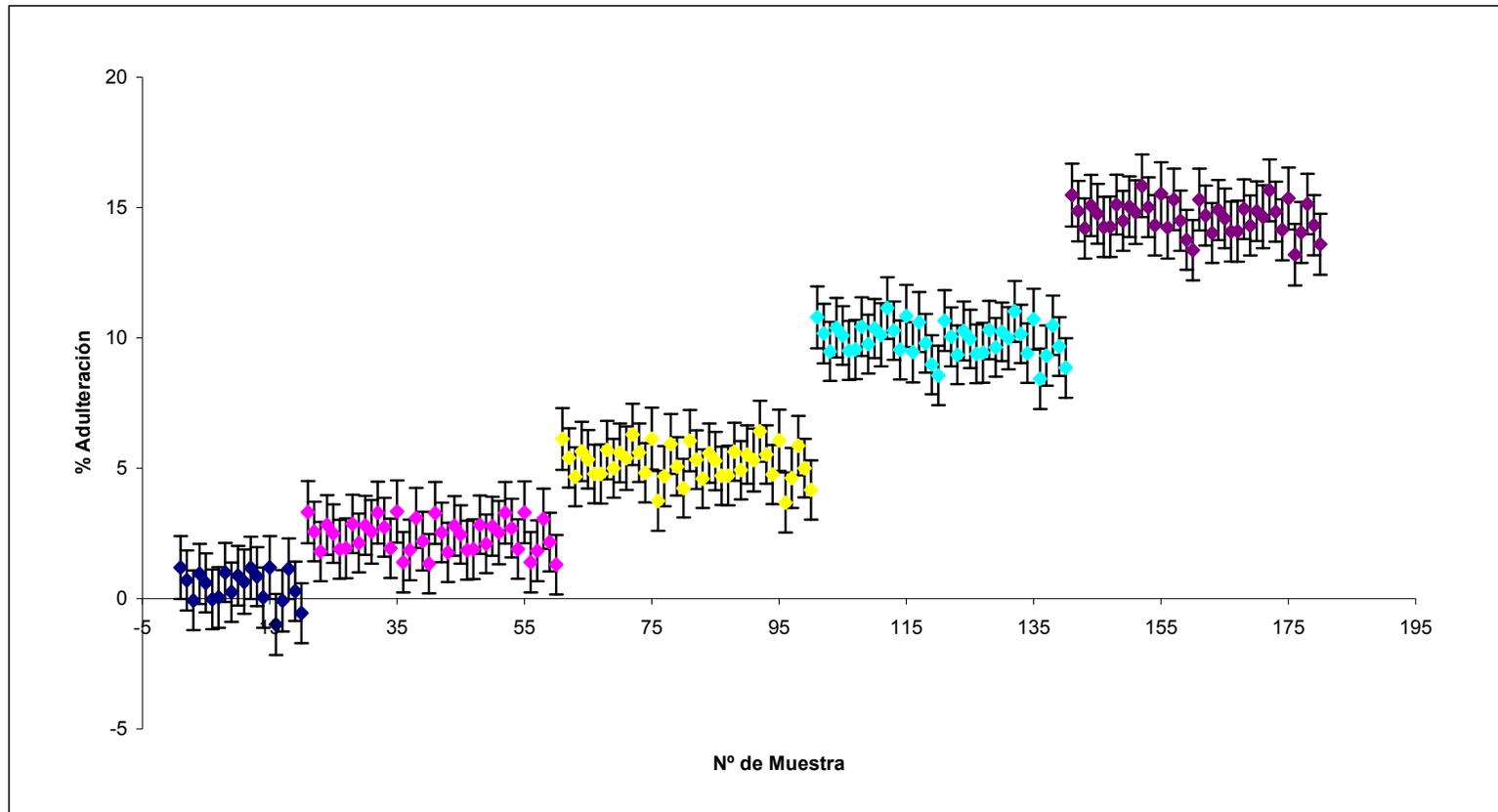
Tabla IV.37 Resultados obtenidos para la validación externa

Valor teórico (%A)	Valor predicho (%A)	Error estándar pred.
0,00	0,70	0,57
0,00	0,04	0,57
0,00	-1,07	0,58
0,00	0,28	0,56
2,00	2,13	0,56
2,00	2,81	0,56
2,00	2,53	0,60
2,00	2,70	0,55
5,00	6,13	0,58
5,00	6,14	0,59
5,00	5,32	0,59
5,00	4,63	0,56
10,00	10,17	0,56
10,00	8,97	0,56
10,00	10,30	0,55
10,00	10,48	0,56
15,00	14,76	0,56
15,00	14,25	0,57
15,00	14,02	0,57
15,00	14,09	0,58

También se calcularon y graficaron los intervalos de predicción, los que se muestran en la Figura IV.20.

Se analizó para cada grupo de muestras si dichos intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico y se calculó el porcentaje de muestras adulteradas detectadas.

Figura IV.20 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de aceite de girasol



(♦) muestras genuinas (0% de adulteración), (♦) muestras adulteradas al 2%, (♦) muestras adulteradas al 5%, (♦) muestras adulteradas al 10%, (♦) muestras adulteradas al 15%.

En la figura se observa que para el grupo de las muestras genuinas todos los intervalos de predicción comprendieron el nivel del 0% de adulteración. Para las muestras adulteradas en los niveles del 2, 5, 10 y 15% todos los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico correspondiente y como no comprendieron el nivel del 0% fue posible detectar la adulteración en el 100% de las muestras adulteradas.

Con la aplicación de la RLM se detectó el 100% de las muestras adulteradas con niveles de adulteración iguales o mayores al 2%.

IV.3.5.b Detección de aceite de soja

b.1 Obtención del modelo de regresión.

En la matriz de correlaciones (Apéndice II) se observó que la variable independiente $C_{18:2}$ fue la de mayor correlación con la variable dependiente. Al aplicar la RLS se obtuvo un R^2 de 0,966. De la misma manera que para los casos anteriores, se utilizó la RLM para incrementar el porcentaje de varianza explicada.

Con la aplicación del método *backward* se obtuvieron 9 modelos cuyos parámetros y el análisis de la varianza de cada uno de ellos se muestran en las Tablas IV.38 y IV.39.

Tabla IV.38 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar aceite de soja

Modelo	R	R²	R² ajustado	S
1	0,999	0,998	0,997	0,3227
2	0,999	0,998	0,997	0,3165
3	0,999	0,998	0,997	0,3114
4	0,999	0,998	0,997	0,3101
5	0,999	0,998	0,997	0,3109
6	0,999	0,998	0,997	0,3131
7	0,999	0,998	0,997	0,3145
8	0,999	0,997	0,997	0,3139
9	0,999	0,997	0,997	0,3181

En los modelos están incluidas las siguientes variables

1 : constante, 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_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

2 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

3 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

4 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

5 : constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

6 : constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:3}

7: constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:3}

8: constante, C_{4:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:3}

9: constante, C_{4:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:3}

Tabla IV.39 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por backward

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1248,539	16	78,034	749,269	1,9*10 ⁻²⁹
	Residual	2,604	25	0,104		
	Total	1251,143	41			
2	Regresión	1248,538	15	83,236	830,694	6,3*10 ⁻³¹
	Residual	2,605	26	0,100		
	Total	1251,143	41			
3	Regresión	1248,525	14	89,180	919,758	2,2*10 ⁻³²
	Residual	2,618	27	0,097		
	Total	1251,143	41			
4	Regresión	1248,450	13	96,035	998,700	9,7*10 ⁻³⁴
	Residual	2,692	28	0,096		
	Total	1251,143	41			
5	Regresión	1248,340	12	104,028	1076,225	5,1*10 ⁻³⁵
	Residual	2,803	29	0,097		
	Total	1251,143	41			
6	Regresión	1248,201	11	113,473	1157,238	2,9*10 ⁻³⁶
	Residual	2,942	30	0,098		
	Total	1251,143	41			
7	Regresión	1248,077	10	124,808	1261,93	1,5*10 ⁻³⁷
	Residual	3,066	31	0,099		
	Total	1251,143	41			
8	Regresión	1247,990	9	138,666	1407,450	5,8*10 ⁻³⁹
	Residual	3,153	32	0,098		
	Total	1251,143	41			
9	Regresión	1247,803	8	155,975	1541,138	3,6*10 ⁻⁴⁰
	Residual	3,340	33	0,101		
	Total	1251,143	41			

Se seleccionó el modelo nº4 de 13 variables independientes, que explicó el 99,7 % de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado 0,997) y que presentó el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se observan a continuación en la Tabla IV.40.

Tabla IV.40 Modelo de 13 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	91,51		0,000				
C _{4:0}	-1,42	-0,09	0,001	-0,62	-0,57	-0,03	7,22
C _{6:0}	-2,10	-0,07	0,203	-0,72	-0,24	-0,01	42,44
C _{8:0}	5,10	0,11	0,209	-0,63	0,24	0,01	100,75
C _{10:0}	-3,64	-0,23	0,024	-0,52	-0,41	-0,02	122,11
C _{10:1}	5,31	0,03	0,292	-0,45	0,20	0,01	13,99
C _{12:0}	-1,22	-0,10	0,122	-0,47	-0,29	-0,01	51,58
C _{14:0}	-1,26	-0,20	0,000	-0,73	-0,71	-0,05	19,69
C _{16:0}	-0,97	-0,15	0,000	-0,80	-0,81	-0,06	5,85
C _{16:1}	-1,14	-0,02	0,230	-0,57	-0,23	-0,01	4,57
C _{18:0}	-1,24	-0,15	0,000	-0,37	-0,70	-0,05	10,15
C _{18:1}	-1,01	-0,27	0,000	-0,18	-0,87	-0,08	11,21
C _{18:2}	0,92	0,49	0,000	0,98	0,93	0,12	17,12
C _{18:3}	-1,46	-0,09	0,000	0,69	-0,68	-0,04	3,94

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y las variables C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:1}, C_{12:0} y C_{16:1} presentaron coeficientes no significativos.

La multicolinealidad fue elevada ya que C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0} y C_{12:0} presentaron altos valores de VIF y las correlaciones de Pearson (Anexo II) de las mismas fueron muy altas. Con respecto a los valores de las correlaciones semiparciales, las variables C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:1}, C_{12:0} y C_{16:1} exhibieron una escasa contribución.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\begin{aligned} \% A = & 91,51 - 1,42 C_{4:0} - 2,10 C_{6:0} + 5,10 C_{8:0} - 3,64 C_{10:0} + 5,31 C_{10:1} - 1,22 C_{12:0} \\ & - 1,26 C_{14:0} - 0,97 C_{16:0} - 1,14 C_{16:1} - 1,24 C_{18:0} - 1,01 C_{18:1} + 0,92 C_{18:2} - 1,46 \\ & C_{18:3}. \end{aligned}$$

Con la aplicación del *stepwise* se obtuvieron 8 modelos, cuyos parámetros y el análisis de la varianza de los mismos se muestran en las Tabla IV.41 y IV. 42.

Tabla IV. 41 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar aceite de soja

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,983	0,966	0,965	1,0322
2	0,987	0,974	0,973	0,9052
3	0,990	0,980	0,978	0,8151
4	0,994	0,988	0,986	0,6485
5	0,996	0,991	0,990	0,5532
6	0,996	0,993	0,992	0,5047
7	0,997	0,994	0,993	0,4759
8	0,997	0,995	0,993	0,4515

En los modelos están incluidas las siguientes variables

- 1 : constante, C_{18:2}
- 2 : constante, C_{6:0}, C_{18:2}
- 3 : constante, C_{6:0}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 4 : constante, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 5 : constante, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 6 : constante, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 7 : constante, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:2}
- 8 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{18:1}, C_{18:2}

Tabla IV. 42 Análisis de la varianza de los modelos obtenidos por stepwise

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1208,529	1	1208,529	1134,414	1,9*10 ⁻²⁹
	Residual	42,613	40	1,065		
	Total	1251,143	41			
2	Regresión	1219,188	2	609,594	743,985	6,3*10 ⁻³¹
	Residual	31,955	39	0,819		
	Total	1251,143	41			
3	Regresión	1225,894	3	408,631	615,007	2,2*10 ⁻³²
	Residual	25,248	38	0,664		
	Total	1251,143	41			
4	Regresión	1235,583	4	308,896	734,545	9,7*10 ⁻³⁴
	Residual	15,559	37	0,421		
	Total	1251,143	41			
5	Regresión	1240,127	5	248,025	810,555	5,1*10 ⁻³⁵
	Residual	11,016	36	0,306		
	Total	1251,143	41			
6	Regresión	1242,229	6	207,038	812,885	2,9*10 ⁻³⁶
	Residual	8,914	35	0,255		
	Total	1251,143	41			
7	Regresión	1243,443	7	177,635	784,378	1,5*10 ⁻³⁷
	Residual	7,700	34	0,226		
	Total	1251,143	41			
8	Regresión	1244,415	8	155,552	762,924	3,6*10 ⁻⁴⁰
	Residual	6,728	33	0,204		
	Total	1251,143	41			

Se seleccionó el modelo nº 8 de 8 variables independientes, que explicó el 99% de la varianza de la variable dependiente y presentó el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se observan en la Tabla IV. 43.

Tabla IV.43 Modelo de 8 variables obtenido por stepwise

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	76,88		0,000				
C _{4:0}	-1,08	-0,06	0,036	-0,62	-0,36	-0,03	5,45
C _{6:0}	-3,86	-0,14	0,022	-0,72	-0,39	-0,03	19,86
C _{10:0}	-6,91	-0,44	0,000	-0,52	-0,85	-0,12	14,06
C _{10:1}	24,19	0,16	0,000	-0,45	0,64	0,06	7,03
C _{15:0}	-1,99	-0,05	0,008	-0,59	-0,44	-0,04	2,10
C _{16:0}	-0,87	-0,14	0,000	-0,80	-0,62	-0,06	5,71
C _{18:1}	-1,29	-0,34	0,000	-0,18	-0,86	-0,12	7,28
C _{18:2}	0,96	0,51	0,000	0,98	0,89	0,14	12,99

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y todas las variables presentaron coeficientes significativos. Además la multicolinealidad fue moderada, debido a que las variables C_{6:0}, C_{10:0} y C_{18:2} tuvieron valores de VIF ligeramente mayores a 10. Además para C_{6:0} y C_{10:0} la correlación de Pearson fue elevada.

Las variables C_{4:0}, C_{6:0}, C_{10:1}, C_{15:0} y C_{16:0} exhibieron escasa contribución reflejada en los valores de sus correlaciones semiparciales.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 76,88 - 1,08 C_{4:0} - 3,86 C_{6:0} - 6,91 C_{10:0} + 24,19 C_{10:1} - 1,99 C_{15:0} - 0,87 C_{16:0} - 1,29 C_{18:1} + 0,96 C_{18:2}$$

Con el *Best subset regression models* (Apéndice II), se encontró que el mejor modelo combinó 8 variables, el que también fue propuesto por el método *backward* (modelo nº 9 de Tablas IV.38 y IV.39).

El modelo explicó el 99,7 % de la varianza de la variable dependiente con un R^2 ajustado de 0,997 y presentó un C_p de 8,1 menor al P de 9, con un S^2 menor que el anterior y una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se observan en la Tabla IV.44.

Tabla IV.44 Modelo de 8 variables obtenido por best subset regression models

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero (Pearson)	parcial	semiparcial	
constante	89,75		0,000				
C _{4:0}	-1,60	-0,10	0,000	-0,62	-0,80	-0,07	1,99
C _{10:0}	-3,50	-0,22	0,000	-0,52	-0,83	-0,08	8,52
C _{14:0}	-1,39	-0,23	0,000	-0,73	-0,76	-0,06	14,11
C _{16:0}	-0,92	-0,15	0,000	-0,80	-0,81	-0,07	4,30
C _{18:0}	-1,26	-0,15	0,000	-0,37	-0,80	-0,07	4,57
C _{18:1}	-1,01	-0,27	0,000	-0,18	-0,88	-0,10	7,32
C _{18:2}	0,96	0,51	0,000	0,98	0,94	0,14	12,70
C _{18:3}	-1,56	-0,09	0,000	0,69	-0,71	-0,05	3,01

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. Las variables C_{14:0} y C_{18:2} presentaron valores de VIF ligeramente superiores a 10 y una correlación de Pearson (Apéndice II) poco elevada, por lo que se concluyó que este modelo presentó multicolinealidad reducida.

Por lo expuesto este modelo se seleccionó para detectar adulteraciones con aceite de soja.

El modelo seleccionado para predecir la adulteración de grasa láctea con aceite de soja fue el siguiente:

$$\% A = 89,75 - 1,60 C_{4:0} - 3,50 C_{10:0} - 1,39 C_{14:0} - 0,92 C_{16:0} - 1,26 C_{18:0} - 1,01 C_{18:1} + 0,96 C_{18:2} - 1,56 C_{18:3}$$

b.2 Validación del modelo de RLM

Con la validación cruzada se obtuvo un $RMSE_{CV}$ de 0,34% y con la validación externa se obtuvo un $RMSEP$ de 0,35%.

Para cada una de las muestras de la matriz de predicción se calculó el porcentaje de adulteración predicho y el error estándar de la predicción. En la Tabla IV.45 se presentan a modo de ejemplo los valores obtenidos para 4 muestras de cada nivel.

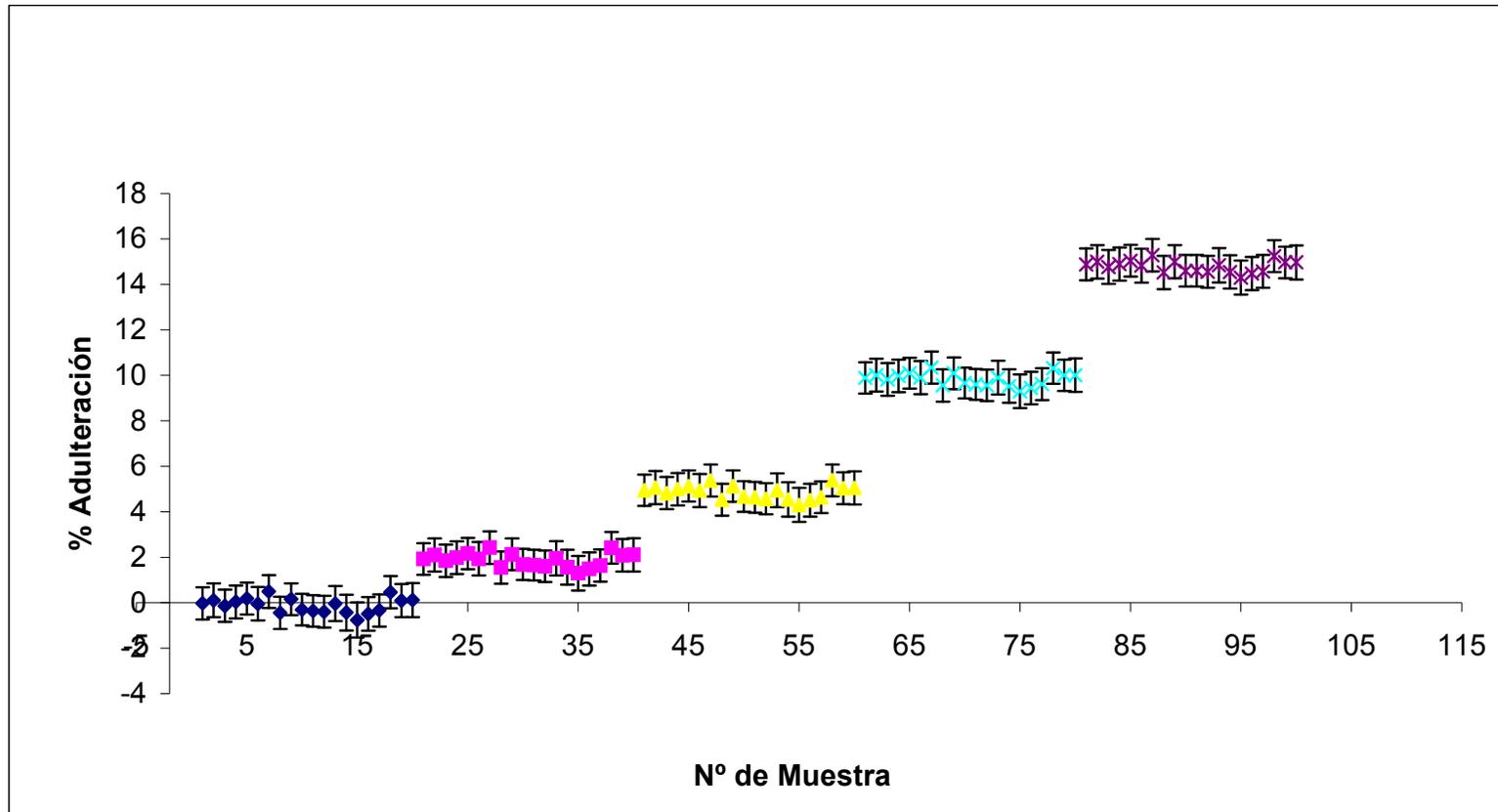
Tabla IV.45 Resultados obtenidos para la validación externa

Valor teórico (%A)	Valor predicho (%A)	Error estándar pred.
0,00	-0,13	0,35
0,00	0,49	0,36
0,00	-0,43	0,38
0,00	0,46	0,35
2,00	2,02	0,35
2,00	1,73	0,34
2,00	1,66	0,33
2,00	1,64	0,35
5,00	5,35	0,36
5,00	5,44	0,38
5,00	4,16	0,37
5,00	5,05	0,36
10,00	10,14	0,35
10,00	9,69	0,34
10,00	9,56	0,34
10,00	9,90	0,36
15,00	15,25	0,34
15,00	15,03	0,35
15,00	15,00	0,36
15,00	14,48	0,36

Se calcularon y graficaron los intervalos de predicción para cada una de las muestras de la matriz de predicción (Figura IV.21).

Se analizó para cada grupo de muestras si dichos intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico y se calculó el porcentaje de muestras adulteradas detectadas.

Figura IV.21 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de aceite de soja



(♦) muestras genuinas (0% de adulteración), (♦) muestras adulteradas al 2%, (▲) muestras adulteradas al 5%, (♦) muestras adulteradas al 10%, (♦) muestras adulteradas al 15%.

En la figura se observa que todos los intervalos de predicción de las muestras genuinas comprendieron el nivel teórico del 0% de adulteración. Para las muestras adulteradas con el 2, 5, 10 y 15%, todos los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico correspondiente y como no comprendieron el nivel del 0%, en todos los niveles fue posible detectar la adulteración en el 100% de las muestras.

Con la aplicación de la RLM se detectó el 100% de las muestras adulteradas con niveles de adulteración iguales o mayores al 2%.

IV.3.5.c Detección de grasa de coco

c.1 Obtención del modelo de regresión

Del análisis de la matriz de correlaciones (Apéndice II) se observó que la variable independiente que mejor correlacionó con la dependiente fue $C_{12:0}$.

Cuando se aplicó la RLS se obtuvo un R^2 de 0,965. Sin embargo para incrementar el porcentaje de varianza explicada se utilizó la RLM.

Con la aplicación del método *backward* se obtuvieron 10 modelos. Los parámetros y el análisis de la varianza de cada uno de ellos se muestran en las Tablas IV.46 y IV.47.

Tabla IV.46 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método backward para detectar grasa de coco

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	1,000	1,000	0,999	0,1533
2	1,000	1,000	0,999	0,1505
3	1,000	1,000	0,999	0,1479
4	1,000	0,999	0,999	0,1491
5	1,000	0,999	0,999	0,1496
6	1,000	0,999	0,999	0,1534
7	1,000	0,999	0,999	0,1533
8	1,000	0,999	0,999	0,1550
9	1,000	0,999	0,999	0,1554
10	1,000	0,999	0,999	0,1589

En los modelos están incluidas las siguientes variables

1 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{15:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

2 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2}, C_{18:3} y C_{18:2 conj}

3 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1}, C_{18:2} y C_{18:2 conj}

4 : constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0}, C_{18:1} y C_{18:2}

5: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{14:1}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0} y C_{18:1}

6: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{10:1}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0} y C_{18:1}

7: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{16:1}, C_{18:0} y C_{18:1}

8: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0} y C_{18:1}

9: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{14:0}, C_{16:0} y C_{18:1}

10: constante, C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{16:0} y C_{18:1}

Tabla IV.47 Análisis de la varianza de los modelos de regresión obtenidos por backward

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1250,532	15	83,369	3547,285	4,2*10 ⁻³⁹
	Residual	0,611	26	0,0235		
	Total	1251,143	41			
2	Regresión	1250,531	14	89,324	3944,746	6,5*10 ⁻⁴¹
	Residual	0,611	27	0,0226		
	Total	1251,143	41			
3	Regresión	1250,530	13	96,195	4396,430	9,8*10 ⁻⁴³
	Residual	0,613	28	0,0219		
	Total	1251,143	41			
4	Regresión	1250,498	12	104,208	4685,701	2,8*10 ⁻⁴⁴
	Residual	0,645	29	0,0222		
	Total	1251,143	41			
5	Regresión	1250,471	11	113,679	5079,137	6,9*10 ⁻⁴⁶
	Residual	0,671	30	0,0224		
	Total	1251,143	41			
6	Regresión	1250,413	10	125,041	5314,487	3,2*10 ⁻⁴⁷
	Residual	0,729	31	0,0235		
	Total	1251,143	41			
7	Regresión	1250,391	9	138,932	5909,476	6,5*10 ⁻⁴⁹
	Residual	0,752	32	0,0235		
	Total	1251,143	41			
8	Regresión	1250,350	8	156,294	6504,373	1,8*10 ⁻⁵⁰
	Residual	0,793	33	0,0240		
	Total	1251,143	41			
9	Regresión	1250,322	7	178,617	7395,039	3,6*10 ⁻⁵²
	Residual	0,821	34	0,0241		
	Total	1251,143	41			
10	Regresión	1250,259	6	208,377	8254,284	1,3*10 ⁻⁵³
	Residual	0,884	35	0,0252		
	Total	1251,143	41			

Se escogió el modelo nº3 con 13 variables independientes, que explicó el 99,9% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado de 0,999) y que presentó el menor S^2 , con una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se muestran en la Tabla IV.48.

Tabla IV.48 Modelo de 13 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	38,47		0,001				
C _{4:0}	-0,54	-0,03	0,005	-0,45	-0,50	-0,01	7,22
C _{6:0}	-2,34	-0,08	0,000	-0,70	-0,71	-0,02	11,60
C _{8:0}	11,88	0,94	0,000	0,98	0,97	0,09	99,96
C _{10:0}	-3,82	-0,25	0,000	0,55	-0,86	-0,04	44,85
C _{10:1}	-5,73	-0,04	0,056	-0,62	-0,35	-0,01	23,69
C _{14:0}	-0,70	-0,09	0,008	0,43	-0,47	-0,01	57,55
C _{14:1}	1,96	0,04	0,105	-0,67	0,30	0,01	26,99
C _{16:0}	-0,42	-0,07	0,003	-0,85	-0,52	-0,01	30,13
C _{16:1}	-0,83	-0,02	0,059	-0,63	-0,35	-0,01	5,16
C _{18:0}	-0,36	-0,04	0,024	-0,45	-0,41	-0,01	20,09
C _{18:1}	-0,48	-0,15	0,000	-0,61	-0,63	-0,02	74,97
C _{18:2}	-0,44	-0,01	0,115	-0,10	-0,29	-0,01	4,01
C _{18:2conj.}	-0,23	-0,01	0,234	-0,26	-0,22	-0,00	4,95

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y las variables C_{14:1}, C_{18:2} y C_{18:2 conj.}, presentaron coeficientes no significativos. Se encontró una elevada multicolinealidad debido a que 9 de sus 13 variables presentaron valores elevados de VIF. Además las correlaciones de Pearson (Apéndice II) para estas variables fueron elevadas y presentaron una escasa contribución reflejada en los valores de las correlaciones semiparciales.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 38,47 - 0,54 C_{4:0} - 2,34 C_{6:0} + 11,88 C_{8:0} - 3,82 C_{10:0} - 5,73 C_{10:1} - 0,70 C_{14:0} + 1,96 C_{14:1} - 0,42 C_{16:0} - 0,83 C_{16:1} - 0,36 C_{18:0} - 0,48 C_{18:1} - 0,44 C_{18:2} - 0,23 C_{18:2 \text{ conj}}$$

Se analizó otro modelo del método *backward* compuesto por 6 variables, que explicó el 99,9 % de la varianza de la variable dependiente, con un S^2 pequeño y una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo se pueden observar en la Tabla IV.49.

Tabla IV.49 Modelo de 6 variables obtenido por backward

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	14,68		0,000				
C _{4:0}	-0,26	-0,02	0,053	-0,45	-0,32	-0,01	3,27
C _{6:0}	-2,66	-0,09	0,000	-0,70	-0,76	-0,03	7,60
C _{8:0}	12,94	1,02	0,000	0,98	0,99	0,21	24,20
C _{10:0}	-4,19	-0,28	0,000	0,55	-0,95	-0,08	10,66
C _{16:0}	-0,22	-0,04	0,001	-0,85	-0,53	-0,02	5,73
C _{18:1}	-0,27	-0,09	0,000	-0,61	-0,59	-0,02	20,34

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. Las variables C_{8:0} y C_{18:1} con valores de VIF superiores a 10 indicaron una multicolinealidad moderada y la correlación de Pearson para estas variables fue

elevada, por lo que se debería considerar la eliminación de una de ellas del modelo. Las variables $C_{4:0}$, $C_{16:0}$ y $C_{18:1}$ presentaron pequeños valores de correlaciones semiparciales indicando una escasa contribución.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = 14,68 - 0,26 C_{4:0} - 2,66 C_{6:0} + 12,94 C_{8:0} - 4,19 C_{10:0} - 0,22 C_{16:0} - 0,27 C_{18:1}.$$

También se aplicó el método *stepwise* con el que se obtuvieron 5 modelos.

Los parámetros obtenidos y el análisis de la varianza de los mismos se muestran en las Tablas IV.50 y IV.51.

Tabla IV. 50 Parámetros estadísticos para los modelos obtenidos por el método stepwise para detectar grasa de coco

Modelo	R	R ²	R ² ajustado	S
1	0,982	0,965	0,964	1,0457
2	0,996	0,991	0,991	0,5224
3	0,999	0,998	0,998	0,2272
4	1,000	0,999	0,999	0,1495
5	1,000	0,999	0,999	0,1377

En los modelos están incluidas las siguientes variables

- 1 : constante, $C_{12:0}$
- 2 : constante, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$
- 3 : constante, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$
- 4 : constante, $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$
- 5: constante, $C_{6:0}$, $C_{8:0}$, $C_{10:0}$, $C_{12:0}$ y $C_{18:3}$

Tabla IV.51 Análisis de la varianza de los modelos de regresión obtenidos por stepwise

	Modelo	SS	gl	MS	F	p
1	Regresión	1207,402	1	1207,402	1104,134	$8,3 \cdot 10^{-17}$
	Residual	43,741	40	1,094		
	Total	1251,143	41			
2	Regresión	1240,499	2	620,249	2272,569	0,000
	Residual	10,644	39	0,273		
	Total	1251,143	41			
3	Regresión	1249,181	3	416,394	8065,368	$2,5 \cdot 10^{-53}$
	Residual	1,962	38	0,052		
	Total	1251,143	41			
4	Regresión	1250,316	4	312,579	13990,057	$2,7 \cdot 10^{-58}$
	Residual	0,827	37	0,022		
	Total	1251,143	41			
5	Regresión	1250,460	5	250,092	13193,907	$1,1 \cdot 10^{-57}$
	Residual	0,682	36	0,019		
	Total	1251,143	41			

Se seleccionó el modelo nº 5 con 5 variables independientes que presentó el menor S^2 y que explicó el 99,9% de la varianza de la variable dependiente, con una regresión lineal significativa. Los parámetros del mismo se observan a continuación en la Tabla IV.52.

Tabla IV.52 Modelo de 5 variables obtenido por stepwise

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-1,88		0,000				
C _{6:0}	-1,87	-0,06	0,000	-0,70	-0,80	-0,03	3,70
C _{8:0}	11,27	0,89	0,000	0,98	0,97	0,09	105,13
C _{10:0}	-3,62	-0,24	0,000	0,55	-0,98	-0,11	4,47
C _{12:0}	0,57	0,23	0,000	0,98	0,69	0,02	107,20
C _{18:3}	0,29	0,01	0,009	-0,40	0,42	0,01	1,32

Los coeficientes estandarizados fueron menores a 2 y significativos. Se encontró elevada multicolinealidad ya que para C_{12:0} y C_{8:0} los valores de VIF fueron muy altos y la correlación de Pearson para estas variables también fueron muy elevadas, por lo que se debería eliminar del modelo una de las variables. Como la contribución de C_{12:0} y la de C_{18:3} fue escasa se las deberían eliminar del modelo.

El modelo obtenido fue el siguiente:

$$\% A = -1,88 - 1,87 C_{6:0} + 11,27 C_{8:0} - 3,62 C_{10:0} + 0,57 C_{12:0} + 0,29 C_{18:3}$$

Se diseñó un modelo basándonos en el anterior al cual se le eliminó las variables $C_{12:0}$ y $C_{18:3}$. En los resultados del *best subset regression models* (Apéndice II) se encontró en primer lugar este modelo de 3 variables.

El mismo explicó el 99,9% de la varianza de la variable dependiente (R^2 ajustado de 0,999), presentó un $C_p > P$ y un S^2 de 0,04 con una regresión lineal significativa.

Los parámetros del modelo de 3 variables se observan en la Tabla IV.53.

Tabla IV.53 Modelo de 3 variables obtenido por best subset regression models

Modelo	B	β	p	Correlaciones			VIF
				Orden cero	parcial	semiparcial	
constante	-2,28		0,000				
$C_{6:0}$	-2,20	-0,07	0,000	-0,70	-0,77	-0,04	3,14
$C_{8:0}$	14,02	1,11	0,000	0,98	0,99	0,44	6,46
$C_{10:0}$	-3,60	-0,24	0,000	0,55	-0,96	-0,11	4,45

Para este modelo todas las variables presentaron coeficientes estandarizados menores a 2 y significativos. No presentó problemas de multicolinealidad ya que los valores de VIF para todas las variables fueron menores a 10, por lo que el mismo fue seleccionado para detectar la adulteración de la grasa láctea con grasa de coco.

El modelo seleccionado para predecir la adulteración de grasa láctea con grasa de coco fue el siguiente:

$$\% A = -2,28 - 2,20 C_{6:0} + 14,02 C_{8:0} - 3,60 C_{10:0}$$

c.2 Validación del modelo de RLM

Con la validación cruzada se obtuvo un $RMSE_{CV}$ de 0,20% y con la validación externa se obtuvo un $RMSEP$ de 0,13%.

Se calculó para cada una de las muestras de la matriz de predicción el porcentaje de adulteración predicho y el error estándar de la predicción.

A modo de ejemplo se muestran en la Tabla IV.54 los valores obtenidos para 4 muestras de cada nivel.

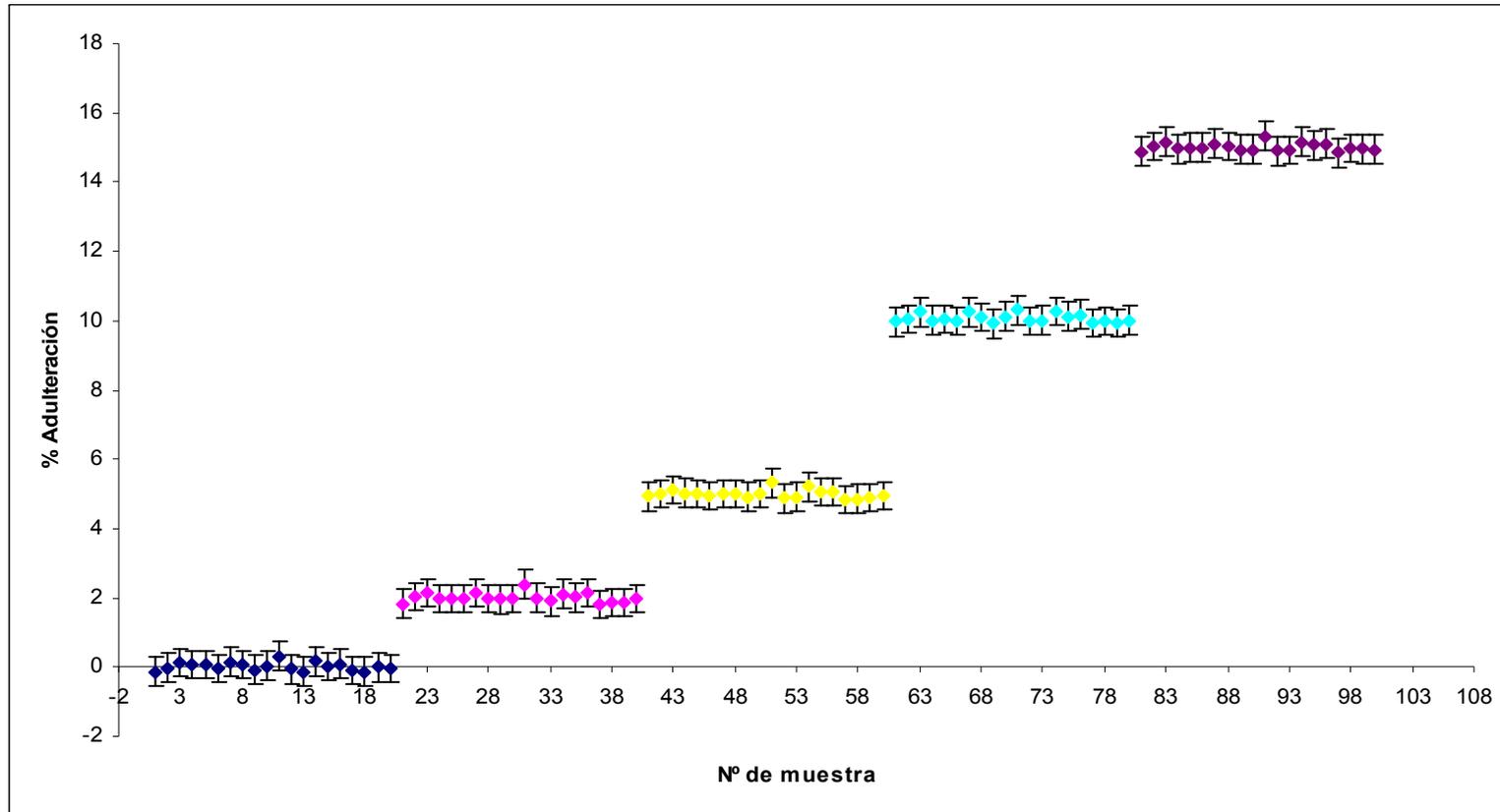
Tabla IV.54 Resultados obtenidos para la validación externa

Valor teórico (%A)	Valor predicho (%A)	Error estándar pred.
0,00	-0,01	0,20
0,00	0,07	0,20
0,00	0,08	0,20
0,00	0,08	0,20
2,00	2,14	0,20
2,00	1,98	0,20
2,00	1,90	0,20
2,00	1,87	0,20
5,00	4,90	0,20
5,00	5,09	0,20
5,00	4,93	0,21
5,00	5,07	0,20
10,00	10,11	0,20
10,00	9,78	0,20
10,00	10,12	0,20
10,00	10,01	0,20
15,00	14,83	0,21
15,00	14,86	0,20
15,00	15,33	0,21
15,00	15,17	0,20

De igual manera que en los otros adulterantes, se calcularon y graficaron los intervalos de predicción que se muestran en la Figura IV.22.

Se analizó para cada grupo de muestras si los intervalos comprendieron el nivel de adulteración teórico y se calculó el porcentaje de muestras adulteradas detectadas.

Figura IV.22 Intervalos de predicción para la matriz de predicción de grasa de coco



(♦) muestras genuinas (0% de adulteración), (♦) muestras adulteradas al 2%, (♦) muestras adulteradas al 5%, (♦) muestras adulteradas al 10%, (♦) muestras adulteradas al 15%.

En la figura se observa que todos los intervalos de predicción de las muestras genuinas comprendieron el nivel del 0% de adulteración.

Para las muestras adulteradas en los niveles del 2, 5, 10 y 15%, todos los intervalos comprendieron únicamente el nivel de adulteración teórico correspondiente, por lo que fue posible detectar la adulteración en estos 4 niveles en el 100% de las muestras.

Con la aplicación de la RLM se detectó el 100% de las muestras adulteradas con niveles de adulteración iguales o mayores al 2%.

En la Tabla IV.55 se resumen los mejores modelos que explicaron un alto porcentaje de la varianza de la variable dependiente con un pequeño error y multicolinealidad reducida, indicándose para cada uno de ellos el R^2 y el error estándar de la predicción (S).

Tabla IV.55 Resumen de los modelos obtenidos para los distintos adulterantes

Adulterantes	Modelos obtenidos aplicando RLM	R²	S
Grasa vacuna	$\% A = 3,83 + 22,77 C_{10:0} - 132,51 C_{10:1} - 6,50 C_{14:0} + 27,45 C_{14:1} + 19,76 C_{16:1}$	0,83	2,41
Grasa porcina	$\% A = -77,68 + 1,27 C_{16:0} + 6,38 C_{16:1} + 0,92 C_{18:1} + 9,51 C_{18:2}$	0,92	1,58
Aceite de girasol	$\% A = -3,03 - 5,32 C_{16:1} - 1,78 C_{18:0} + 1,03 C_{18:1} + 1,31 C_{18:2}$	0,99	0,54
Aceite de soja	$\% A = 89,75 - 1,60 C_{4:0} - 3,50 C_{10:0} - 1,39 C_{14:0} - 0,92 C_{16:0} - 1,26 C_{18:0} - 1,01 C_{18:1} + 0,96 C_{18:2} - 1,56 C_{18:3}$	0,99	0,32
Grasa de coco	$\% A = -2,28 - 2,20 C_{6:0} + 14,02 C_{8:0} - 3,60 C_{10:0}$	0,99	0,19

R²: coeficiente de determinación múltiple; S: error estándar de la predicción

IV.4 Aplicación de los modelos obtenidos a muestras de grasas lácteas incógnitas

Los modelos seleccionados por RLM para predecir adulteraciones con los 5 adulterantes estudiados, se aplicaron a grasas lácteas incógnitas. Los valores de concentración de ácidos grasos obtenidos para estas muestras se presentan en el Apéndice I.

Los porcentajes de adulteración predichos se presentan en la Tabla IV.56, expresándose los mismos de la siguiente manera:

$$\bar{x} \pm 2 \text{ RMSEP (The Unscrambler User manual, 1998)}$$

Donde

\bar{x} : valor medio del porcentaje de adulteración

RMSEP: error promedio obtenido al aplicar la ecuación a la matriz de predicción para cada adulterante.

Tabla IV.56 Resultados obtenidos para las grasas lácteas incógnitas

Muestra Nº	Grasa Vacuna	Grasa Porcina	Aceite de girasol	Aceite de soja	Grasa de coco
	RMSEP = 2,80	RMSEP = 1,77	RMSEP = 0,74	RMSEP = 0,35	RMSEP = 0,13
Manteca 1	4,73 ± 5,60	0,96 ± 3,54	0,35 ± 1,48	0,00 ± 0,70	-0,03 ± 0,26
Manteca 2	-1,42 ± 5,60	2,35 ± 3,54	-0,50 ± 1,48	0,47 ± 0,70	0,68 ± 0,26
Manteca 3	2,97 ± 5,60	-2,30 ± 3,54	-0,34 ± 1,48	0,04 ± 0,70	0,08 ± 0,26
Manteca 4	8,13 ± 5,60	3,28 ± 3,54	1,57 ± 1,48	0,11 ± 0,70	0,45 ± 0,26
Dulce de leche 1	1,08 ± 5,60	1,28 ± 3,54	0,01 ± 1,48	0,98 ± 0,70	0,32 ± 0,26
Dulce de leche 2	12,52 ± 5,60	5,36 ± 3,54	-1,37 ± 1,48	0,79 ± 0,70	-0,16 ± 0,26
Dulce de leche 3	29,77 ± 5,60	42,25 ± 3,54	6,25 ± 1,48	7,44 ± 0,70	-1,03 ± 0,26
Dulce de leche 4	7,81 ± 5,60	0,45 ± 3,54	-0,45 ± 1,48	0,96 ± 0,70	0,31 ± 0,26
Dulce de leche 5	5,52 ± 5,60	1,07 ± 3,54	-0,35 ± 1,48	0,20 ± 0,70	-0,26 ± 0,26
Dulce de leche 6	5,80 ± 5,60	3,57 ± 3,54	-0,52 ± 1,48	0,27 ± 0,70	-0,42 ± 0,26
Leche en polvo 1	-1,36 ± 5,60	-0,66 ± 3,54	0,57 ± 1,48	-0,22 ± 0,70	0,23 ± 0,26
Leche en polvo 2	0,67 ± 5,60	-0,46 ± 3,54	-0,40 ± 1,48	0,06 ± 0,70	0,08 ± 0,26
Leche en polvo 3	0,59 ± 5,60	-0,86 ± 3,54	-0,35 ± 1,48	-0,27 ± 0,70	0,27 ± 0,26

De las grasas analizadas, las provenientes de las mantecas 1, 2 y 3, de los dulces de leche 1, 5 y 6 y de las tres leches en polvo se consideró que no están adulteradas debido a que el nivel del 0% de adulteración quedó comprendido en los intervalos calculados de todas las ecuaciones.

Las muestras de grasas provenientes de la manteca 4 y de los dulces de leche 2, 3 y 4 se consideraron adulteradas debido a que el límite inferior de los intervalos de cada una de ellas está considerablemente por encima del nivel del 0% para alguna de las ecuaciones.

Conclusiones

Para evaluar posibles adulteraciones de la grasa láctea con grasas extrañas se analizaron por cromatografía de gases sus ácidos grasos constituyentes a través de su derivatización a ésteres etílicos.

Con este propósito se emplearon dos metodologías: transesterificación en medio ácido y saponificación seguida de esterificación. Si bien se obtuvieron buenos resultados para las mismas, se seleccionó la transesterificación por ser más simple y rápida.

Se utilizaron muestras de grasas lácteas genuinas procedentes de una importante cuenca lechera de la República Argentina y materias grasas no lácteas de origen animal (grasa vacuna y porcina) y vegetal (aceite de soja, de girasol, y grasa de coco) que fueron usadas como adulterantes. Con los perfiles de ácidos grasos obtenidos, se simuló matemáticamente muestras adulteradas con distintos niveles de adulteración (2, 5, 10 y 15%).

Se evaluaron relaciones de concentración de dos o más ácidos grasos y se aplicaron herramientas estadísticas multivariadas como métodos para detectar adulteraciones.

Las relaciones planteadas en el CAA que se proponen para detectar adulteraciones con grasas de origen animal y las presentadas en bibliografía, no lograron evidenciar bajos niveles de adulteración para grasa vacuna y porcina. Sin embargo, se obtuvieron resultados satisfactorios para las adulteraciones con materias grasas de origen vegetal, ya que se encontraron algunas relaciones que detectaron un bajo porcentaje de adulteración (2%).

Con la Regresión Lineal Múltiple se logró mejorar la detección de adulteraciones de la grasa láctea, fundamentalmente para los adulterantes de origen animal.

Los modelos obtenidos para los cinco adulterantes estudiados en este trabajo, presentaron buenos coeficientes de determinación (R^2) y bajos errores de estimación (S). Para los adulterantes de origen vegetal se obtuvieron R^2 mayores y errores más bajos que para los adulterantes de origen animal ($R^2 = 1$ para soja, girasol y coco, 0,8 para grasa vacuna y 0,9 para grasa porcina, y $S \leq 0,5\%$ para soja, girasol y coco, 2,4% para grasa vacuna y menor a 2% para grasa porcina). Dichos modelos se validaron con muestras adulteradas cuyos porcentajes de adulteración eran conocidos. Para grasa vacuna se logró detectar la totalidad de las muestras adulteradas con niveles mayores o iguales al 10%, para grasa porcina con niveles mayores al 5%, y para las materias grasas vegetales con niveles iguales al 2%.

Por lo expuesto, la detección de grasas animales en grasa láctea presentó mayor dificultad debido a la similitud en sus perfiles de ácidos grasos, fundamentalmente para grasa vacuna, hecho que se evidenció no sólo con las relaciones sino también con la RLM, aunque con esta última herramienta se consiguieron mejores resultados.

Finalmente, los modelos obtenidos se aplicaron a muestras de grasas lácteas incógnitas comerciales provenientes de mantecas, dulces de leche y leches en polvo. De las 13 muestras analizadas se encontraron 4 muestras que se consideraron adulteradas.

Referencias Bibliográficas

Amador-Hernández, J.; Lopez-Martínez, L.; Lopez-De-Alba, P. L.; Caldera, A.; Estela, J. M. y Cerda, V. Determinación simultánea de seis hidrocarburos policíclicos aromaticos en medio micelar por Regresión de Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-1) utilizando espectros de fluorescencia de ángulo variable lineal. Boletín de la Sociedad Chilena de Química (1999) **44** nº3 299 – 313.

Antila. Milk lipids. Milchwisseniscahft (1983) **38** (8).

Associaton of Official Analytical Chemists (AOAC). (1984) Official methods of analysis, 14 th Edition Washington, DC.

Auldish, M; Walsh, B. y Thomson N. Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. Journal of Dairy Research (1998) **65** 401-411.

Barron, L.; Hierro, T. y Santa Maria, G. HPLC and GLC analysis of the triglyceride composition of bovine, ovine and caprine milk fat. Journal of Dairy Research. (1990) **57** 517 – 526.

Christie, W. “ Composition and structure of milk lipids” en Capítulo 1 “Advanced Dairy Chemistry”. Volume 2 Lipids. Fox, P. F. Chapman & Hall, London, 1995.

Christie, W. Equivalent Chain-lengths of methyl ester derivatives of fatty acids on gas chromatography. Journal of Chromatography (1988) **447** 305 – 314.

Christie, W. Lipid Analysis. Isolation, Separation, Identification and structural analysis of lipids. Cap 3 y 4 Pergamon Press. 2nd. Edition 1982

Código Alimentario Argentino Tomo I-a. Capitulo I y VIII. 2008

Coker, C. J.; Crawford, R. A.; Johnston, K. A.; Singh, H. y Creamer, L. K. Towards the classification of cheese variety and maturity on the basis of statistical analysis of proteolysis data – a review. International Dairy Journal (2005) **15** 631-643.

Collomb, M y Spahni, M. Revue des méthodes de dosage des acides gras libres dans le lait et le produit laitiers. Information FAM. Lebensm. Wiss. U. Technologie. (1995) **28**, 355 – 379.

Coni, E.; Di Pasquale, M.; Coppolelli, P. y Bocca, A. Detection of Animal Fats in Butter by Differential Scanning Calorimetry: A Pilot Study. Journal of American Oil Chemistry Society (1994) **71** 807-810.

Contarini, G; Leardi, R.; Pezzi, C. y Toppino, P. M. Valutazione della genuinità del burro mediante analisi di trigliceridi ed acidi grassi. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse Vol LXX (1993) 491 – 499.

Contarini, G. y Battelli, G. Applicazione del metodo ufficiale della UE per la Valutazione della genuinità del grasso di latte: esperienze e suggerimenti. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse Vol LXXIV (1997) 527 – 532.

De la Fuente, M. y Juárez, M. Revisión : Determinación de ácidos grasos libres en productos lácteos. Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos. (1993) **33**, 247 – 269.

Destailats, F.; Wispelaere, M.; Joffre, F.; Golay, P.; Hug, B.; Giuffrida, F.; Fauconnot, L. y Dionisi F. Authenticity of milk fat by fast analysis of triacylglycerols. Application to the detection of partially hydrogenated vegetable oils. Journal of Chromatography A (2006) **1131** 227 – 234.

Duthie, A.; Fox, J.; Cavalier, J. y Wulff, S. Modification of the Vermont Test for Monitoring Fat Adulteration of Dairy Products. Journal of Dairy Science (1988) **71** 1764 – 1768.

Elgersma, A; Ellen, G; van der Horst, H; Boer,H; Dekker, P.R; Tamminga, S. Quick changes in milk fat composition from cows after transition from fresh grass to a silage diet. Animal Feed Science and Technology (2004) **117**13 – 27.

European Union (EU) (2001). Comisión Regulation N° 213/2001. Methods for the análisis and quality evaluation of milk and milk products. Official Journal of the European Communities, L37, 42 – 99.

Food and Drug Administration (FDA), Validation of Chromatographic Methods 1994.

Fontecha, J.; Mayo, I.; Toledano, G. y Juárez, M. Triacylglycerol Composition of Protected Designation of Origin Cheeses During Ripening. Authenticity of Milk Fat. *Journal of Dairy Science* (2006a) **89** N°3 882 – 887.

Fontecha, J.; Mayo, I.; Toledano, G. y Juárez, M. Use of changes in triacylglycerols during ripening of cheeses with high lipolysis levels for detection of milk fat authenticity. *International Dairy Journal* (2006b) **16** 1498 – 1504.

Fox, J.; Duthie, A. y Wulff, S. Precision and Sensitivity of a test for Vegetable Fat Adulteration of Milk Fat. *Journal of Dairy Science* (1988) **71** 574 – 581.

Fox, P. y McSweeney, P. Capítulo 3 Milk Lipids. En *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall, London, 1998.

Hair, J. F.; Anderson, R. E.; Tatham, R. L. y Black W. C. *Análisis Multivariante 5° Edición* Prentice Hall Madrid España 1999.

Heussen, P. C. M.; Janssen, H.; Samwel, I. B. M. y van Duynhoven, J. P.M. The use of multivariate modelling of near infra-red spectra to predict the butter fat content of spreads. *Analytical Chimica Acta* (2007) **595** 176 – 181.

ICH, *Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology – Q2 (R1) 2005*.

International Dairy Federation, *FIL-IDF 182:1999 Preparation of fatty acid methyl esters*.

International Dairy Federation, FIL-IDF 54: 1970. Determinazione del grasso vegetale nel grasso di latte con la cromatografia in fase gassosa degli steroli.

International Organization for Standardization ISO 14156, 1999. Milk and milk products – Extraction methods for lipids and liposoluble compounds.

Iverson, J. y Sheppard, A. Determination of Fatty Acids in Butter Fat Using Temperature – Programmed Gas Chromatography of the Butyl Esters. Food Chemistry (1986) **21** 223 – 234.

Jensen, R. G. Invited Review: The Composition of Bovine Milk Lipids: January 1995 to December 2000. Journal of Dairy Science (2002) **85** 295-350.

Juárez, M. y Martínez - Castro, I. Criterios analíticos para la detección de grasas extrañas en la grasa de leche. Alimentaria. Revista de Tecnología e Higienen de los Alimentos (1980) **109** 61 – 86.

Kramer, J. K.G.; Fellner, V.; Dugan, M. E.R.; Sauer, F. D.; Mossoba, M. M. y Yurawecz, M. P. Evaluation Acid and base catalysis in the methylation of milk and rumen fatty acids with special emphasis on Conjugated Dienes and total *trans* fatty acids. Lipids (1997) **32** n° 11 1219 – 1228.

Ledoux, M.; Chardigny, J.; Darbois, M.; Soustre, Y.; Sebedio, J. y Laloux, L. Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugates linoleic

acid (CLA) isomers. *Journal of Food Composition and Analysis* (2005) **18** 409 – 425.

Lercker, G.; Frega, N.; Bocci, F. y Bertacco, G. Il grasso del latte. L'esame gas cromatografico dei triacilgliceroli nell'accertamento della genuinita del burro. *Scienza e Tecnica Lattiero-Casearia* (1992) **43** 95-110.

Lipp, M. Review of methods for the analysis of triglycerides in milk fat: application for studies of milk quality and adulteration. *Food Chemistry* (1995) **54** 213- 221.

MacGibbon, A. K. H. y Taylor, M. W. "Composition and Structure of Bovine Lipids" Capitulo 1 en *Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids*. Fox, P. y McSeeney, P. 3º Edition, Springer , Estados Unidos, 2006.

Mackle, T.; Petch, S.; Bryant, A.; Auldist, M.; Henderson, H. y MacGibbon, A. Variatiion in the characteristics of milkfat from pasture-fed dairy cows during late spring and the effects of grain supplementation. *New Zealand Journal of Agricultural Research* (1997) **40** 349 – 359.

Mariani, C. Venturini, S. Fedeli, E. y Contarini, G. Detection of Refined Animal and Vegetable Fats in Adulteration of Pure Milkfat. *Journal of the American Oil Chemists` Society* (1994) **71** 1381 – 1384.

Maritano de Correche, M; Oxley, R. y Fernández, A. Composición y variaciones estacionales de leches crudas provenientes de tambos de la cuenca de Lincoln, provincia de Buenos Aires. INTI – CITIL (1985) 4 - 14

Martens, H. y Naes, T. Multivariate Calibration.(1989). John Wiley & Sons.

McNair, H. "Cromatografía de gases" Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos (OEA). Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Washington, 1981.

Molina Hernández, E.; Martín-Álvarez, P. J. y Ramos, M. Analysis of cows` ewes` and goats` milk mixtures by capillary electrophoresis: quantification by multivariate regression analysis. International Dairy Journal (1999) **9** 99-105.

Molina Hernández, E. y Martín-Álvarez, P. J. Comparación de diferentes técnicas de regresión para la predicción de los porcentajes de leche de vaca, oveja y cabra en queso de mezcla. Revista Española de Lechería (1996) 33 – 42.

Molkentin, J. y Precht, D. Equivalence of Packed and Capillary GC Columns for Detection of Foreign Fat in Butter by Use of the Triglyceride Formula Method. Chromatographia (2000) **52** N° 11/12 791 – 797.

Murphy, J., J.; Mc Neill, G. P.; Convolly, J. F. y Gleeson, P. A. Separazione del grasso del latte: Metodo fisico. Journal of Dairy Research (1990) **57**: 295 – 306.

Muuse, B. y Martens, R. Mixtures of milkfat with non-milkfat – Determination of the milkfat content. Bulletin of the IDF (1993) **285** 65-69.

Páez, R.; Cuatrin, A.; Taverna, M.; Moretto, M. y Campos, S. Estudio de la composición de ácidos grasos en leche cruda de diferentes tambos de la Argentina. 9° Congreso Panamericano de Leite. Porto Alegre Brasil 20 – 23 de Junio de 2006.

Palmquist, D. L. “Milk Fat: Origin of Fatty Acids and Influence of Nutritional Factors Thereon”. Capítulo 2 en Advanced Dairy Chemistry Volume 2 Lipids.. Fox, P. y McSeeney, P 3° Edition Springer. Estados Unidos, 2006.

Palmquist, D. L. Milk Fat – It’ Good for You!. Research and Reviews. (2001). 21-26.

Perotti, M. C. “Influencia del reemplazo de suero fermento natural por cepas seleccionadas, sobre el proceso de lipólisis de quesos duros típicos argentinos”. Tesis de Doctorado en Química. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, 2003.

Pinto, M.; Brito, C.; Yáñez, C.; Casadini, V.; Molina, C.; Israel, A.; Vega, S.; Saltijeral, J.; Pérez, N.; González, M. y Esquivel, A. Avances en la analítica de la leche y los productos lácteos. Tecnología Láctea Latinoamericana (1996) **6** 35 – 48.

Pinto, M.; Rubilar, A.; Carrasco, E.; Ah-Hen, K.; Brito C. y Molina L. Efecto Estacional y del área Geográfica en la composición de ácidos grasos en la leche de bovinos. *Agro Sur* (2002a) **30** n° 2 75 – 90.

Pinto, M. Contreras, M.; Carrasco, E.; Brito C.; Molina, L.; Ah-Hen, K. y Vega y León S. Determinación de la autenticidad de grasas lácteas. Análisis Discriminante Lineal de Triacilglicéridos. *Agro Sur* (2002b) **30** n° 1 59 – 67.

Povolo, M.; Bonfitto, E.; Contarini, G.; Toppino, P. y Daghetta, A. Study on the Performance of Three Different Capillary Gas Chromatographic Analices in the Evaluation of Milk Fat Purity. *Journal of High Resolution Chromatographic* (1999) **22** (2) 97 – 102.

Precht, D. Detection of foreign fat in milk fat. I. Qualitative detection by triacylglycerol formulae. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* (1992a) **194**: 1 - 8.

Precht, D. Detection of foreign fat in milk fat. II. Quantitative evaluation of foreing fat mixtures. *Z. Lebensm. Unters. Forsch* (1992b) **194**: 107 - 114.

Prupp, A. H.; Stepaniak, L. y Sorhaug, T. Chemometrical analysis of proteolytic profiles during cheese ripening. *International Dairy Journal* (2000) **10** 249 – 253.

Ragno, G.; Ioele, G. y Risoli, A. Multivariate calibration techniques applied to the spectrophotometric analysis of one-to-four component systems. *Analytica Chimica Acta* (2004) **512** 173-180.

Rodríguez-Nogales, J. M. Approach to the quantification of mixtures by partial least-squares, principal component and multiple linear regression techniques. Food Chemistry (2006) **98** 782-789.

Rodríguez-Nogales, J. M y Vázquez, F. Application of electrophoretic and chemometric análisis to predict the bovine, ovine and caprine milk percentages in Panela cheese, an unripened cheese. Food Control (2007) **18** 580 – 586.

Sharaf, M.; Illman, D. y Kowalski, B. Chemometrics. Wiley – Interscience publication, John Wiley & Sons, New York, 1986

Soliman, M. y Younes, N. Adulterated Butterfat: Fatty Acid Composition of Triglycerides and 2-Monoglycerides. Journal of the American Oil Chemists' Society (1986) **63** 248 –250.

Statistix 7 User's manual Analytical software Tallahassee FL. 2000.

The Unscrambler User manual CAMO ASA 1998

Thomas, Edward V. A Primer on Multivariate Calibration. Analytical Chemistry (1994) **65** N° 15 795A – 804A.

Timms, R. E. Detection and quantification of non-milk fat in mixtures of milk and non-milk fats Journal of Dairy Research (1980) **47** 295-303.

Toppino, P. M; Contarini, G.; Traversi, A. L.; Amelotti, G. y Gargano, A. Parametri gas cromatografici di valutazione della genuinità del burro. La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse (1982) vol LIX 591 – 610.

Ulberth, F. Testing the authenticity of milk and milk products. Capítulo 10 en Dairy processing Improving quality. Edited by Genit Smit CRC. Woodhead Publishing Limited. (2000) 209 – 226

Ulberth, F. Quantitation of Foreign Fat/Milkfat Mixtures by Multivariate Regression Analysis of Fatty Acid Data. Journal Agricultural Food Chemistry (1995) **43** 1556 – 1560.

Ulberth, F. Detection of Milk Fat Adulteration by Linear Discriminant Analysis of Fatty Acid Data. Journal of AOAC International (1994) **77** N°5 1326 – 1334.

Walpole, R. y Myers, R. Probabilidad y Estadística McGraw – Hill, cuarta edición, México, 1992

Willard, H.; Merrit, L.; Dean, J. y Settle, F. Cromatografía de gases. Capítulo 18 en “Métodos Instrumentales de Análisis”. Grupo Editorial Iberoamérica, México, 1992.

Apéndice I

Figura A.I.1 Gráfico de dispersión

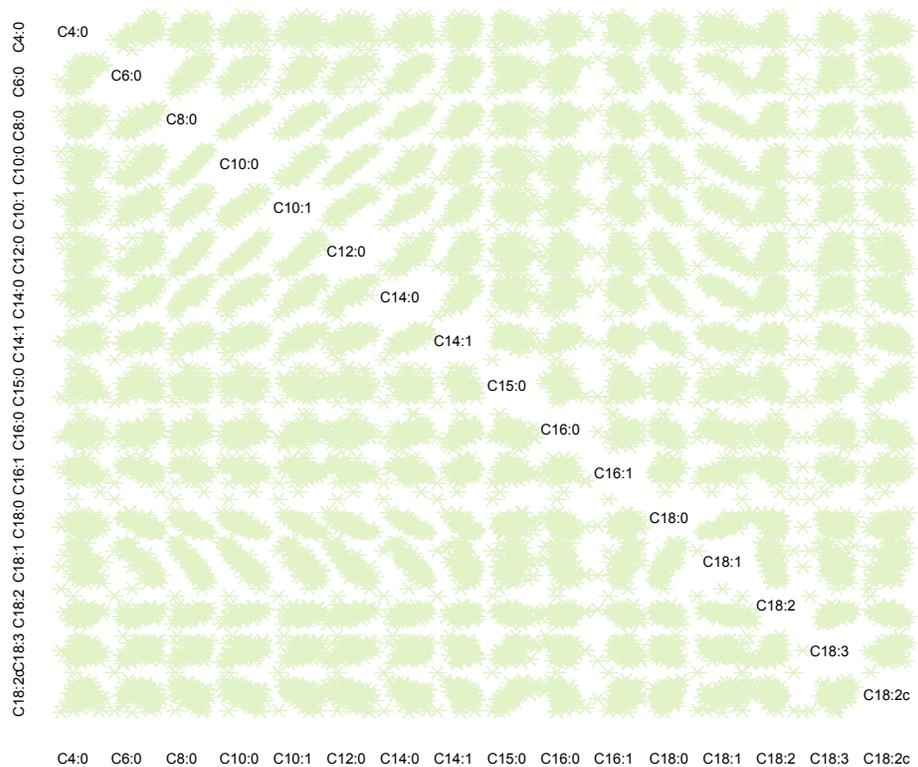


Tabla A.I.1 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas lácteas

Ácidos Grasos Grasa láctea	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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
	Muestra 1	3,23	1,86	0,94	1,93	0,24	2,44	9,10	0,78	1,39	23,62	1,31	11,50	28,87	1,58	0,78
Muestra 2	3,66	2,00	0,98	2,01	0,25	2,51	9,77	0,84	1,43	24,31	1,26	10,97	27,22	1,41	0,79	1,50
Muestra 3	3,16	2,12	1,09	2,32	0,29	2,89	10,05	0,80	1,63	24,52	1,15	10,88	25,62	1,47	1,22	1,80
Muestra 4	3,17	1,98	1,03	2,13	0,28	2,68	10,08	0,87	1,41	24,34	1,28	11,09	26,88	1,34	0,76	1,68
Muestra 5	3,87	2,22	1,15	2,50	0,31	3,16	10,65	0,91	1,23	23,94	1,22	10,54	24,93	1,81	0,79	1,24
Muestra 6	3,47	2,18	1,17	2,57	0,31	3,24	10,27	0,83	1,42	23,47	1,17	10,42	25,72	1,80	1,18	1,60
Muestra 7	3,71	2,27	1,22	2,71	0,35	3,46	10,79	1,01	1,23	24,02	1,23	9,98	25,02	1,59	0,72	1,24
Muestra 8	3,83	2,23	1,16	2,50	0,32	3,13	10,68	1,00	1,16	23,91	1,22	10,24	25,32	1,85	0,67	1,30
Muestra 9	3,93	2,14	1,04	2,12	0,28	2,72	10,40	0,98	1,26	24,60	1,27	10,19	25,98	1,56	0,78	1,54
Muestra 10	3,43	2,01	1,03	2,15	0,29	2,77	9,58	0,85	1,48	24,39	1,24	10,92	27,12	1,32	0,70	1,64
Muestra 11	3,40	2,05	1,08	2,33	0,30	3,00	9,84	0,85	1,60	24,06	1,19	11,23	26,32	1,37	0,68	1,46
Muestra 12	3,37	2,10	1,14	2,48	0,29	3,11	9,89	0,77	1,50	23,09	1,16	11,02	26,27	1,75	1,30	1,69
Muestra 13	3,21	2,07	1,15	2,48	0,31	3,16	9,63	0,79	1,46	23,91	1,16	10,58	26,25	1,70	1,27	1,80
Muestra 14	3,17	2,19	1,26	2,89	0,32	3,67	11,06	0,89	1,47	23,81	1,14	10,18	24,29	1,80	1,00	1,48
Muestra 15	3,42	2,09	1,01	2,03	0,26	2,53	9,64	0,84	1,39	24,48	1,28	11,11	26,81	1,45	0,85	1,76
Muestra 16	3,57	1,95	0,94	1,87	0,22	2,27	8,69	0,65	1,49	23,21	1,24	12,11	28,17	1,55	1,17	2,03
Muestra 17	3,32	2,05	1,06	2,27	0,27	2,86	9,58	0,73	1,66	23,70	1,17	11,48	26,45	1,41	1,10	1,90
Muestra 18	3,87	2,17	1,07	2,20	0,27	2,69	9,63	0,75	1,49	23,54	1,19	11,44	25,87	1,57	1,22	1,92
Muestra 19	3,71	2,05	0,97	1,93	0,26	2,40	9,41	0,83	1,37	24,45	1,30	10,98	27,01	1,58	0,86	1,79
Muestra 20	3,41	2,23	1,19	2,67	0,31	3,34	10,99	0,93	1,43	23,62	1,14	10,09	24,99	1,73	1,15	1,66

Tabla A.I.1 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas lácteas (continuación)

Ácidos Grasos Grasa láctea	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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
	Muestra 21	3,83	2,16	1,08	2,27	0,26	2,79	10,15	0,75	1,51	23,85	1,09	10,97	25,54	1,63	1,26
Muestra 22	3,77	2,29	1,19	2,58	0,31	3,18	10,77	0,93	1,23	24,92	1,21	9,83	24,49	1,75	0,78	1,24
Muestra 23	3,42	2,33	1,28	2,95	0,34	3,75	11,27	0,91	1,40	24,23	1,11	9,75	23,37	1,68	1,23	1,61
Muestra 24	3,42	2,11	1,18	2,61	0,30	3,22	10,17	0,86	1,24	24,13	1,41	10,46	25,58	1,70	0,95	1,25
Muestra 25	3,57	2,25	1,19	2,60	0,33	3,19	10,65	0,95	1,27	23,60	1,21	10,29	25,55	1,83	0,79	1,36
Muestra 26	3,71	2,27	1,21	2,65	0,35	3,35	10,68	0,99	1,40	24,45	1,24	9,85	24,83	1,46	0,85	1,39
Muestra 27	3,57	2,30	1,27	2,87	0,35	3,57	11,18	0,92	1,57	24,30	1,18	9,61	23,42	1,75	1,16	1,65
Muestra 28	3,64	2,22	1,22	2,75	0,32	3,46	10,88	0,92	1,65	23,67	1,12	10,12	24,24	1,84	1,05	1,62
Muestra 29	3,63	2,34	1,31	2,95	0,34	3,71	11,10	0,92	1,35	24,09	1,19	9,77	23,19	1,94	1,30	1,34
Muestra 30	3,09	2,21	1,27	3,03	0,33	3,89	11,25	0,97	1,35	24,09	1,14	9,96	23,86	1,90	0,88	1,21
Muestra 31	3,73	2,25	1,15	2,50	0,30	3,14	10,80	0,92	1,33	24,58	1,26	10,15	24,82	1,62	0,87	1,13
Muestra 32	3,68	2,30	1,19	2,61	0,31	3,25	10,90	0,90	1,37	24,54	1,20	9,99	24,57	1,58	0,91	1,30
Muestra 33	3,92	2,26	1,16	2,54	0,30	3,20	10,60	0,88	1,26	24,03	1,21	10,35	25,12	1,70	0,84	1,10
Muestra 34	3,26	2,13	1,12	2,45	0,31	3,10	10,58	0,97	1,41	24,01	1,24	10,33	26,00	1,56	0,84	1,63
Muestra 35	3,99	2,18	1,09	2,30	0,28	2,86	9,47	0,73	1,44	22,78	1,06	11,58	26,64	1,69	1,14	1,54
Muestra 36	3,43	1,96	0,90	1,70	0,22	2,06	8,85	0,77	1,48	23,79	1,25	12,16	28,94	1,25	0,57	1,78
Muestra 37	3,64	1,96	0,95	1,82	0,25	2,29	9,32	0,85	1,32	23,46	1,41	11,36	28,73	1,32	0,60	1,88
Muestra 38	3,14	1,77	0,92	1,93	0,20	2,43	8,27	0,56	1,08	23,61	1,00	13,70	27,70	2,50	0,24	0,87
Muestra 39	3,16	1,87	0,94	1,84	0,24	2,26	8,99	0,78	1,21	24,63	1,26	11,37	28,79	1,58	0,49	1,41
Muestra 40	4,02	2,17	1,09	2,21	0,26	2,67	9,95	0,79	1,34	23,64	1,04	11,50	26,01	1,81	0,73	1,24

Tabla A.I.1 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas lácteas (continuación)

Ácidos Grasos Grasa láctea	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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
	Muestra 41	4,30	2,24	1,11	2,29	0,28	2,82	9,78	0,79	1,26	23,49	1,12	10,92	26,00	1,85	0,89
Muestra 42	4,16	2,37	1,24	2,66	0,27	3,04	10,97	0,78	1,18	24,17	0,87	10,65	24,20	1,93	0,59	1,28
Muestra 43	3,47	2,26	1,17	2,54	0,29	3,14	10,38	0,83	1,18	25,63	1,04	10,42	24,18	1,79	0,96	0,98
Muestra 44	3,35	2,30	1,20	2,68	0,31	3,03	10,26	0,83	1,17	25,53	1,06	10,43	24,38	1,81	0,96	0,97
Muestra 45	4,28	2,21	1,22	2,74	0,32	3,36	11,13	0,94	1,22	24,91	1,15	10,05	23,05	1,68	0,92	0,98
Muestra 46	4,12	2,22	1,25	2,85	0,34	3,61	11,19	0,98	1,26	24,24	1,12	9,92	23,47	1,87	0,87	0,85
Muestra 47	3,90	2,14	1,18	2,69	0,32	3,39	11,01	0,95	1,32	24,76	1,10	9,86	23,68	1,84	1,11	1,16
Muestra 48	3,36	1,93	0,95	1,96	0,25	2,48	9,47	0,84	1,34	24,20	1,32	11,22	27,09	2,10	0,80	1,41
Muestra 49	3,54	2,19	1,07	2,12	0,27	2,50	10,20	0,88	1,47	23,59	1,37	10,34	27,15	1,63	1,14	1,78
Muestra 50	3,80	2,22	1,18	2,63	0,30	3,30	10,49	0,86	1,26	23,35	1,11	10,36	24,16	2,00	0,92	1,39
Muestra 51	4,00	2,18	1,05	2,16	0,23	2,58	9,61	0,69	1,38	23,48	1,20	11,77	26,01	1,86	0,81	1,54
Muestra 52	3,42	1,97	0,97	1,87	0,25	2,26	9,53	0,87	1,26	24,16	1,33	11,63	27,76	1,57	0,59	1,40
Muestra 53	2,99	1,89	0,98	1,91	0,24	2,33	9,50	0,86	1,36	23,93	1,37	11,62	28,45	1,43	0,74	1,51
Muestra 54	3,08	1,88	1,02	2,11	0,27	2,61	9,82	0,89	1,30	24,29	1,30	11,50	27,50	1,45	0,60	1,14
Muestra 55	3,15	1,95	1,03	2,14	0,29	2,51	9,79	0,88	1,31	23,98	1,29	11,08	27,65	1,72	0,83	1,31
Muestra 56	2,83	1,88	1,11	2,53	0,30	3,21	9,64	0,79	1,14	23,72	1,17	11,49	27,13	1,77	0,78	1,03
Muestra 57	3,37	2,06	1,12	2,47	0,28	2,99	10,07	0,77	1,32	24,19	1,28	10,57	25,62	1,89	1,27	1,46
Muestra 58	3,58	2,30	1,10	2,24	0,28	2,70	10,84	0,92	1,40	24,81	1,16	10,11	25,26	1,74	1,23	1,16
Muestra 59	3,82	2,23	1,14	2,41	0,28	2,91	10,84	0,86	1,41	24,61	1,23	10,31	24,02	1,88	1,21	1,48
Muestra 60	3,51	2,13	1,12	2,44	0,27	2,89	10,39	0,80	1,33	23,98	1,19	10,94	25,23	1,92	1,19	1,31

Tabla A.I.1 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas lácteas (continuación)

Ácidos Grasos	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_{18:1}	C_{18:2}	C_{18:3}	C_{18:2conj.}
Grasa láctea																
Muestra 61	3,26	2,23	1,19	2,69	0,31	3,35	10,89	0,86	1,36	24,65	1,16	10,33	23,60	2,03	1,14	1,43
Muestra 62	3,36	1,87	0,94	2,00	0,22	2,44	8,94	0,70	1,39	22,93	1,28	11,69	28,24	1,92	1,43	1,75
Muestra 63	2,67	2,00	1,22	2,89	0,31	3,69	9,98	0,83	1,19	23,66	1,26	10,42	25,44	2,86	0,95	0,80
Muestra 64	3,64	2,10	1,11	2,30	0,29	2,77	10,41	0,95	1,25	24,68	1,42	10,24	26,14	1,41	0,69	1,35

Tabla A.I.2 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas adulterantes

Ácidos Grasos Adulterante		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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
		Aceite de Girasol	Muestra 1										4,81		3,05	34,60	51,82
Muestra 2											5,45		3,33	30,11	54,83	0,50	
Muestra 3											4,96		2,73	32,09	54,42	0,06	
Muestra 4											4,37		2,83	42,70	44,42		
Muestra 5											4,88		2,99	19,63	66,78		
Aceite de Soja	Muestra 1										9,52		4,00	19,53	55,26	5,56	
	Muestra 2										9,21		4,38	18,27	55,07	6,97	
Grasa de Coco	Muestra 1		8,98	6,87			45,65	16,95			6,00		1,87	4,39	0,99		
	Muestra 2		9,05	6,92			41,24	16,87			9,37		3,75	5,62	1,87		
Grasa Porcina	Muestra 1							1,49			20,80	2,17	10,98	45,95	11,33	0,47	
	Muestra 2							1,33			22,55	2,32	12,54	45,92	7,60	0,77	
	Muestra 3							0,95			26,73	2,39	13,36	43,34	7,16	0,67	
	Muestra 4							1,95			23,43	3,91	13,67	41,98	8,79	0,98	
	Muestra 5							1,35			23,65	2,21	14,04	43,65	9,42	0,38	
	Muestra 6							0,83			26,82	3,24	12,95	42,54	7,86	0,46	
	Muestra 7							1,92			24,06	2,89	12,51	43,31	9,62	0,38	

Tabla A.I.2 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas adulterantes (continuación)

Ácidos Grasos		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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
		Adulterante															
Grasa Vacuna	Muestra 1							4,18	1,39	0,74	22,55	3,56	14,78	42,95	0,74	0,22	1,84
	Muestra 2							4,19	1,49	0,72	22,69	3,75	14,70	42,71	0,70	0,20	1,83
	Muestra 3							2,49	0,95	0,53	20,52	3,67	13,34	48,28	1,07	0,23	2,43
	Muestra 4							3,74	0,81	0,72	23,34	2,94	16,47	41,77	0,66	0,14	1,81
	Muestra 5							3,60	1,00	0,73	23,01	3,23	16,91	40,96	0,70	0,11	2,18
	Muestra 6							5,06	1,59	0,82	24,44	4,43	12,71	41,06	1,02	0,54	1,27
	Muestra 7							4,13	1,47	0,88	23,18	4,25	12,71	43,38	1,11	0,56	1,50
	Muestra 8							3,54	1,16	0,58	21,97	3,85	11,75	48,47	1,37	0,00	0,42
	Muestra 9							4,66	1,46	0,74	24,11	4,34	12,94	42,09	1,12	0,42	0,90
	Muestra 10							3,21	0,83	0,42	21,75	4,16	14,12	45,09	1,87	0,57	0,50

Tabla A.I.3 Concentración de ácidos grasos en g 100⁻¹ g grasa de las grasas incógnitas

Ácidos Grasos Grasas incógnitas	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 _{18:1}	C _{18:2}	C _{18:3}	C _{18:2conj.}
	Manteca 1	2,71	1,65	0,89	1,85	0,24	2,25	7,96	0,70	1,21	23,29	1,15	13,18	30,05	1,47	0,54
Manteca 2	4,12	2,24	1,05	1,91	0,22	1,95	9,64	0,78	1,38	23,03	1,08	12,01	26,06	2,08	1,24	1,30
Manteca 3	2,80	1,68	0,87	1,73	0,22	1,97	8,30	0,79	1,20	23,62	1,37	12,05	29,86	2,04	0,60	1,43
Manteca 4	2,84	1,69	0,87	1,61	0,20	1,82	8,08	0,75	1,30	22,54	1,35	12,72	31,37	1,55	0,79	1,61
Dulce de leche 1	2,68	1,77	0,92	1,76	0,23	2,03	8,78	0,81	1,38	24,38	1,16	12,41	28,39	1,51	0,51	1,81
Dulce de leche 2	2,23	1,44	0,74	1,40	0,21	1,59	7,40	0,85	1,52	23,16	1,49	14,04	31,47	1,58	0,59	1,42
Dulce de leche 3	0,78	0,70	0,48	1,10	0,11	1,33	5,20	0,58	0,98	20,81	1,71	14,92	36,10	5,17	0,71	0,86
Dulce de leche 4	2,69	1,87	1,08	2,34	0,31	2,80	9,37	0,96	1,22	24,65	1,32	11,15	26,66	1,45	0,63	1,54
Dulce de leche 5	3,48	1,70	0,82	1,60	0,21	1,85	7,82	0,73	1,38	23,54	1,22	13,02	29,48	1,45	0,67	1,62
Dulce de leche 6	3,21	1,62	0,74	1,37	0,17	1,60	7,29	0,61	1,20	23,40	1,24	13,87	30,70	1,60	0,59	1,49
Leche en polvo 1	4,83	2,29	1,23	2,71	0,29	3,39	10,99	0,85	1,17	24,57	1,02	9,98	22,43	1,96	0,98	1,33
Leche en polvo 2	4,40	2,19	1,29	3,04	0,35	3,93	10,87	0,86	1,19	24,31	1,05	9,91	22,57	1,99	1,03	1,36
Leche en polvo 3	5,08	2,25	1,27	2,87	0,32	3,62	10,82	0,85	1,16	24,05	1,07	9,78	22,52	1,97	0,96	1,39

Tabla A.I.4 Matriz de calibración para grasa vacuna

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración	%
3,71	2,05	0,97	1,93	0,26	2,40	9,41	0,83	1,37	24,45	1,30	10,98	27,01	1,58	0,86	1,79	0,00	
3,41	2,23	1,19	2,67	0,31	3,34	10,99	0,93	1,43	23,62	1,14	10,09	24,99	1,73	1,15	1,66	0,00	
3,77	2,29	1,19	2,58	0,31	3,18	10,77	0,93	1,23	24,92	1,21	9,83	24,49	1,75	0,78	1,24	0,00	
3,57	2,25	1,19	2,60	0,33	3,19	10,65	0,95	1,27	23,60	1,21	10,29	25,55	1,83	0,79	1,36	0,00	
3,92	2,26	1,16	2,54	0,30	3,20	10,60	0,88	1,26	24,03	1,21	10,35	25,12	1,70	0,84	1,10	0,00	
3,61	1,95	0,91	1,74	0,23	2,14	8,79	0,76	1,46	23,75	1,24	12,19	28,58	1,28	0,55	1,82	0,00	
4,28	2,21	1,22	2,74	0,32	3,36	11,13	0,94	1,22	24,91	1,15	10,05	23,05	1,68	0,92	0,98	0,00	
3,36	1,87	0,94	2,00	0,22	2,44	8,94	0,70	1,39	22,93	1,28	11,69	28,24	1,92	1,43	1,75	0,00	
3,64	2,22	1,20	2,66	0,34	3,39	10,65	1,02	1,22	23,99	1,28	10,08	25,38	1,57	0,71	1,26	2,00	
2,77	1,84	1,09	2,48	0,29	3,15	9,53	0,80	1,13	23,70	1,22	11,56	27,45	1,74	0,76	1,05	2,00	
3,33	2,01	1,06	2,28	0,29	2,94	9,69	0,85	1,58	23,99	1,24	11,28	26,76	1,36	0,67	1,48	2,00	
3,44	2,09	1,10	2,39	0,26	2,83	10,23	0,80	1,31	23,91	1,24	10,99	25,70	1,90	1,17	1,33	2,00	
3,29	1,89	0,93	1,92	0,25	2,43	9,35	0,84	1,32	24,19	1,35	11,33	27,39	2,07	0,78	1,42	2,00	
3,85	2,10	1,02	2,08	0,27	2,67	10,26	0,98	1,24	24,57	1,30	10,33	26,28	1,54	0,76	1,55	2,00	
3,57	1,92	0,93	1,78	0,25	2,24	9,23	0,86	1,31	23,48	1,47	11,38	28,98	1,31	0,59	1,87	2,00	
3,66	2,21	1,13	2,45	0,29	3,08	10,65	0,92	1,31	24,53	1,31	10,19	25,29	1,62	0,85	1,12	2,00	
3,30	2,15	1,11	2,41	0,28	2,98	10,07	0,86	1,16	25,48	1,17	10,64	25,12	1,74	0,92	1,02	5,00	
3,01	1,88	0,98	2,02	0,27	2,55	9,70	0,88	1,37	24,15	1,40	11,21	27,95	1,32	0,73	1,72	5,00	
2,93	1,79	0,97	2,00	0,26	2,48	9,52	0,89	1,28	24,25	1,39	11,75	28,22	1,41	0,58	1,17	5,00	
3,26	1,91	0,98	2,04	0,28	2,63	9,28	0,86	1,45	24,32	1,34	11,22	27,81	1,28	0,68	1,67	5,00	
3,25	2,21	1,22	2,80	0,32	3,56	10,89	0,91	1,37	24,17	1,21	10,11	24,25	1,63	1,18	1,64	5,00	
4,09	2,13	1,05	2,18	0,27	2,68	9,54	0,83	1,24	23,54	1,28	11,01	26,75	1,81	0,88	1,35	5,00	
3,36	2,08	1,02	2,01	0,26	2,38	9,94	0,92	1,44	23,63	1,52	10,46	27,84	1,60	1,11	1,75	5,00	
3,68	2,11	1,09	2,38	0,29	3,00	10,30	0,92	1,20	23,84	1,35	10,60	26,10	1,79	0,75	1,20	5,00	
2,94	2,10	1,21	2,88	0,31	3,70	10,87	0,98	1,31	23,99	1,27	10,05	25,09	1,88	0,84	1,17	5,00	
2,93	1,92	1,01	2,21	0,28	2,79	9,94	1,01	1,34	23,87	1,48	10,78	27,69	1,47	0,78	1,65	10,00	
3,42	2,00	1,06	2,37	0,27	2,97	9,86	0,91	1,20	24,18	1,36	10,80	26,03	1,87	0,85	1,43	10,00	
3,34	2,04	1,09	2,39	0,32	3,02	9,86	0,98	1,31	24,06	1,49	10,20	27,18	1,42	0,79	1,49	10,00	

Apéndice I

3,71	2,00	1,13	2,57	0,31	3,25	10,32	0,97	1,18	23,87	1,38	10,26	25,95	1,79	0,80	1,01	10,00
3,21	1,76	0,85	1,68	0,20	2,04	8,19	0,67	1,41	23,22	1,41	12,55	29,53	1,47	1,06	2,01	10,00
2,99	1,85	0,95	2,04	0,24	2,57	8,99	0,74	1,56	23,66	1,34	11,98	27,99	1,34	1,00	1,89	10,00
3,08	1,88	0,91	1,83	0,23	2,28	9,04	0,86	1,32	24,33	1,47	11,69	28,23	1,38	0,78	1,80	10,00
3,45	2,01	1,04	2,25	0,29	2,82	10,12	1,06	1,12	23,96	1,54	10,49	26,90	1,78	0,65	1,30	10,00
3,31	2,07	1,07	2,35	0,28	2,93	10,16	0,93	1,29	24,29	1,46	10,17	26,96	1,56	0,82	1,21	10,00
2,73	1,76	0,98	2,11	0,26	2,69	8,82	0,88	1,35	23,70	1,52	11,21	28,75	1,56	1,11	1,81	15,00
3,40	1,85	0,89	1,84	0,20	2,19	8,54	0,73	1,25	23,04	1,57	12,00	29,35	1,74	0,72	1,67	15,00
2,86	1,75	0,95	2,10	0,24	2,54	9,12	0,77	1,23	24,06	1,53	11,45	28,04	1,71	1,10	1,51	15,00
3,54	2,01	1,05	2,26	0,23	2,58	9,71	0,81	1,11	23,99	1,22	11,59	26,71	1,74	0,52	1,42	15,00
2,95	1,85	0,99	2,18	0,26	2,75	9,49	0,95	1,33	23,62	1,65	10,77	28,02	1,68	1,08	1,55	15,00
2,69	1,59	0,80	1,56	0,20	1,92	8,40	0,90	1,15	24,61	1,73	11,57	30,63	1,49	0,50	1,39	15,00
2,75	1,58	0,80	1,64	0,20	2,07	8,27	0,83	1,27	23,38	1,69	11,54	31,81	1,55	0,66	1,30	15,00
3,09	1,89	1,04	2,34	0,27	2,94	9,78	0,95	1,49	23,42	1,53	10,36	27,87	1,77	0,89	1,44	15,00

Tabla A.I.5 Matriz de calibración para grasa porcina

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración %
3,40	2,05	1,08	2,33	0,30	3,00	9,84	0,85	1,60	24,06	1,19	11,23	26,32	1,37	0,68	1,46	0,00
3,37	2,10	1,14	2,48	0,29	3,11	9,89	0,77	1,50	23,09	1,16	11,02	26,27	1,75	1,30	1,69	0,00
3,21	2,07	1,15	2,48	0,31	3,16	9,63	0,79	1,46	23,91	1,16	10,58	26,25	1,70	1,27	1,80	0,00
3,17	2,19	1,26	2,89	0,32	3,67	11,06	0,89	1,47	23,81	1,14	10,18	24,29	1,80	1,00	1,48	0,00
3,87	2,17	1,07	2,20	0,27	2,69	9,63	0,75	1,49	23,54	1,19	11,44	25,87	1,57	1,22	1,92	0,00
3,47	2,26	1,17	2,54	0,29	3,14	10,38	0,83	1,18	25,63	1,04	10,42	24,18	1,79	0,96	0,98	0,00
3,80	2,22	1,18	2,63	0,30	3,30	10,49	0,86	1,26	24,35	1,11	10,36	24,16	2,00	0,92	1,39	0,00
2,83	1,88	1,11	2,53	0,30	3,21	9,64	0,79	1,14	23,72	1,17	11,49	27,13	1,77	0,78	1,03	0,00
3,17	1,82	0,92	1,89	0,24	2,39	8,95	0,76	1,36	23,57	1,32	11,49	29,21	1,78	0,77	1,43	2,00
3,64	2,22	1,20	2,66	0,34	3,39	10,60	0,99	1,21	23,96	1,25	10,00	25,44	1,79	0,72	1,22	2,00
3,57	1,92	0,93	1,78	0,25	2,24	9,16	0,83	1,29	23,44	1,43	11,38	29,08	1,44	0,61	1,84	2,00
3,92	2,14	1,03	2,12	0,23	2,53	9,45	0,68	1,35	23,46	1,23	11,78	26,41	1,97	0,81	1,51	2,00
3,50	1,91	0,92	1,83	0,22	2,22	8,54	0,64	1,46	23,28	1,27	12,14	28,48	1,66	1,16	1,99	2,00
3,10	1,83	0,92	1,80	0,24	2,21	8,83	0,76	1,19	24,67	1,28	11,41	29,08	1,69	0,49	1,38	2,00
3,10	2,08	1,07	2,27	0,28	2,83	9,89	0,78	1,60	24,50	1,21	10,93	25,95	1,62	1,22	1,76	2,00
4,04	2,18	1,23	2,79	0,33	3,54	11,01	0,96	1,23	24,23	1,18	9,99	23,84	2,01	0,87	0,83	2,00
3,01	1,88	0,98	2,02	0,27	2,55	9,65	0,83	1,34	24,16	1,33	11,08	27,84	1,84	0,74	1,60	5,00
3,15	1,95	1,01	2,16	0,26	2,72	9,17	0,69	1,58	23,55	1,22	11,46	27,43	1,91	1,06	1,80	5,00
3,71	2,03	1,12	2,56	0,30	3,22	10,53	0,90	1,25	24,56	1,15	9,92	24,80	2,32	1,07	1,10	5,00
3,18	2,19	1,14	2,55	0,29	2,88	9,82	0,79	1,11	25,38	1,13	10,54	25,46	2,10	0,95	0,92	5,00
3,36	2,08	1,02	2,01	0,26	2,38	9,76	0,84	1,40	23,54	1,42	10,45	28,09	1,93	1,12	1,69	5,00
3,73	2,03	0,99	2,01	0,27	2,58	9,93	0,93	1,20	24,71	1,33	10,35	26,85	1,84	0,77	1,46	5,00
3,33	2,02	1,06	2,32	0,26	2,75	9,92	0,76	1,26	24,12	1,25	11,06	26,14	2,18	1,16	1,24	5,00
3,68	2,11	1,09	2,38	0,29	3,00	10,22	0,86	1,17	23,91	1,36	10,69	25,78	2,16	0,80	1,18	5,00
3,52	1,95	0,92	1,83	0,25	2,28	9,04	0,79	1,30	24,40	1,44	11,11	27,76	1,94	0,87	1,70	5,00
3,36	2,03	1,04	2,25	0,27	2,83	9,87	0,83	1,20	24,20	1,35	10,24	26,93	2,59	0,83	1,02	10,00
2,93	1,92	1,01	2,21	0,28	2,79	9,67	0,87	1,27	23,69	1,34	10,40	27,99	2,53	0,81	1,47	10,00

Apéndice I

2,84	1,76	0,93	1,93	0,26	2,26	8,94	0,79	1,18	23,84	1,39	11,22	29,48	2,31	0,83	1,18	10,00
3,03	1,85	1,01	2,22	0,25	2,69	9,19	0,69	1,19	24,03	1,38	10,76	27,65	2,46	1,22	1,31	10,00
3,22	2,07	0,99	2,02	0,25	2,43	9,89	0,83	1,26	24,59	1,27	10,35	27,32	2,33	1,19	1,04	10,00
3,28	2,00	1,10	2,48	0,29	3,11	9,89	0,83	1,49	23,97	1,25	10,45	26,16	2,38	1,02	1,46	10,00
3,62	1,95	0,98	1,99	0,23	2,40	9,06	0,71	1,21	23,95	1,18	11,69	27,75	2,35	0,73	1,12	10,00
3,08	1,90	1,06	2,35	0,27	2,90	9,35	0,77	1,12	24,06	1,66	10,78	27,22	2,41	0,96	1,13	10,00
3,27	2,11	1,18	2,66	0,31	3,34	10,19	0,83	1,22	24,02	1,46	10,16	25,07	2,63	1,27	1,21	10,00
2,95	1,85	0,99	2,18	0,26	2,75	8,95	0,71	1,21	23,07	1,32	10,51	28,75	3,23	1,07	1,36	15,00
3,15	1,93	1,03	2,25	0,30	2,85	9,30	0,84	1,19	23,90	1,38	10,02	28,00	2,94	0,79	1,18	15,00
2,91	1,78	0,86	1,73	0,22	2,15	8,39	0,71	1,18	24,19	1,44	11,32	29,68	2,37	0,84	1,50	15,00
2,90	1,90	1,01	2,27	0,26	2,84	9,54	0,79	1,22	23,46	1,32	10,46	28,13	2,61	1,10	1,41	15,00
2,62	1,60	0,87	1,79	0,23	2,22	8,49	0,76	1,11	24,66	1,47	11,78	29,90	2,30	0,61	0,97	15,00
2,86	1,59	0,80	1,70	0,19	2,07	7,74	0,60	1,18	23,50	1,45	11,94	30,52	2,70	1,32	1,49	15,00
2,91	1,98	1,09	2,51	0,29	3,19	9,87	0,77	1,19	24,11	1,53	10,34	26,16	2,75	1,20	1,37	15,00
3,09	1,79	0,94	1,96	0,25	2,35	9,14	0,81	1,06	24,49	1,80	10,75	28,52	2,52	0,74	1,15	15,00

Tabla A.I.6 Matriz de calibración para aceite de girasol

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración	%
3,57	1,95	0,94	1,87	0,22	2,27	8,69	0,65	1,49	23,21	1,24	12,11	28,17	1,55	1,17	2,03	0,00	
3,87	2,17	1,07	2,20	0,27	2,69	9,63	0,75	1,49	23,54	1,19	11,44	25,87	1,57	1,22	1,92	0,00	
3,71	2,05	0,97	1,93	0,26	2,40	9,41	0,83	1,37	24,45	1,30	10,98	27,01	1,58	0,86	1,79	0,00	
3,83	2,16	1,08	2,27	0,26	2,79	10,15	0,75	1,51	23,85	1,09	10,97	25,54	1,63	1,26	1,73	0,00	
3,42	2,11	1,18	2,61	0,30	3,22	10,17	0,86	1,24	24,13	1,41	10,46	25,58	1,70	0,95	1,25	0,00	
3,63	2,34	1,31	2,95	0,34	3,71	11,10	0,92	1,35	24,09	1,19	9,77	23,19	1,94	1,30	1,34	0,00	
3,99	2,18	1,09	2,30	0,28	2,86	9,47	0,73	1,44	22,78	1,06	11,58	26,64	1,69	1,14	1,54	0,00	
3,47	2,26	1,17	2,54	0,29	3,14	10,38	0,83	1,18	25,63	1,04	10,42	24,18	1,79	0,96	0,98	0,00	
3,90	2,14	1,18	2,69	0,32	3,39	11,01	0,95	1,32	24,76	1,10	9,86	23,68	1,84	1,11	1,16	0,00	
3,64	2,22	1,18	2,59	0,34	3,28	10,47	0,97	1,37	24,06	1,22	9,70	24,97	2,52	0,83	1,36	2,00	
3,50	2,26	1,24	2,81	0,34	3,50	10,96	0,91	1,54	23,92	1,15	9,47	23,59	2,81	1,14	1,62	2,00	
3,84	2,21	1,14	2,49	0,29	3,13	10,39	0,86	1,24	23,65	1,18	10,19	25,25	2,76	0,82	1,08	2,00	
3,03	2,17	1,24	2,97	0,33	3,81	11,03	0,95	1,32	23,70	1,12	9,82	24,23	2,75	0,86	1,19	2,00	
3,65	2,20	1,13	2,45	0,29	3,08	10,59	0,90	1,30	24,18	1,24	10,01	25,17	2,48	0,85	1,11	2,00	
3,51	2,25	1,08	2,19	0,27	2,65	10,62	0,91	1,37	24,41	1,14	9,97	25,61	2,60	1,20	1,14	2,00	
3,80	2,17	1,13	2,45	0,30	3,09	10,44	0,89	1,21	23,56	1,19	10,39	24,82	3,11	0,78	1,21	2,00	
3,94	2,13	1,07	2,17	0,25	2,62	9,75	0,78	1,31	23,27	1,02	11,33	25,88	3,11	0,71	1,22	2,00	
3,30	1,83	0,93	1,96	0,22	2,39	8,77	0,68	1,36	22,57	1,26	11,52	28,06	3,22	1,40	1,72	2,00	
3,16	1,95	1,01	2,16	0,26	2,72	9,10	0,69	1,57	22,76	1,11	11,04	26,73	4,06	1,04	1,81	5,00	
4,06	2,10	1,16	2,60	0,30	3,20	10,57	0,89	1,15	23,92	1,09	9,68	23,50	4,32	0,87	0,94	5,00	
3,63	2,12	1,08	2,29	0,26	2,77	10,30	0,82	1,34	23,63	1,17	9,94	24,42	4,50	1,15	1,40	5,00	
3,01	2,08	1,19	2,75	0,31	3,49	10,50	0,85	1,40	22,84	1,08	9,81	25,21	3,93	0,95	1,40	5,00	
3,58	2,18	1,13	2,45	0,29	3,02	10,23	0,88	1,16	23,89	1,15	9,48	25,39	3,88	0,74	1,18	5,00	
3,43	1,86	0,86	1,65	0,22	2,03	8,35	0,72	1,39	22,80	1,18	11,73	28,13	4,55	0,52	1,73	5,00	
3,34	2,03	1,07	2,32	0,25	2,74	9,87	0,76	1,26	23,02	1,13	10,54	24,94	5,16	1,13	1,24	5,00	
3,46	2,00	1,06	2,19	0,27	2,63	9,89	0,91	1,19	23,69	1,35	9,87	25,82	4,68	0,65	1,28	5,00	

Apéndice I

3,13	1,96	1,05	2,32	0,28	2,92	9,25	0,75	1,27	21,62	1,06	9,65	26,36	7,06	1,07	1,44	10,00
2,89	1,86	1,04	2,23	0,28	2,84	8,67	0,71	1,32	22,02	1,04	9,79	26,83	6,97	1,15	1,62	10,00
2,85	1,90	0,98	2,08	0,26	2,60	9,04	0,72	1,46	22,51	1,03	10,07	27,33	5,76	1,10	1,62	10,00
3,42	2,00	1,06	2,37	0,27	2,97	9,44	0,77	1,14	22,36	1,00	9,61	26,01	6,24	0,83	1,25	10,00
2,55	1,70	1,00	2,28	0,27	2,89	8,68	0,71	1,03	21,79	1,06	10,62	28,69	6,04	0,70	0,93	10,00
3,28	2,00	1,10	2,47	0,28	3,11	9,79	0,83	1,48	21,79	1,01	9,40	23,78	8,34	0,95	1,46	10,00
3,02	1,73	0,85	1,76	0,22	2,23	8,52	0,76	1,21	22,27	1,19	10,39	26,34	8,57	0,72	1,27	10,00
2,69	1,70	0,88	1,72	0,21	2,09	8,55	0,77	1,23	22,03	1,23	10,76	27,57	7,97	0,67	1,36	10,00
3,15	1,93	1,03	2,30	0,30	2,94	9,17	0,86	1,05	21,15	1,05	8,90	26,07	9,51	0,62	1,05	15,00
2,90	1,90	1,01	2,27	0,26	2,84	9,34	0,79	1,21	20,81	0,97	8,99	26,05	9,63	0,99	1,41	15,00
3,53	2,01	1,05	2,26	0,23	2,59	9,17	0,66	1,00	21,28	0,74	9,46	25,38	9,80	0,51	1,09	15,00
3,25	1,89	0,98	2,12	0,27	2,66	9,08	0,85	0,98	20,98	1,04	9,13	27,93	8,23	0,57	1,10	15,00
2,85	1,95	1,02	2,28	0,27	2,58	8,72	0,70	1,00	22,36	0,90	9,28	27,12	8,20	0,81	0,83	15,00
2,62	1,60	0,87	1,80	0,23	2,22	8,35	0,75	1,10	21,31	1,10	10,20	29,78	7,89	0,51	0,97	15,00
2,91	1,71	0,88	1,82	0,25	2,35	8,14	0,72	1,26	21,46	1,05	9,73	25,99	11,14	0,60	1,39	15,00
2,89	1,74	0,92	1,98	0,26	2,55	8,36	0,73	1,36	21,18	1,01	9,99	25,31	11,19	0,57	1,25	15,00

Tabla A.I.7 Matriz de calibración para aceite de soja

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración	%
3,23	1,86	0,94	1,93	0,24	2,44	9,10	0,78	1,39	23,62	1,31	11,50	28,87	1,58	0,78	1,46	0,00	
3,21	2,07	1,15	2,48	0,31	3,16	9,63	0,79	1,46	23,91	1,16	10,58	26,25	1,70	1,27	1,80	0,00	
3,41	2,23	1,19	2,67	0,31	3,34	10,99	0,93	1,43	23,62	1,14	10,09	24,99	1,73	1,15	1,66	0,00	
3,77	2,29	1,19	2,58	0,31	3,18	10,77	0,93	1,23	24,92	1,21	9,83	24,49	1,75	0,78	1,24	0,00	
3,64	2,22	1,22	2,75	0,32	3,46	10,88	0,92	1,65	23,67	1,12	10,12	24,24	1,84	1,05	1,62	0,00	
3,54	2,19	1,07	2,12	0,27	2,50	10,20	0,88	1,47	23,59	1,37	10,34	27,15	1,63	1,14	1,78	0,00	
4,00	2,18	1,05	2,16	0,23	2,58	9,61	0,69	1,38	23,48	1,20	11,77	26,01	1,86	0,81	1,54	0,00	
3,36	1,87	0,94	2,00	0,22	2,44	8,94	0,70	1,39	22,93	1,28	11,69	28,24	1,92	1,43	1,75	0,00	
3,64	2,10	1,11	2,30	0,29	2,77	10,41	0,95	1,25	24,68	1,42	10,24	26,14	1,41	0,69	1,35	0,00	
3,10	2,07	1,07	2,27	0,29	2,83	9,85	0,78	1,59	24,22	1,13	10,74	25,50	2,55	1,31	1,76	2,00	
3,57	1,92	0,93	1,79	0,24	2,24	9,13	0,83	1,29	23,18	1,38	11,21	28,54	2,41	0,70	1,84	2,00	
3,94	2,13	1,07	2,17	0,25	2,62	9,75	0,78	1,31	23,36	1,02	11,35	25,88	2,88	0,82	1,22	2,00	
3,28	2,25	1,17	2,63	0,31	2,97	10,05	0,81	1,15	25,21	1,04	10,30	24,28	2,89	1,05	0,96	2,00	
3,51	2,25	1,08	2,19	0,27	2,65	10,62	0,91	1,37	24,51	1,14	9,99	25,15	2,82	1,31	1,14	2,00	
3,40	2,14	1,14	2,52	0,31	3,18	10,07	0,81	1,39	23,18	1,15	10,30	25,57	2,86	1,30	1,57	2,00	
3,56	2,29	1,29	2,89	0,33	3,64	10,87	0,90	1,33	23,79	1,17	9,66	23,09	3,00	1,41	1,32	2,00	
3,03	2,17	1,24	2,97	0,33	3,81	11,03	0,95	1,32	23,79	1,12	9,85	23,75	2,96	1,00	1,19	2,00	
3,20	2,09	1,10	2,40	0,30	3,04	10,37	0,95	1,38	23,71	1,21	10,21	25,85	2,63	0,96	1,59	2,00	
3,52	2,16	1,16	2,57	0,33	3,28	10,25	0,96	1,17	23,57	1,17	9,80	25,33	5,93	1,12	1,18	5,00	
3,25	2,22	1,22	2,80	0,32	3,57	10,71	0,86	1,33	23,77	1,06	9,58	23,76	6,02	1,61	1,53	5,00	
3,79	2,07	1,04	2,18	0,26	2,72	9,00	0,69	1,37	22,40	1,00	11,32	26,87	6,03	1,53	1,47	5,00	
3,34	2,03	1,07	2,32	0,25	2,74	9,87	0,76	1,26	23,54	1,13	10,71	25,52	6,24	1,57	1,24	5,00	
3,16	1,95	1,01	2,16	0,26	2,72	9,10	0,69	1,57	22,97	1,11	11,12	26,04	4,09	1,39	1,81	5,00	
3,25	2,01	1,12	2,48	0,28	3,06	9,66	0,82	1,18	23,38	1,34	10,15	25,21	4,37	1,25	1,18	5,00	
2,99	1,85	0,98	2,04	0,28	2,38	9,30	0,83	1,24	23,24	1,22	10,74	27,18	4,38	1,14	1,25	5,00	
2,69	1,79	1,05	2,40	0,28	3,05	9,16	0,75	1,08	22,99	1,12	11,13	26,68	4,43	1,09	0,98	5,00	

Apéndice I

2,85	1,78	0,93	1,91	0,25	2,41	9,07	0,78	1,27	22,86	1,15	10,38	26,14	6,74	1,24	1,51	10,00
2,85	1,68	0,85	1,66	0,21	2,04	8,09	0,71	1,09	23,12	1,14	10,63	27,86	6,95	1,00	1,26	10,00
3,02	1,73	0,85	1,76	0,22	2,23	8,52	0,76	1,21	22,73	1,19	10,49	26,33	7,42	1,28	1,27	10,00
2,69	1,70	0,88	1,72	0,21	2,09	8,55	0,77	1,23	22,49	1,23	10,86	27,56	6,82	1,23	1,36	10,00
3,30	1,80	0,88	1,81	0,23	2,26	8,80	0,76	1,28	22,80	1,13	10,32	26,33	6,78	1,41	1,35	10,00
3,44	2,01	1,04	2,25	0,29	2,82	9,61	0,90	1,04	22,44	1,10	9,66	24,62	7,18	1,31	1,17	10,00
3,08	1,81	0,93	1,93	0,26	2,49	8,62	0,76	1,33	22,87	1,11	10,27	26,23	6,70	1,33	1,47	10,00
2,93	2,01	1,07	2,42	0,28	3,02	9,80	0,78	1,22	23,11	1,05	9,74	23,07	7,33	1,73	1,29	10,00
3,29	1,84	0,91	1,87	0,23	2,29	8,19	0,64	1,27	21,44	1,01	10,32	24,92	9,62	1,87	1,63	15,00
3,07	1,66	0,77	1,48	0,20	1,82	7,47	0,65	1,24	21,62	1,06	10,96	27,22	9,37	1,30	1,55	15,00
2,62	1,60	0,87	1,80	0,23	2,22	8,35	0,75	1,10	22,08	1,10	10,38	26,31	9,52	1,34	0,97	15,00
2,86	1,75	0,95	2,10	0,24	2,54	8,56	0,66	1,12	21,99	1,09	9,59	24,71	9,90	1,91	1,24	15,00
2,89	1,74	0,92	1,98	0,26	2,55	8,36	0,73	1,36	21,83	1,01	10,20	25,11	9,43	1,62	1,25	15,00
3,03	1,91	1,01	2,21	0,28	2,71	9,05	0,80	1,08	21,44	1,03	9,41	24,46	9,82	1,72	1,16	15,00
3,15	1,93	1,03	2,25	0,29	2,85	9,08	0,84	1,19	22,16	1,05	9,03	23,84	9,50	1,77	1,18	15,00
2,95	1,92	1,00	2,16	0,25	2,67	8,82	0,71	1,00	23,16	0,88	9,51	23,29	9,78	1,87	0,84	15,00

Tabla A.I.8 Matriz de calibración para grasa de coco

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración	%
3,93	2,14	1,04	2,12	0,28	2,72	10,40	0,98	1,26	24,60	1,27	10,19	25,98	1,56	0,78	1,54	0,00	
3,21	2,07	1,15	2,48	0,31	3,16	9,63	0,79	1,46	23,91	1,16	10,58	26,25	1,70	1,27	1,80	0,00	
3,41	2,23	1,19	2,67	0,31	3,34	10,99	0,93	1,43	23,62	1,14	10,09	24,99	1,73	1,15	1,66	0,00	
3,42	2,11	1,18	2,61	0,30	3,22	10,17	0,86	1,24	24,13	1,41	10,46	25,58	1,70	0,95	1,25	0,00	
3,09	2,21	1,27	3,03	0,33	3,89	11,25	0,97	1,35	24,09	1,14	9,96	23,86	1,90	0,88	1,21	0,00	
3,26	2,13	1,12	2,45	0,31	3,10	10,58	0,97	1,41	24,01	1,24	10,33	26,00	1,56	0,84	1,63	0,00	
4,12	2,22	1,25	2,85	0,34	3,61	11,19	0,98	1,26	24,24	1,12	9,92	23,47	1,87	0,87	0,85	0,00	
3,08	1,88	1,02	2,11	0,27	2,61	9,82	0,89	1,30	24,29	1,30	11,50	27,50	1,45	0,60	1,14	0,00	
3,15	1,95	1,03	2,14	0,29	2,51	9,79	0,88	1,31	23,98	1,29	11,08	27,65	1,72	0,83	1,31	0,00	
3,64	2,01	1,13	2,04	0,25	3,26	9,60	0,82	1,35	24,10	1,28	10,80	26,55	1,57	0,84	1,75	2,00	
3,50	2,21	1,34	2,69	0,32	4,04	10,81	0,93	1,25	23,27	1,19	10,13	25,12	1,82	0,78	1,33	2,00	
3,91	2,13	1,25	2,39	0,27	3,71	9,65	0,72	1,41	22,46	1,04	11,39	26,19	1,68	1,12	1,51	2,00	
3,47	2,15	1,23	2,22	0,26	3,36	10,36	0,87	1,44	23,26	1,34	10,18	26,69	1,62	1,12	1,74	2,00	
2,78	1,85	1,27	2,62	0,29	4,06	9,82	0,77	1,12	23,38	1,15	11,30	26,67	1,76	0,76	1,01	2,00	
3,40	2,14	1,32	2,66	0,31	4,00	10,41	0,81	1,39	23,19	1,15	10,28	25,31	1,80	1,16	1,57	2,00	
3,80	2,13	1,22	2,30	0,27	3,46	9,78	0,74	1,46	23,26	1,16	11,28	25,46	1,58	1,20	1,88	2,00	
3,50	2,26	1,42	2,95	0,34	4,32	11,30	0,91	1,54	24,01	1,15	9,49	23,06	1,76	1,14	1,62	2,00	
3,51	2,25	1,26	2,33	0,27	3,47	10,96	0,91	1,37	24,51	1,14	9,98	24,87	1,75	1,20	1,14	2,00	
3,48	1,90	1,38	2,25	0,24	4,67	10,20	0,80	1,35	23,45	1,20	10,52	26,06	1,39	0,75	1,42	5,00	
3,25	1,99	1,41	2,27	0,25	4,68	10,08	0,80	1,32	23,62	1,21	10,64	25,67	1,43	0,81	1,67	5,00	
3,43	1,86	1,31	1,99	0,22	4,31	9,27	0,72	1,39	22,92	1,18	11,67	27,35	1,26	0,52	1,73	5,00	
3,09	2,12	1,58	2,89	0,29	5,46	11,27	0,82	1,29	23,78	1,10	9,90	22,62	1,97	1,08	1,36	5,00	
3,64	2,05	1,48	2,51	0,25	4,71	10,48	0,71	1,44	23,13	1,04	10,61	24,54	1,64	1,20	1,64	5,00	
3,54	2,13	1,55	2,73	0,28	5,04	11,10	0,88	1,26	23,82	1,20	9,83	23,86	1,63	0,82	1,08	5,00	
3,25	1,87	1,37	2,13	0,23	4,20	9,90	0,82	1,20	23,42	1,26	11,24	26,65	1,58	0,56	1,33	5,00	

Apéndice I

3,19	1,78	1,35	2,25	0,21	4,38	9,34	0,66	1,32	22,25	1,22	11,30	27,11	1,91	1,36	1,66	5,00
2,85	1,68	1,75	2,35	0,21	6,61	9,93	0,71	1,09	22,89	1,14	10,42	26,31	1,52	0,44	1,26	10,00
3,62	1,95	1,88	2,68	0,23	6,97	10,79	0,71	1,21	21,99	0,94	10,54	23,81	1,73	0,65	1,12	10,00
3,01	2,07	1,98	3,10	0,28	7,30	11,07	0,74	1,06	23,69	0,96	9,57	22,34	1,73	0,86	0,88	10,00
3,44	2,01	1,92	2,86	0,25	7,19	11,60	0,77	1,27	22,87	1,11	9,47	22,02	1,79	1,09	1,33	10,00
3,34	2,04	2,00	3,07	0,31	7,14	11,31	0,89	1,26	22,94	1,12	9,23	22,90	1,51	0,76	1,25	10,00
3,87	2,02	1,91	2,75	0,25	6,66	10,49	0,71	1,13	22,08	1,01	10,20	23,96	1,86	0,80	1,22	10,00
3,51	1,92	1,97	3,11	0,29	7,17	11,60	0,85	1,19	23,23	0,99	9,24	21,87	1,84	1,00	1,04	10,00
3,27	1,89	1,91	2,76	0,26	6,61	11,06	0,86	1,12	23,15	1,27	9,58	24,09	1,46	0,62	1,22	10,00
3,29	1,89	2,33	3,15	0,26	9,53	11,80	0,77	1,05	21,43	1,03	9,24	21,79	1,69	0,67	1,05	15,00
3,04	1,66	2,15	2,62	0,18	8,78	10,14	0,55	1,27	20,81	1,05	10,58	24,54	1,47	1,00	1,73	15,00
3,53	2,01	2,40	3,29	0,23	9,44	11,92	0,66	1,00	21,62	0,74	9,33	21,17	1,79	0,50	1,09	15,00
2,86	1,64	2,16	2,69	0,21	8,96	10,80	0,72	1,14	21,65	1,12	9,81	23,63	1,93	0,68	1,20	15,00
2,91	1,71	2,24	2,86	0,25	8,54	10,67	0,72	1,26	22,14	1,05	9,84	23,89	1,40	0,60	1,39	15,00
2,70	1,86	2,43	3,50	0,28	9,31	11,93	0,76	1,25	21,65	0,97	9,21	21,49	1,81	0,85	1,25	15,00
2,82	1,75	2,26	2,97	0,23	8,62	10,67	0,62	1,41	21,55	0,99	10,32	23,32	1,48	0,93	1,62	15,00
2,54	1,60	2,19	2,66	0,20	8,17	10,61	0,73	1,16	21,75	1,16	10,44	25,03	1,49	0,63	1,29	15,00

Tabla A.I.9 Matriz de predicción para grasa vacuna

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	% Adulteración
3,16	2,12	1,09	2,32	0,29	2,89	10,05	0,80	1,63	24,52	1,15	10,88	25,62	1,47	1,22	1,80	0,00
3,37	2,10	1,14	2,48	0,29	3,11	9,89	0,77	1,50	23,09	1,16	11,02	26,27	1,75	1,30	1,69	0,00
3,63	2,34	1,31	2,95	0,34	3,71	11,10	0,92	1,35	24,09	1,19	9,77	23,19	1,94	1,30	1,34	0,00
3,82	2,23	1,14	2,41	0,28	2,91	10,84	0,86	1,41	24,61	1,23	10,31	24,02	1,88	1,21	1,48	0,00
3,51	2,25	1,08	2,20	0,27	2,65	10,70	0,93	1,38	24,76	1,21	10,20	25,60	1,72	1,21	1,18	2,00
3,57	2,06	1,09	2,25	0,28	2,71	10,28	0,96	1,25	24,65	1,48	10,29	26,49	1,40	0,68	1,35	2,00
3,82	2,10	1,16	2,64	0,31	3,32	10,88	0,96	1,30	24,74	1,17	9,92	24,05	1,82	1,09	1,16	2,00
3,35	1,93	0,95	1,83	0,25	2,21	9,40	0,87	1,24	24,11	1,38	11,68	28,10	1,58	0,58	1,38	2,00
3,39	2,19	1,20	2,73	0,33	3,39	10,83	0,94	1,53	24,22	1,31	9,86	24,39	1,69	1,11	1,66	5,00
3,48	1,90	0,93	1,91	0,24	2,38	9,49	0,87	1,40	24,22	1,39	11,15	28,00	1,37	0,76	1,52	5,00
3,10	2,12	1,13	2,56	0,29	3,18	10,58	0,89	1,33	24,63	1,32	10,46	24,52	1,99	1,10	1,41	5,00
2,99	1,85	0,98	2,03	0,28	2,38	9,46	0,88	1,26	23,87	1,44	11,24	28,52	1,72	0,82	1,27	5,00
2,85	1,97	1,13	2,60	0,29	3,30	10,37	0,95	1,39	23,70	1,40	10,63	26,13	1,69	0,92	1,51	10,00
3,62	1,95	0,98	1,99	0,23	2,40	9,37	0,86	1,30	23,60	1,37	11,62	27,75	1,74	0,72	1,27	10,00
3,29	1,80	0,88	1,81	0,23	2,26	9,26	0,91	1,36	24,29	1,56	11,16	28,71	1,38	0,75	1,44	10,00
3,02	2,07	1,08	2,41	0,28	2,73	9,55	0,83	1,09	25,15	1,37	10,80	26,45	1,82	0,92	0,92	10,00
3,26	1,84	0,92	1,93	0,22	2,37	9,26	0,86	1,39	23,67	1,49	11,52	28,12	1,49	1,10	1,74	15,00
3,39	1,85	0,93	1,96	0,24	2,43	8,67	0,84	1,35	22,84	1,54	11,75	29,15	1,61	1,05	1,54	15,00
2,69	1,86	1,07	2,46	0,27	3,12	10,03	0,98	1,36	23,64	1,53	10,85	27,06	1,63	0,88	1,53	15,00
3,29	1,84	0,91	1,87	0,23	2,29	8,67	0,76	1,33	23,27	1,63	11,84	28,75	1,61	1,13	1,71	15,00

Tabla A.I.10 Matriz de predicción para grasa porcina

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	% Adulteración
3,66	2,00	0,98	2,01	0,25	2,51	9,77	0,84	1,43	24,31	1,26	10,97	27,22	1,41	0,79	1,50	0,00
3,68	2,30	1,19	2,61	0,31	3,25	10,90	0,90	1,37	24,54	1,20	9,99	24,57	1,58	0,91	1,30	0,00
3,99	2,18	1,09	2,30	0,28	2,86	9,47	0,73	1,44	22,78	1,06	11,58	26,64	1,69	1,14	1,54	0,00
3,26	2,23	1,19	2,69	0,31	3,35	10,89	0,86	1,36	24,65	1,16	10,33	23,60	2,03	1,14	1,43	0,00
3,36	1,97	1,01	2,11	0,28	2,71	9,42	0,83	1,45	24,37	1,26	10,98	27,45	1,48	0,70	1,61	2,00
3,35	1,93	0,95	1,83	0,25	2,21	9,37	0,85	1,23	24,15	1,34	11,68	28,07	1,73	0,59	1,37	2,00
3,74	2,19	1,12	2,36	0,27	2,85	10,64	0,84	1,38	24,66	1,27	10,36	24,39	2,00	1,20	1,45	2,00
2,93	1,85	0,96	1,87	0,24	2,28	9,35	0,84	1,33	23,93	1,40	11,64	28,75	1,59	0,74	1,48	2,00
4,07	2,10	1,16	2,60	0,30	3,19	10,64	0,89	1,16	24,84	1,20	10,25	24,08	2,07	0,89	0,93	5,00
3,72	2,15	1,10	2,41	0,29	3,04	10,11	0,84	1,20	24,17	1,31	10,48	25,99	2,01	0,82	1,05	5,00
3,43	1,85	0,86	1,65	0,22	2,03	8,39	0,72	1,39	23,90	1,34	12,23	29,28	1,61	0,54	1,73	5,00
2,94	2,10	1,21	2,88	0,31	3,70	10,79	0,92	1,28	24,09	1,22	10,09	24,84	2,29	0,86	1,15	5,00
3,21	2,07	1,14	2,58	0,32	3,21	10,19	0,83	1,41	24,24	1,28	10,05	25,44	2,52	1,08	1,49	10,00
3,45	1,94	0,97	2,04	0,23	2,51	9,22	0,68	1,36	24,15	1,30	11,16	27,24	2,26	1,18	1,56	10,00
3,87	2,02	1,00	2,06	0,25	2,54	8,99	0,71	1,13	23,55	1,30	11,08	27,73	2,63	0,84	1,22	10,00
3,29	1,80	0,88	1,81	0,23	2,26	8,92	0,76	1,29	24,25	1,35	11,27	28,86	2,21	0,75	1,35	10,00
3,26	1,90	0,99	2,13	0,27	2,66	9,28	0,85	0,99	23,87	1,37	10,81	28,07	2,98	0,63	1,11	15,00
3,03	1,91	1,01	2,21	0,28	2,71	9,25	0,80	1,08	23,61	1,36	10,86	28,27	2,97	0,73	1,16	15,00
3,54	2,01	1,05	2,26	0,23	2,58	9,29	0,66	1,00	24,56	1,23	10,99	26,95	2,82	0,57	1,09	15,00
3,20	1,95	1,01	2,19	0,26	2,70	9,44	0,79	1,05	24,79	1,46	10,24	27,32	2,93	0,72	1,05	15,00

Tabla A.I.11 Matriz de predicción para aceite de girasol

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	% Adulteración
3,66	2,00	0,98	2,01	0,25	2,51	9,77	0,84	1,43	24,31	1,26	10,97	27,22	1,41	0,79	1,50	0,00
4,12	2,22	1,25	2,85	0,34	3,61	11,19	0,98	1,26	24,24	1,12	9,92	23,47	1,87	0,87	0,85	0,00
4,00	2,18	1,05	2,16	0,23	2,58	9,61	0,69	1,38	23,48	1,20	11,77	26,01	1,86	0,81	1,54	0,00
3,37	2,06	1,12	2,47	0,28	2,99	10,07	0,77	1,32	24,19	1,28	10,57	25,62	1,89	1,27	1,46	0,00
3,61	2,26	1,17	2,55	0,31	3,18	10,68	0,89	1,34	24,15	1,18	9,85	24,77	2,59	0,89	1,27	2,00
3,20	2,09	1,10	2,40	0,30	3,04	10,37	0,95	1,38	23,63	1,21	10,18	26,17	2,57	0,82	1,59	2,00
3,57	1,92	0,93	1,79	0,24	2,24	9,13	0,83	1,29	23,10	1,38	11,20	28,75	2,40	0,60	1,84	2,00
4,22	2,20	1,09	2,24	0,27	2,76	9,59	0,78	1,23	23,13	1,10	10,77	26,08	2,92	0,88	1,33	2,00
3,07	1,76	0,90	1,83	0,23	2,32	8,64	0,74	1,32	22,68	1,24	11,08	29,16	4,09	0,74	1,39	5,00
3,36	2,08	1,02	2,01	0,25	2,37	9,69	0,84	1,40	22,65	1,30	9,98	27,52	4,14	1,08	1,69	5,00
3,46	1,86	0,91	1,73	0,24	2,17	8,85	0,81	1,25	22,55	1,34	10,96	28,80	4,00	0,60	1,78	5,00
3,25	1,87	0,92	1,78	0,23	2,14	9,06	0,82	1,20	23,22	1,26	11,22	27,88	4,23	0,59	1,33	5,00
3,30	1,80	0,88	1,81	0,23	2,26	8,80	0,76	1,28	22,36	1,13	10,18	27,96	6,45	0,72	1,35	10,00
2,93	2,01	1,07	2,42	0,28	3,02	9,80	0,78	1,22	22,67	1,05	9,60	24,70	7,00	1,04	1,29	10,00
3,21	2,03	1,07	2,34	0,30	2,87	9,59	0,85	1,15	21,79	1,09	9,59	26,01	7,13	0,76	1,23	10,00
2,83	1,76	0,93	1,93	0,26	2,26	8,81	0,79	1,18	22,13	1,16	10,30	27,89	7,03	0,80	1,18	10,00
2,86	1,79	0,97	2,11	0,25	2,64	8,40	0,66	1,27	20,35	0,99	9,83	27,52	9,26	1,11	1,43	15,00
2,91	1,78	0,86	1,73	0,22	2,15	8,19	0,71	1,18	21,53	1,09	9,90	27,98	9,01	0,72	1,49	15,00
2,70	1,68	0,88	1,81	0,23	2,28	8,57	0,74	1,20	21,51	1,09	9,93	27,37	9,36	0,72	1,43	15,00
2,91	1,98	1,09	2,51	0,29	3,19	9,58	0,77	1,19	21,41	0,95	8,79	24,38	9,65	1,13	1,37	15,00

Tabla A.I.12 Matriz de predicción para aceite de soja

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c onj	% Adulteración
3.37	2.10	1.14	2.48	0.29	3.11	9.89	0.77	1.50	23.09	1.16	11.02	26.27	1.75	1.30	1.69	0.00
3.71	2.05	0.97	1.93	0.26	2.40	9.41	0.83	1.37	24.45	1.30	10.98	27.01	1.58	0.86	1.79	0.00
4.16	2.37	1.24	2.66	0.27	3.04	10.79	0.78	1.18	24.17	0.87	10.65	24.20	1.93	0.59	1.28	0.00
3.80	2.22	1.18	2.63	0.30	3.30	10.49	0.86	1.26	24.35	1.11	10.36	24.16	2.00	0.92	1.39	0.00
3.11	2.15	1.23	2.84	0.32	3.60	10.84	0.87	1.44	23.52	1.12	10.06	24.20	2.88	1.09	1.45	2.00
3.65	2.20	1.13	2.45	0.29	3.08	10.59	0.90	1.30	24.28	1.24	10.03	24.71	2.70	0.96	1.11	2.00
3.61	2.26	1.17	2.55	0.31	3.18	10.68	0.89	1.34	24.23	1.18	9.88	24.45	2.65	1.03	1.27	2.00
3.82	2.09	1.16	2.64	0.31	3.32	10.79	0.93	1.29	24.45	1.08	9.75	23.57	2.90	1.23	1.13	2.00
3.68	2.11	1.09	2.37	0.29	3.00	10.12	0.86	1.17	23.50	1.16	10.33	25.25	6.14	1.19	1.18	5.00
3.25	1.87	0.92	1.78	0.23	2.14	9.06	0.82	1.20	23.71	1.26	11.37	27.93	5.91	1.00	1.33	5.00
4.06	2.10	1.16	2.60	0.30	3.20	10.57	0.89	1.15	24.13	1.09	9.76	22.81	4.35	1.22	0.94	5.00
3.63	2.12	1.08	2.29	0.26	2.77	10.30	0.82	1.34	23.84	1.17	10.02	23.73	4.53	1.50	1.40	5.00
3.54	1.92	0.94	1.91	0.25	2.45	9.36	0.89	1.14	23.09	1.14	9.57	25.33	6.93	1.26	1.39	10.00
3.44	1.94	0.98	2.04	0.24	2.51	9.13	0.68	1.36	22.41	0.98	10.27	24.94	6.99	1.69	1.56	10.00
3.52	2.03	1.05	2.29	0.27	2.88	9.54	0.79	1.14	22.55	1.09	9.76	24.44	7.04	1.45	0.99	10.00
3.87	2.02	1.00	2.06	0.25	2.54	8.80	0.71	1.13	22.06	1.01	10.27	25.23	7.18	1.50	1.22	10.00
2.91	1.78	0.86	1.73	0.22	2.15	8.19	0.71	1.18	22.24	1.09	10.04	25.72	9.53	1.55	1.49	15.00
3.04	1.66	0.80	1.59	0.18	1.93	7.39	0.55	1.27	21.16	1.05	10.90	26.87	9.61	1.83	1.73	15.00

Tabla A.I.13 Matriz de predicción para grasa de coco

C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2conj	Adulteración	%
3,16	2,12	1,09	2,32	0,29	2,89	10,05	0,80	1,63	24,52	1,15	10,88	25,62	1,47	1,22	1,80	0,00	0,00
3,71	2,27	1,22	2,71	0,35	3,46	10,79	1,01	1,23	24,02	1,23	9,98	25,02	1,59	0,72	1,24	0,00	0,00
3,83	2,23	1,16	2,50	0,32	3,13	10,68	1,00	1,16	23,91	1,22	10,24	25,32	1,85	0,67	1,30	0,00	0,00
3,77	2,29	1,19	2,58	0,31	3,18	10,77	0,93	1,23	24,92	1,21	9,83	24,49	1,75	0,78	1,24	0,00	0,00
3,11	1,94	1,19	2,22	0,27	3,53	10,25	0,85	1,38	24,00	1,26	10,91	26,42	1,33	0,74	1,65	2,00	2,00
3,33	2,01	1,24	2,42	0,30	3,85	10,01	0,84	1,57	23,72	1,16	11,04	25,88	1,37	0,66	1,44	2,00	2,00
3,84	2,21	1,32	2,63	0,29	3,95	10,73	0,86	1,24	23,74	1,18	10,21	24,72	1,71	0,82	1,08	2,00	2,00
3,30	2,02	1,27	2,56	0,27	3,75	10,21	0,76	1,29	23,90	1,25	10,43	25,22	1,89	1,25	1,43	2,00	2,00
3,50	2,19	1,58	2,82	0,30	5,37	11,27	0,86	1,30	23,67	1,14	9,58	23,54	1,55	0,86	1,23	5,00	5,00
4,06	2,10	1,61	2,94	0,30	5,48	11,49	0,89	1,15	24,03	1,09	9,63	22,10	1,65	0,87	0,94	5,00	5,00
3,07	1,76	1,35	2,18	0,23	4,38	9,48	0,74	1,32	22,91	1,24	11,12	27,71	1,59	0,74	1,39	5,00	5,00
3,30	2,15	1,57	2,76	0,28	5,04	10,70	0,79	1,12	24,82	0,99	10,08	23,25	1,79	0,91	0,93	5,00	5,00
3,03	1,89	1,93	2,92	0,26	7,37	10,74	0,69	1,35	21,50	1,04	10,11	24,04	1,68	1,17	1,52	10,00	10,00
3,42	2,00	1,96	3,06	0,27	7,54	11,28	0,77	1,14	22,64	1,00	9,52	22,14	1,90	0,83	1,25	10,00	10,00
3,28	2,00	2,01	3,16	0,28	7,23	11,48	0,83	1,48	22,24	1,01	9,47	22,38	1,85	0,95	1,46	10,00	10,00
3,16	1,92	1,92	2,89	0,24	6,72	11,04	0,72	1,20	22,52	1,07	10,21	23,26	1,92	1,07	1,18	10,00	10,00
2,91	1,98	2,44	3,54	0,29	10,04	12,33	0,77	1,19	21,67	0,95	8,57	20,46	1,58	1,05	1,37	15,00	15,00
3,40	1,85	2,25	2,87	0,20	9,05	10,91	0,58	1,17	21,04	1,02	10,28	22,71	1,73	0,69	1,31	15,00	15,00
3,09	1,99	2,48	3,55	0,29	9,35	11,96	0,78	1,15	21,89	1,01	8,86	20,55	1,93	1,10	1,14	15,00	15,00
3,10	1,66	2,17	2,59	0,21	8,14	10,45	0,72	1,12	21,35	1,20	10,21	25,26	1,40	0,51	1,60	15,00	15,00

Apéndice II

Tabla A.II.1 Matriz de correlación para grasa vacuna

	% A	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c
% A	1,000																
C4:0	-0,568	1,000															
C6:0	-0,639	0,741	1,000														
C8:0	-0,470	0,482	0,877	1,000													
C10:0	-0,339	0,338	0,768	0,975	1,000												
C10:1	-0,469	0,375	0,770	0,916	0,892	1,000											
C12:0	-0,344	0,296	0,735	0,955	0,988	0,920	1,000										
C14:0	-0,501	0,510	0,881	0,948	0,905	0,890	0,888	1,000									
C14:1	-0,034	0,146	0,430	0,544	0,535	0,707	0,578	0,669	1,000								
C15:0	-0,136	-0,169	-0,097	-0,183	-0,191	-0,105	-0,149	-0,187	-0,275	1,000							
C16:0	-0,228	0,201	0,349	0,323	0,267	0,342	0,269	0,410	0,358	-0,321	1,000						
C16:1	0,768	-0,557	-0,720	-0,675	-0,600	-0,526	-0,568	-0,593	0,063	-0,026	-0,288	1,000					
C18:0	0,284	-0,409	-0,755	-0,821	-0,796	-0,843	-0,804	-0,887	-0,815	0,200	-0,395	0,272	1,000				
C18:1	0,558	-0,613	-0,905	-0,938	-0,889	-0,821	-0,861	-0,926	-0,442	0,180	-0,484	0,764	0,750	1,000			
C18:2	-0,072	0,218	0,298	0,383	0,438	0,183	0,382	0,349	0,091	-0,427	-0,073	-0,220	-0,339	-0,399	1,000		
C18:3	-0,076	-0,043	0,135	0,187	0,235	0,055	0,206	0,122	-0,225	0,315	-0,241	-0,148	-0,135	-0,212	0,357	1,000	
C18:2c	0,146	-0,249	-0,367	-0,556	-0,587	-0,503	-0,573	-0,551	-0,435	0,624	-0,440	0,255	0,522	0,504	-0,471	0,232	1,000

Tabla A.II.2 Salida del Best Subset Regression Model para grasa vacuna
 Variables independientes: (A)C_{4:0} (B)C_{6:0} (C)C_{8:0} (D)C_{10:0} (E)C_{10:1} (F)C_{12:0} (G)C_{14:0}
 (H)C_{14:1} (I)C_{15:0} (J)C_{16:0} (K)C_{16:1} (L)C_{18:0} (M)C_{18:1} (N)C_{18:2} (O)C_{18:3} (P)C_{18:2 conj}

Se listan los 9 "mejores" modelos para cada tamaño de subset.

P	CP	R ² ajustado	R ²	SSE	Variables del modelo
1	238.4	0.0000	0.0000	1208.40	INTERCEPT ONLY
2	75.7	0.5813	0.5915	493.661	K
2	126.2	0.3955	0.4103	712.631	B
2	151.0	0.3043	0.3212	820.240	A
2	153.7	0.2941	0.3113	832.234	M
2	170.6	0.2318	0.2505	905.675	G
2	177.9	0.2050	0.2244	937.220	E
2	178.2	0.2040	0.2234	938.423	C
2	207.2	0.0970	0.1191	1064.53	F
2	208.7	0.0916	0.1138	1070.91	D
3	70.2	0.5988	0.6183	461.209	A K
3	71.2	0.5953	0.6150	465.179	D K
3	73.6	0.5860	0.6062	475.886	B K
3	73.8	0.5853	0.6055	476.721	I K
3	74.3	0.5836	0.6039	478.674	F K
3	74.8	0.5817	0.6021	480.794	K N
3	75.7	0.5782	0.5987	484.891	H K
3	75.9	0.5776	0.5982	485.550	E K
3	76.2	0.5763	0.5970	487.036	K L
4	33.0	0.7404	0.7594	290.793	D E K
4	38.8	0.7177	0.7383	316.208	D G K
4	39.0	0.7171	0.7378	316.837	E F K
4	39.1	0.7168	0.7376	317.143	D K L
4	42.1	0.7049	0.7265	330.522	C D K
4	51.7	0.6679	0.6922	371.956	D H K
4	52.9	0.6632	0.6879	377.177	C E K
4	53.0	0.6627	0.6874	377.765	F K L
4	53.1	0.6624	0.6871	378.097	B D K
5	23.5	0.7789	0.8005	241.090	D E G K
5	25.5	0.7712	0.7935	249.551	C D F K
5	26.3	0.7679	0.7905	253.105	D E K L
5	26.9	0.7657	0.7886	255.472	D F G K
5	27.9	0.7618	0.7850	259.807	D E K N
5	30.1	0.7529	0.7770	269.457	B D E K
5	30.3	0.7522	0.7764	270.226	C D E K
5	30.3	0.7520	0.7762	270.484	D E K O
5	33.1	0.7408	0.7661	282.667	D E G H
6	18.1	0.8032	0.8272	208.849	D E G H K
6	18.9	0.8001	0.8245	212.130	C D F K N
6	19.6	0.7970	0.8217	215.413	D E G K O
6	19.7	0.7967	0.8215	215.682	D E G J K

6	20.5	0.7935	0.8187	219.126	DEGKN
6	22.5	0.7853	0.8115	227.818	CDFGK
6	22.6	0.7850	0.8112	228.168	DEJKL
6	22.6	0.7848	0.8110	228.356	DFGJK
6	22.8	0.7840	0.8103	229.234	DEGKM
7	14.7	0.8203	0.8466	185.337	DEGHKN
7	14.8	0.8199	0.8463	185.766	DEFGHK
7	16.5	0.8129	0.8403	193.024	DEGHKM
7	16.5	0.8126	0.8400	193.311	DEGKOP
7	16.8	0.8115	0.8391	194.478	DEGHJK
7	17.0	0.8106	0.8383	195.412	DEGKMO
7	17.8	0.8075	0.8356	198.620	CDFGKN
7	18.1	0.8062	0.8345	199.952	DEGKNO
7	18.1	0.8059	0.8343	200.211	DEGJKN
8	9.3	0.8472	0.8733	153.096	DEFGHKN
8	10.8	0.8408	0.8680	159.569	DEGJKOP
8	11.1	0.8394	0.8668	160.970	DEGHKMN
8	12.7	0.8322	0.8609	168.122	DEGKMOP
8	13.3	0.8298	0.8588	170.568	DEFGHJK
8	13.9	0.8270	0.8566	173.326	CDFGHKN
8	14.0	0.8268	0.8563	173.597	DEFGHKM
8	14.0	0.8267	0.8563	173.627	DEGKMNO
8	14.6	0.8241	0.8541	176.307	DEGHJKN
9	6.6	0.8634	0.8901	132.812	DEFGHKMN
9	8.9	0.8532	0.8819	142.744	DEFGJKOP
9	9.2	0.8517	0.8806	144.274	DEFGHJKN
9	9.6	0.8501	0.8793	145.833	CDEFGHKN
9	10.0	0.8483	0.8779	147.548	CDFGHKMN
9	10.0	0.8481	0.8777	147.783	CDFGJKOP
9	10.6	0.8458	0.8759	149.986	DEFGHJKP
9	10.7	0.8450	0.8753	150.718	BCDFGHKN
9	10.8	0.8446	0.8749	151.148	ADEFGHKN
10	6.1	0.8706	0.8990	122.022	CDEFGHKMN
10	7.9	0.8624	0.8926	129.763	DEFGHKMNO
10	8.2	0.8611	0.8916	130.985	DEFGHJKOP
10	8.4	0.8601	0.8908	131.948	BDEFGHKMN
10	8.4	0.8600	0.8907	132.081	DEFGHKMNP
10	8.5	0.8596	0.8904	132.401	DEFGHKL MN
10	8.5	0.8594	0.8903	132.567	ADEFGHKMN
10	8.6	0.8593	0.8902	132.700	DEFGHJKMN
10	8.6	0.8592	0.8901	132.805	DEFGHIKMN
11	7.1	0.8712	0.9026	117.717	BCDEFGHKMN
11	7.5	0.8695	0.9013	119.243	CDEFGHKMNO
11	7.8	0.8678	0.9001	120.765	CDEFGHKMNP
11	8.0	0.8671	0.8995	121.386	ACDEFGHKMN
11	8.0	0.8671	0.8995	121.464	CDEFGHKL MN
11	8.1	0.8666	0.8991	121.897	CDEFGHJKMN
11	8.1	0.8665	0.8990	122.012	CDEFGHIKMN
11	8.5	0.8644	0.8975	123.922	DEFGHKMNOP

11	8.7	0.8637	0.8969	124.553	B C D E F G H J K N
12	7.8	0.8733	0.9073	111.994	C D E F G H K M N O P
12	8.5	0.8699	0.9048	115.000	B C D E F G H K M N O
12	8.9	0.8680	0.9034	116.681	A C D E F G H J K N P
12	9.0	0.8672	0.9029	117.390	B C D E F G H K M N P
12	9.1	0.8670	0.9027	117.561	B C D E F G H J K M N
12	9.1	0.8670	0.9027	117.579	C D E F G H K L M N O
12	9.1	0.8670	0.9027	117.584	B C D E F G H I K M N
12	9.1	0.8669	0.9026	117.707	B C D E F G H K L M N
12	9.1	0.8669	0.9026	117.717	A B C D E F G H K M N
13	9.1	0.8725	0.9098	108.967	C D E F G H K L M N O P
13	9.3	0.8714	0.9090	109.911	A C D E F G H J K N O P
13	9.5	0.8706	0.9085	110.596	B C D E F G H K M N O P
13	9.6	0.8698	0.9079	111.320	C D E F G H J K M N O P
13	9.8	0.8691	0.9074	111.883	A C D E F G H K M N O P
13	9.8	0.8690	0.9073	111.993	C D E F G H I K M N O P
13	10.1	0.8672	0.9061	113.507	A C D E F G H J K L M P
13	10.4	0.8659	0.9052	114.588	B C D E F G H K L M N O
13	10.4	0.8659	0.9052	114.609	B C D E F G H J K N O P
14	11.0	0.8683	0.9100	108.721	B C D E F G H K L M N O P
14	11.1	0.8680	0.9099	108.915	C D E F G H I K L M N O P
14	11.1	0.8680	0.9098	108.949	A C D E F G H K L M N O P
14	11.1	0.8680	0.9098	108.954	C D E F G H J K L M N O P
14	11.2	0.8676	0.9096	109.235	A B C D E F G H J K N O P
14	11.2	0.8675	0.9095	109.326	A C D E F G H J K M N O P
14	11.2	0.8675	0.9095	109.387	B C D E F G H J K M N O P
14	11.3	0.8671	0.9093	109.659	A C D E F G H J K L N O P
14	11.3	0.8669	0.9091	109.810	A C D E F G H J K L M N O
15	13.0	0.8636	0.9102	108.550	A B C D E F G H J K M N O P
15	13.0	0.8636	0.9102	108.567	B C D E F G H J K L M N O P
15	13.0	0.8635	0.9101	108.594	A C D E F G H I J K L M N O
15	13.0	0.8635	0.9101	108.605	A B C D E F G H K L M N O P
15	13.0	0.8635	0.9101	108.645	B C D E F G H I K L M N O P
15	13.0	0.8634	0.9101	108.669	A B C D E F G H J K L N O P
15	13.1	0.8632	0.9099	108.897	A C D E F G H I K L M N O P
15	13.1	0.8631	0.9099	108.910	C D E F G H I J K L M N O P
15	13.1	0.8631	0.9098	108.941	A B C D E F G H I J K L M P
16	15.0	0.8584	0.9102	108.522	A B C D E F G H I K L M N O P
16	15.0	0.8584	0.9102	108.524	B C D E F G H I J K L M N O P
16	15.0	0.8584	0.9102	108.533	A B C D E F G H J K L M N O P
16	15.0	0.8584	0.9102	108.541	A B C D E F G H I J K M N O P
16	15.0	0.8583	0.9102	108.564	A B C D E F G H I J K L N O P
16	15.0	0.8583	0.9101	108.588	A C D E F G H I J K L M N O P
16	15.0	0.8583	0.9101	108.589	A B C D E F G H I J K L M N O
16	15.1	0.8581	0.9100	108.740	A B C D E F G H I J K L M O P
16	15.1	0.8580	0.9099	108.837	A B C D E F G H I J K L M N P
17	17.0	0.8527	0.9102	108.521	A B C D E F G H I J K L M N O P

CASES INCLUDED 42 MISSING CASES 0

Tabla A.II.3 Matriz de correlación para grasa porcina

	% A	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c
% A	1,000																
C4:0	-0,571	1,000															
C6:0	-0,621	0,697	1,000														
C8:0	-0,489	0,412	0,842	1,000													
C10:0	-0,338	0,273	0,723	0,972	1,000												
C10:1	-0,366	0,272	0,688	0,905	0,900	1,000											
C12:0	-0,338	0,267	0,685	0,951	0,984	0,916	1,000										
C14:0	-0,469	0,502	0,847	0,909	0,862	0,862	0,854	1,000									
C14:1	-0,273	0,363	0,530	0,587	0,542	0,769	0,580	0,786	1,000								
C15:0	-0,531	0,226	0,318	0,194	0,105	0,115	0,142	0,158	-0,072	1,000							
C16:0	-0,035	0,043	0,214	0,160	0,139	0,183	0,088	0,263	0,335	-0,368	1,000						
C16:1	0,670	-0,406	-0,597	-0,525	-0,460	-0,392	-0,441	-0,462	-0,160	-0,445	-0,101	1,000					
C18:0	-0,086	-0,164	-0,524	-0,645	-0,672	-0,745	-0,676	-0,739	-0,750	0,176	-0,302	0,066	1,000				
C18:1	0,527	-0,586	-0,897	-0,934	-0,888	-0,795	-0,861	-0,913	-0,555	-0,214	-0,320	0,558	0,587	1,000			
C18:2	0,887	-0,411	-0,376	-0,190	-0,026	-0,129	-0,039	-0,217	-0,178	-0,557	-0,071	0,468	-0,317	0,246	1,000		
C18:3	0,050	-0,053	0,198	0,232	0,271	0,057	0,227	0,093	-0,316	0,327	-0,234	-0,125	-0,148	-0,241	0,187	1,000	
C18:2c	-0,304	0,088	-0,017	-0,227	-0,315	-0,271	-0,266	-0,263	-0,328	0,723	-0,529	-0,049	0,388	0,205	-0,435	0,287	1,000

Tabla A.II.4 Salida del Best Subset Regression Models para grasa porcina

Variables independientes: (A)C_{4:0} (B)C_{6:0} (C)C_{8:0} (D)C_{10:0} (E)C_{10:1} (F)C_{12:0}

(G)C_{14:0}

(H)C_{14:1} (I)C_{15:0} (J)C_{16:0} (K)C_{16:1} (L)C_{18:0} (M)C_{18:1} (N)C_{18:2} (O)C_{18:3} (P)C_{18:2} conj

Se listan los 9 "mejores" modelos para cada tamaño de subset.

P	CP	R ² Ajustado	R ²	SSE	Variables del Modelo
1	624.3	0.0000	0.0000	1208.40	INTERCEPT ONLY
2	104.2	0.7806	0.7860	258.633	N
2	328.9	0.4339	0.4477	667.379	K
2	373.4	0.3652	0.3807	748.397	B
2	410.0	0.3088	0.3256	814.895	A
2	442.0	0.2593	0.2774	873.204	M
2	442.1	0.2592	0.2772	873.395	I
2	468.6	0.2183	0.2373	921.602	C
2	480.3	0.2003	0.2198	942.776	G
2	526.8	0.1286	0.1498	1027.35	E
3	35.9	0.8862	0.8918	130.777	C N
3	38.4	0.8823	0.8880	135.331	M N
3	40.0	0.8798	0.8856	138.197	D N
3	42.6	0.8755	0.8816	143.056	B N
3	45.0	0.8718	0.8781	147.337	F N
3	50.0	0.8638	0.8705	156.513	K N
3	52.7	0.8596	0.8664	161.391	G N
3	62.9	0.8435	0.8511	179.905	E N
3	72.2	0.8288	0.8372	196.755	A N
4	23.6	0.9065	0.9133	104.756	C K N
4	26.0	0.9025	0.9096	109.232	K M N
4	26.7	0.9014	0.9086	110.407	D K N
4	28.4	0.8986	0.9061	113.511	J M N
4	28.8	0.8981	0.9055	114.167	A D N
4	28.8	0.8980	0.9055	114.236	F K N
4	28.9	0.8979	0.9054	114.332	B K N
4	29.4	0.8971	0.9046	115.299	A C N
4	31.0	0.8945	0.9022	118.178	G K N
5	18.6	0.9156	0.9238	92.0524	J K M N
5	18.9	0.9150	0.9233	92.6646	A C K N
5	19.0	0.9150	0.9233	92.7205	A D K N
5	20.5	0.9124	0.9209	95.5372	A F K N
5	21.6	0.9105	0.9192	97.5817	C J K N
5	23.9	0.9067	0.9158	101.725	C E K N
5	24.2	0.9063	0.9154	102.175	C H K N
5	24.2	0.9062	0.9154	102.249	A C H N
5	24.5	0.9058	0.9149	102.776	A D H N
6	13.4	0.9257	0.9347	78.8587	I J K M N
6	17.4	0.9187	0.9286	86.3050	A C J K N
6	17.8	0.9181	0.9281	86.9220	A D J K N

6	18.1	0.9176	0.9276	87.4313	A C H K N
6	18.5	0.9168	0.9269	88.2872	A D H K N
6	18.7	0.9165	0.9267	88.5626	J K M N P
6	19.4	0.9154	0.9257	89.7789	A E H K N
6	19.4	0.9154	0.9257	89.7812	C I J K N
6	19.4	0.9153	0.9256	89.8477	A C G K N
7	14.9	0.9244	0.9355	77.9552	F I J K M N
7	14.9	0.9244	0.9355	77.9928	H I J K M N
7	15.1	0.9241	0.9352	78.3145	D I J K M N
7	15.1	0.9241	0.9352	78.3235	G I J K M N
7	15.1	0.9240	0.9351	78.3815	A I J K M N
7	15.2	0.9239	0.9350	78.5241	I J K M N P
7	15.2	0.9239	0.9350	78.5347	I J K L M N
7	15.2	0.9238	0.9349	78.6237	B I J K M N
7	15.3	0.9236	0.9348	78.7975	I J K M N O
8	13.7	0.9279	0.9402	72.2979	H I J K L M N
8	15.2	0.9252	0.9380	74.9806	G I J K L M N
8	16.2	0.9233	0.9364	76.8543	F I J K L M N
8	16.3	0.9232	0.9363	76.9803	A C H I J K N
8	16.4	0.9230	0.9362	77.1406	C F I J K M N
8	16.5	0.9229	0.9361	77.2396	E F I J K M N
8	16.5	0.9229	0.9360	77.2883	C D I J K M N
8	16.6	0.9227	0.9359	77.4616	A H I J K M N
8	16.6	0.9226	0.9358	77.5794	D I J K L M N
9	13.9	0.9291	0.9429	68.9465	H I J K L M N O
9	15.0	0.9271	0.9413	70.9118	A H I J K L M N
9	15.1	0.9268	0.9411	71.1873	D H I J K L M N
9	15.2	0.9267	0.9410	71.3079	F H I J K L M N
9	15.4	0.9263	0.9407	71.6562	C H I J K L M N
9	15.5	0.9262	0.9406	71.8098	H I J K L M N P
9	15.6	0.9259	0.9404	72.0549	G H I J K L M N
9	15.7	0.9258	0.9402	72.2143	B H I J K L M N
9	15.7	0.9257	0.9402	72.2965	E H I J K L M N
10	15.1	0.9284	0.9441	67.5507	F H I J K L M N O
10	15.2	0.9282	0.9440	67.6852	D H I J K L M N O
10	15.3	0.9281	0.9439	67.8180	C H I J K L M N O
10	15.4	0.9278	0.9437	68.0561	A H I J K L M N O
10	15.7	0.9273	0.9433	68.5482	B H I J K L M N O
10	15.7	0.9273	0.9432	68.6068	H I J K L M N O P
10	15.8	0.9272	0.9431	68.7047	A E G H I J K L N
10	15.8	0.9271	0.9431	68.7438	G H I J K L M N O
10	15.9	0.9269	0.9430	68.9203	E H I J K L M N O
11	14.9	0.9306	0.9475	63.4021	B F H I J K L M N O
11	15.9	0.9286	0.9460	65.2470	B D H I J K L M N O
11	16.1	0.9281	0.9456	65.7180	D E H I J K L M N P
11	16.3	0.9278	0.9454	66.0121	E F H I J K L M N O
11	16.3	0.9277	0.9453	66.0904	D E H I J K L M N O
11	16.4	0.9276	0.9453	66.1504	D H I J K L M N O P
11	16.4	0.9275	0.9452	66.2126	C H I J K L M N O P
11	16.5	0.9273	0.9450	66.4512	A B H I J K L M N O

11	16.5	0.9272	0.9450	66.4826	FHIJKLMNOP
12	14.8	0.9325	0.9506	59.7019	BEFHJKLMNOP
12	16.0	0.9300	0.9488	61.8998	BFHIJKLMNOP
12	16.3	0.9294	0.9483	62.4297	BCFHJKLMNOP
12	16.7	0.9287	0.9478	63.0629	ABFHJKLMNOP
12	16.7	0.9287	0.9478	63.0718	BFGHIJKLMNOP
12	16.7	0.9286	0.9478	63.1294	BDHIJKLMNOP
12	16.7	0.9286	0.9477	63.1653	BDEHIJKLMNP
12	16.7	0.9285	0.9477	63.1889	BDFHIJKLMNOP
12	16.8	0.9285	0.9477	63.2454	BDEHIJKLMNOP
13	14.3	0.9355	0.9544	55.1308	ABFGIJKLMNOP
13	15.7	0.9324	0.9522	57.7453	BEFHJKLMNOP
13	16.7	0.9305	0.9508	59.4461	BDEHIJKLMNOP
13	16.7	0.9304	0.9508	59.4680	ABEFHIJKLMNOP
13	16.8	0.9302	0.9506	59.6489	BCEFHIJKLMNOP
13	16.8	0.9302	0.9506	59.6903	BEFGHIJKLMNOP
13	16.8	0.9302	0.9506	59.6922	BDEFHIJKLMNOP
13	17.1	0.9295	0.9502	60.2326	ADFGIJKLMNOP
13	17.2	0.9293	0.9500	60.4362	BFGHIJKLMNOP
14	12.1	0.9425	0.9607	47.4331	ABDFGIJKLMNOP
14	15.1	0.9359	0.9563	52.8667	ABFGHIJKLMNOP
14	15.6	0.9347	0.9554	53.9302	ABEFGIJKLMNOP
14	15.7	0.9346	0.9553	54.0103	ABCFGIJKLMNOP
14	17.1	0.9315	0.9532	56.5245	ABDGHJKLMNOP
14	17.4	0.9309	0.9528	57.0275	BDEFHIJKLMNOP
14	17.6	0.9304	0.9524	57.4613	BEFGHIJKLMNOP
14	17.6	0.9303	0.9524	57.4903	BCEFHIJKLMNOP
14	17.6	0.9303	0.9524	57.5310	ABEFHIJKLMNOP
15	13.3	0.9422	0.9619	46.0094	ABDFGHIJKLMNOP
15	13.6	0.9414	0.9614	46.6251	ABDEFGIJKLMNOP
15	13.8	0.9410	0.9611	46.9678	ABCDFGIJKLMNOP
15	16.5	0.9348	0.9571	51.8571	ABCFGHIJKLMNOP
15	17.1	0.9336	0.9563	52.8655	ABEFGHIJKLMNOP
15	17.3	0.9331	0.9559	53.2700	ABCEFGIJKLMNOP
15	18.7	0.9299	0.9538	55.7831	ABCDGHIJKLMNOP
15	18.7	0.9299	0.9538	55.8057	ABDEFHIJKLMNOP
15	18.9	0.9294	0.9535	56.1828	ABDEGHIJKLMNOP
16	15.1	0.9405	0.9623	45.6036	ABCDFGHIJKLMNOP
16	15.1	0.9403	0.9621	45.7398	ABCDEFGIJKLMNOP
16	15.3	0.9400	0.9619	46.0041	ABDEFGHIJKLMNOP
16	18.5	0.9324	0.9572	51.7680	ABCEFGHIJKLMNOP
16	20.6	0.9273	0.9539	55.7162	ABCDEGHIJKLMNOP
16	20.7	0.9272	0.9538	55.8047	ABCDEFHIJKLMNOP
16	21.3	0.9257	0.9529	56.9297	BCDEFGHIJKLMNOP
16	21.5	0.9253	0.9526	57.2194	ACDEFGHIJKLMNOP
16	22.3	0.9234	0.9514	58.6852	ABCDEFGHIJKLMNOP
17	17.0	0.9383	0.9624	45.4762	ABCDEFGHIJKLMNOP

CASES INCLUDED 42 MISSING CASES 0

Tabla A.II.5 Matriz de correlación para aceite de girasol

	% A	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c
% A	1,000																
C4:0	-0,714	1,000															
C6:0	-0,732	0,766	1,000														
C8:0	-0,547	0,502	0,869	1,000													
C10:0	-0,390	0,337	0,744	0,968	1,000												
C10:1	-0,360	0,320	0,699	0,892	0,909	1,000											
C12:0	-0,374	0,286	0,690	0,938	0,984	0,934	1,000										
C14:0	-0,651	0,607	0,895	0,925	0,859	0,804	0,829	1,000									
C14:1	-0,388	0,377	0,618	0,700	0,668	0,791	0,689	0,815	1,000								
C15:0	-0,562	0,277	0,301	0,148	0,053	0,100	0,092	0,209	-0,030	1,000							
C16:0	-0,882	0,659	0,776	0,614	0,466	0,468	0,427	0,743	0,560	0,343	1,000						
C16:1	-0,613	0,245	0,180	0,079	-0,026	0,098	0,008	0,237	0,373	0,320	0,527	1,000					
C18:0	-0,543	0,265	-0,048	-0,306	-0,432	-0,479	-0,432	-0,235	-0,438	0,479	0,257	0,408	1,000				
C18:1	0,367	-0,503	-0,718	-0,788	-0,762	-0,710	-0,742	-0,802	-0,639	-0,197	-0,510	0,018	0,390	1,000			
C18:2	0,969	-0,680	-0,737	-0,566	-0,417	-0,389	-0,392	-0,652	-0,385	-0,486	-0,872	-0,570	-0,503	0,263	1,000		
C18:3	-0,573	0,307	0,457	0,384	0,326	0,236	0,303	0,386	-0,001	0,624	0,415	0,214	0,259	-0,263	-0,564	1,000	
C18:2c	-0,345	0,146	-0,001	-0,200	-0,286	-0,239	-0,250	-0,181	-0,355	0,797	0,053	0,309	0,570	0,183	-0,295	0,504	1,000

Tabla A.II.6 Salida del Best Subset Regression Models para aceite de girasol

Variables independientes: (A)C_{4:0} (B)C_{6:0} (C)C_{8:0} (D)C_{10:0} (E)C_{10:1} (F)C_{12:0} (G)C_{14:0} (H)C_{14:1} (I)C_{15:0} (J)C_{16:0} (K)C_{16:1} (L)C_{18:0} (M)C_{18:1} (N)C_{18:2} (O)C_{18:3} (P)C_{18:2 conj}

Se listan los 9 "mejores" modelos para cada tamaño de subset.

P	CP	R ² Ajustado	R ²	SSE	Variables del Modelo
1	4365.6	0.0000	0.0000	1251.14	INTERCEPT ONLY
2	231.8	0.9372	0.9388	76.6088	N
2	940.3	0.7724	0.7779	277.827	J
2	2002.0	0.5254	0.5369	579.343	B
2	2121.6	0.4976	0.5098	613.297	A
2	2498.9	0.4098	0.4242	720.444	G
2	2727.1	0.3567	0.3724	785.246	K
2	2919.6	0.3119	0.3287	839.910	O
2	2978.2	0.2983	0.3154	856.566	I
2	3048.5	0.2819	0.2994	876.538	C
3	174.4	0.9498	0.9522	59.7565	M N
3	185.4	0.9472	0.9497	62.8818	I N
3	208.5	0.9417	0.9445	69.4365	J N
3	208.7	0.9416	0.9445	69.4951	K N
3	209.1	0.9415	0.9444	69.6059	A N
3	216.1	0.9398	0.9428	71.5950	L N
3	216.3	0.9398	0.9427	71.6377	N P
3	228.9	0.9368	0.9399	75.2336	N O
3	230.6	0.9364	0.9395	75.7248	B N
4	41.9	0.9814	0.9828	21.5616	L M N
4	66.9	0.9753	0.9771	28.6501	C M N
4	74.9	0.9733	0.9753	30.9327	D M N
4	82.2	0.9715	0.9736	33.0056	G M N
4	101.2	0.9669	0.9693	38.3948	E M N
4	101.3	0.9669	0.9693	38.4373	F M N
4	110.8	0.9645	0.9671	41.1291	G L N
4	119.6	0.9624	0.9651	43.6258	B M N
4	130.7	0.9597	0.9626	46.7715	K M N
5	6.0	0.9904	0.9914	10.7947	K L M N
5	25.3	0.9856	0.9870	16.2748	H L M N
5	33.2	0.9836	0.9852	18.5269	C L M N
5	34.4	0.9833	0.9849	18.8514	D L M N
5	37.6	0.9825	0.9842	19.7657	B L M N
5	41.0	0.9816	0.9834	20.7308	F L M N
5	41.3	0.9816	0.9834	20.8115	J L M N
5	41.4	0.9815	0.9833	20.8379	L M N P
5	42.6	0.9812	0.9831	21.1725	A L M N
6	6.8	0.9905	0.9916	10.4596	K L M N O
6	7.1	0.9904	0.9916	10.5386	D K L M N
6	7.2	0.9904	0.9916	10.5643	C K L M N

6	7.2	0.9904	0.9915	10.5781	K L M N P
6	7.6	0.9903	0.9915	10.6743	I K L M N
6	7.6	0.9903	0.9915	10.6755	H K L M N
6	7.7	0.9902	0.9914	10.7170	B K L M N
6	7.8	0.9902	0.9914	10.7296	E K L M N
6	7.9	0.9902	0.9914	10.7519	F K L M N
7	6.1	0.9909	0.9923	9.69131	H K L M N O
7	7.0	0.9907	0.9921	9.93373	D F K L M N
7	7.8	0.9905	0.9919	10.1734	D K L M N O
7	8.0	0.9904	0.9918	10.2268	H K L M N P
7	8.0	0.9904	0.9918	10.2376	C K L M N O
7	8.4	0.9903	0.9917	10.3352	B K L M N O
7	8.5	0.9903	0.9917	10.3764	D K L M N P
7	8.6	0.9903	0.9917	10.4004	C K L M N P
7	8.6	0.9903	0.9917	10.4066	F K L M N O
8	6.9	0.9910	0.9925	9.34357	G H K L M N O
8	7.3	0.9909	0.9924	9.46613	D H K L M N O
8	7.5	0.9908	0.9924	9.50195	B H K L M N O
8	7.6	0.9908	0.9924	9.53581	H J K L M N O
8	7.6	0.9908	0.9924	9.55106	D F K L M N O
8	7.6	0.9908	0.9924	9.55375	C H K L M N O
8	7.7	0.9908	0.9924	9.55718	E H K L M N O
8	7.8	0.9907	0.9923	9.60416	F H K L M N O
8	7.8	0.9907	0.9923	9.60478	H K L M N O P
9	7.6	0.9911	0.9928	8.97287	E G H K L M N O
9	8.2	0.9909	0.9927	9.13440	B G H K L M N O
9	8.5	0.9908	0.9926	9.22582	D F H K L M N O
9	8.5	0.9908	0.9926	9.23630	D G H K L M N O
9	8.6	0.9908	0.9926	9.26242	B H J K L M N O
9	8.7	0.9908	0.9926	9.29527	F G H K L M N O
9	8.8	0.9908	0.9926	9.30203	G H J K L M N O
9	8.8	0.9908	0.9926	9.30296	C G H K L M N O
9	8.8	0.9908	0.9926	9.30663	G H I K L M N O
10	8.1	0.9912	0.9932	8.55670	E F G H K L M N O
10	8.7	0.9911	0.9930	8.72699	C E G H K L M N O
10	9.1	0.9910	0.9929	8.83387	B E G H K L M N O
10	9.1	0.9909	0.9929	8.84235	D E G H K L M N O
10	9.4	0.9909	0.9929	8.92112	E G H J K L M N O
10	9.4	0.9909	0.9929	8.92771	A E G H K L M N O
10	9.5	0.9908	0.9929	8.93803	A E G H J K L M N
10	9.5	0.9908	0.9928	8.94749	E G H K L M N O P
10	9.6	0.9908	0.9928	8.96792	E G H I K L M N O
11	8.2	0.9915	0.9936	8.01371	B E F G H K L M N O
11	9.8	0.9911	0.9932	8.45250	D E F G H K L M N O
11	9.9	0.9910	0.9932	8.48440	C E F G H K L M N O
11	9.9	0.9910	0.9932	8.49903	E F G H K L M N O P
11	10.1	0.9910	0.9932	8.54593	E F G H J K L M N O
11	10.1	0.9910	0.9932	8.54679	A B E F H J K L O P
11	10.1	0.9910	0.9932	8.54873	E F G H I K L M N O
11	10.1	0.9910	0.9932	8.55669	A E F G H K L M N O

11	10.2	0.9909	0.9931	8.57410	BDEGHKLMNO
12	7.8	0.9920	0.9941	7.32786	ABEFHJKLMOP
12	8.2	0.9919	0.9941	7.43566	ABEFHJKLNOP
12	9.7	0.9914	0.9937	7.85717	BDEFGHJKLMNO
12	9.8	0.9914	0.9937	7.90521	BEFGHJKLMNO
12	9.9	0.9913	0.9937	7.93275	ABEFGHJKLMNO
12	10.2	0.9913	0.9936	7.99621	BEFGHIJKLMNO
12	10.2	0.9913	0.9936	7.99759	BEFGHJKLMNOP
12	10.2	0.9913	0.9936	7.99875	CDEFGHJKLMNO
12	10.2	0.9913	0.9936	8.00677	BCEFGHJKLMNO
13	9.7	0.9918	0.9942	7.28676	ABCEFHIJKLMOP
13	9.8	0.9917	0.9941	7.32145	ABEFHJKLMNOP
13	9.8	0.9917	0.9941	7.32732	ABDEFHJKLMOP
13	9.8	0.9917	0.9941	7.32772	ABEFHIJKLMOP
13	9.8	0.9917	0.9941	7.32786	ABEFGHJKLMOP
13	10.0	0.9917	0.9941	7.38010	ABEFGHJKLNOP
13	10.1	0.9916	0.9941	7.41671	ABEFHIJKLNOP
13	10.1	0.9916	0.9941	7.41802	ABDEFHJKLNOP
13	10.2	0.9916	0.9941	7.43161	ABCEFHIJKLNOP
14	11.5	0.9915	0.9942	7.23617	ABCEFHIJKLMNOP
14	11.5	0.9915	0.9942	7.25033	ABCDEFHJKLMOP
14	11.6	0.9915	0.9942	7.27901	ABCEFGHJKLMOP
14	11.6	0.9915	0.9942	7.28274	ABEFGHJKLMNOP
14	11.7	0.9915	0.9942	7.28668	ABCEFHIJKLMOP
14	11.7	0.9914	0.9942	7.31234	ABDEFHJKLMNOP
14	11.8	0.9914	0.9941	7.32120	ABEFHIJKLMNOP
14	11.8	0.9914	0.9941	7.32723	ABDEFGHJKLMOP
14	11.8	0.9914	0.9941	7.32726	ABDEFHIJKLMOP
15	13.2	0.9913	0.9943	7.14807	ABCEFGHJKLMNOP
15	13.4	0.9912	0.9942	7.21646	ABDEFGHJKLMNOP
15	13.4	0.9912	0.9942	7.21984	ABCEFHIJKLMNOP
15	13.4	0.9912	0.9942	7.22447	ABCDEFHJKLMNOP
15	13.5	0.9912	0.9942	7.24743	ABCDEFGHJKLMOP
15	13.5	0.9912	0.9942	7.24975	ABCDEFHIJKLMOP
15	13.6	0.9912	0.9942	7.27664	ABCEFGHIJKLMOP
15	13.6	0.9912	0.9942	7.28272	ABEFGHIJKLMNOP
15	13.7	0.9911	0.9942	7.29837	ABCDEFGHJKLNOP
16	15.1	0.9910	0.9943	7.12739	ABCEFGHIJKLMNOP
16	15.2	0.9910	0.9943	7.14477	ABCDEFGHJKLMNOP
16	15.2	0.9910	0.9943	7.16992	ABDEFGHIJKLMNOP
16	15.4	0.9909	0.9942	7.21657	ABCDEFHIJKLMNOP
16	15.5	0.9909	0.9942	7.24743	ABCDEFGHIJKLMOP
16	15.7	0.9908	0.9942	7.29543	ABCDEFGHIJKLNOP
16	16.4	0.9905	0.9940	7.51021	BCDEFGHIJKLMNOP
16	16.8	0.9904	0.9939	7.61354	ABCDEFGHIJKLMNO
16	16.8	0.9904	0.9939	7.61534	ABCDEFGHIJKLMNOP
17	17.0	0.9907	0.9943	7.09966	ABCDEFGHIJKLMNOP

CASES INCLUDED 42 MISSING CASES 0

Tabla A.II.7 Matriz de correlación para aceite de soja

	% A	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c
% A	1,000																
C4:0	-0,625	1,000															
C6:0	-0,721	0,722	1,000														
C8:0	-0,640	0,477	0,910	1,000													
C10:0	-0,518	0,330	0,820	0,974	1,000												
C10:1	-0,469	0,294	0,772	0,917	0,925	1,000											
C12:0	-0,476	0,281	0,764	0,944	0,985	0,928	1,000										
C14:0	-0,731	0,520	0,915	0,932	0,874	0,839	0,840	1,000									
C14:1	-0,511	0,327	0,652	0,694	0,641	0,771	0,641	0,827	1,000								
C15:0	-0,586	0,383	0,399	0,294	0,215	0,206	0,236	0,366	0,137	1,000							
C16:0	-0,803	0,428	0,729	0,671	0,571	0,542	0,504	0,758	0,591	0,300	1,000						
C16:1	-0,562	0,239	0,104	0,054	-0,058	0,000	-0,076	0,230	0,372	0,225	0,371	1,000					
C18:0	-0,370	0,189	-0,213	-0,346	-0,423	-0,509	-0,440	-0,298	-0,453	0,341	0,015	0,314	1,000				
C18:1	-0,177	-0,043	-0,470	-0,585	-0,667	-0,593	-0,658	-0,460	-0,306	0,140	-0,125	0,543	0,784	1,000			
C18:2	0,983	-0,580	-0,664	-0,580	-0,451	-0,420	-0,412	-0,684	-0,500	-0,601	-0,789	-0,605	-0,384	-0,217	1,000		
C18:3	0,688	-0,405	-0,279	-0,194	-0,073	-0,122	-0,051	-0,346	-0,441	-0,212	-0,580	-0,632	-0,453	-0,450	0,734	1,000	
C18:2c	-0,405	0,293	0,132	0,000	-0,085	-0,047	-0,048	0,067	-0,052	0,778	0,030	0,379	0,408	0,388	-0,433	-0,168	1,000

Tabla A.II.8 Salida del Best Subset Regression Models para aceite de soja

Variables independientes: (A)C_{4:0} (B)C_{6:0} (C)C_{8:0} (D)C_{10:0} (E)C_{10:1} (F)C_{12:0}
 (G)C_{14:0}
 (H)C_{14:1} (I)C_{15:0} (J)C_{16:0} (K)C_{16:1} (L)C_{18:0} (M)C_{18:1} (N)C_{18:2} (O)C_{18:3} (P)C_{18:2 conj}

Se listan los 9 "mejores" modelos para cada tamaño de subset.

P	CP	R ² Ajustado	R ²	SSE	Variables del Modelo
1	11973.3	0.0000	0.0000	1251.14	INTERCEPT ONLY
2	371.2	0.9651	0.9659	42.6134	N
2	4215.1	0.6371	0.6460	442.944	J
2	5534.7	0.5245	0.5361	580.381	G
2	5719.5	0.5088	0.5207	599.627	B
2	6297.2	0.4595	0.4726	659.790	O
2	7173.9	0.3847	0.3997	751.094	C
2	7292.6	0.3745	0.3898	763.455	A
2	7819.7	0.3296	0.3459	818.347	I
2	8117.5	0.3042	0.3211	849.371	K
3	270.8	0.9731	0.9745	31.9551	B N
3	281.9	0.9722	0.9735	33.1132	C N
3	289.9	0.9715	0.9729	33.9433	D N
3	294.0	0.9711	0.9725	34.3671	G N
3	300.6	0.9705	0.9720	35.0539	F N
3	318.7	0.9690	0.9705	36.9447	A N
3	336.6	0.9674	0.9690	38.8096	E N
3	343.5	0.9668	0.9684	39.5202	N O
3	348.1	0.9664	0.9680	39.9994	J N
4	161.1	0.9825	0.9838	20.3184	G L N
4	189.9	0.9799	0.9814	23.3148	C M N
4	192.2	0.9797	0.9812	23.5604	C L N
4	208.4	0.9782	0.9798	25.2485	B M N
4	210.0	0.9781	0.9797	25.4066	B L N
4	224.7	0.9768	0.9785	26.9388	D L N
4	225.9	0.9767	0.9784	27.0654	D M N
4	247.7	0.9747	0.9765	29.3400	C E N
4	248.7	0.9746	0.9765	29.4383	A D N
5	117.4	0.9862	0.9876	15.5595	B D M N
5	124.1	0.9856	0.9870	16.2567	G H M N
5	135.9	0.9845	0.9860	17.4870	B F M N
5	137.8	0.9843	0.9859	17.6815	C E M N
5	142.8	0.9839	0.9854	18.2093	B C M N
5	143.7	0.9838	0.9854	18.3007	A D M N
5	145.7	0.9836	0.9852	18.5019	G L M N
5	148.0	0.9834	0.9850	18.7421	C L M N
5	148.3	0.9834	0.9850	18.7772	C G L N
6	75.8	0.9900	0.9912	11.0158	B D E M N
6	87.1	0.9889	0.9903	12.1927	B D L M N
6	87.4	0.9889	0.9902	12.2304	C G H M N

6	94.0	0.9882	0.9897	12.9178	C G L M N
6	97.5	0.9879	0.9894	13.2830	D G H M N
6	98.4	0.9878	0.9893	13.3747	B G H M N
6	99.9	0.9877	0.9892	13.5245	A D J M N
6	101.2	0.9876	0.9891	13.6666	B E F M N
6	102.9	0.9874	0.9889	13.8452	B F L M N
7	57.6	0.9917	0.9929	8.91434	B D E J M N
7	59.7	0.9914	0.9927	9.13707	A D G H M N
7	60.5	0.9914	0.9926	9.22206	B D J L M N
7	63.0	0.9911	0.9924	9.47223	B D G H M N
7	63.3	0.9911	0.9924	9.50565	B D G L M N
7	64.1	0.9910	0.9923	9.59419	B F J L M N
7	67.0	0.9907	0.9921	9.89473	B E F J M N
7	67.5	0.9907	0.9920	9.94932	B F G H M N
7	69.7	0.9905	0.9919	10.1778	A C G H M N
8	26.2	0.9948	0.9957	5.43512	A D G H J M N
8	27.3	0.9946	0.9956	5.55582	A F G H J M N
8	39.1	0.9935	0.9946	6.77828	A D G J L M N
8	41.4	0.9932	0.9944	7.02443	B D G J L M N
8	43.6	0.9930	0.9942	7.24371	B F G J L M N
8	45.8	0.9928	0.9940	7.47294	B F G H J M N
8	47.8	0.9926	0.9939	7.68860	B D G H J M N
8	47.8	0.9926	0.9939	7.68920	A C G H J M N
8	47.9	0.9926	0.9938	7.69984	B D E I J M N
9	8.1	0.9967	0.9973	3.33986	A D G J L M N O
9	11.7	0.9963	0.9970	3.71489	A F G J L M N O
9	20.9	0.9954	0.9963	4.67293	A D G H J L M N
9	22.4	0.9952	0.9961	4.83137	A F G H J L M N
9	25.2	0.9949	0.9959	5.12377	A C D G H J M N
9	25.9	0.9948	0.9958	5.19743	A D G H J M N O
9	26.1	0.9948	0.9958	5.22286	A D F G H J M N
9	26.4	0.9948	0.9958	5.25154	A D G H I J M N
9	26.8	0.9947	0.9958	5.29436	A C G J L M N O
10	8.3	0.9968	0.9975	3.15272	A C D G J L M N O
10	8.4	0.9968	0.9975	3.16900	A D E G J L M N O
10	8.6	0.9967	0.9975	3.18258	A D G J L M N O P
10	8.9	0.9967	0.9974	3.21522	A D F G J L M N O
10	9.1	0.9967	0.9974	3.23706	A D G J K L M N O
10	9.8	0.9966	0.9974	3.31004	A D G H J L M N O
10	10.0	0.9966	0.9973	3.33368	A B D G J L M N O
10	10.0	0.9966	0.9973	3.33540	A D G I J L M N O
10	11.7	0.9964	0.9972	3.50590	A F G J K L M N O
11	7.8	0.9969	0.9977	2.89893	A D E G J L M N O P
11	8.5	0.9969	0.9976	2.97002	A C D G J L M N O P
11	8.6	0.9969	0.9976	2.97806	A D E F G J L M N O
11	9.3	0.9968	0.9976	3.05631	A C D E G J L M N O
11	9.4	0.9968	0.9975	3.06596	A C D G J K L M N O
11	9.4	0.9968	0.9975	3.06632	A D F G J K L M N O
11	9.4	0.9968	0.9975	3.06643	A C D F G J L M N O
11	9.6	0.9967	0.9975	3.07981	A D G J K L M N O P

11	9.8	0.9967	0.9975	3.10644	ADEGIJLMNO
12	8.7	0.9970	0.9978	2.78562	ACDEGJLMNOP
12	9.1	0.9969	0.9977	2.82437	DEFEGJLMNOP
12	9.5	0.9969	0.9977	2.85967	ADEGHJLMNOP
12	9.7	0.9969	0.9977	2.88024	ADEGJKLMNPO
12	9.7	0.9968	0.9977	2.88436	ACDGJKLMNPO
12	9.7	0.9968	0.9977	2.88846	ADEGIJLMNOP
12	9.8	0.9968	0.9977	2.89848	ABDEGJLMNOP
12	9.9	0.9968	0.9977	2.90330	ACDGIJLMNOP
12	10.0	0.9968	0.9977	2.91449	ACDEFGJLMNO
13	10.3	0.9969	0.9978	2.74371	ACDEFGJLMNOP
13	10.5	0.9969	0.9978	2.76366	ACDEGJKLMNPO
13	10.6	0.9969	0.9978	2.76797	ACDEGHJLMNOP
13	10.6	0.9969	0.9978	2.76867	ABCDEGJLMNOP
13	10.6	0.9969	0.9978	2.76921	ACDEGIJLMNOP
13	10.8	0.9968	0.9978	2.79114	ACDEFGJKLMNPO
13	10.8	0.9968	0.9978	2.79115	ADEFGIJLMNOP
13	10.9	0.9968	0.9978	2.80315	ABCDFGJKLMNO
13	11.0	0.9968	0.9978	2.80762	ADEFGHJLMNOP
14	11.9	0.9968	0.9978	2.69247	ABCDEFEGJKLMNO
14	12.0	0.9968	0.9978	2.70621	ABCDEFEGJLMNOP
14	12.0	0.9968	0.9978	2.70856	ACDEFGIJLMNOP
14	12.0	0.9968	0.9978	2.71054	ACDEFGJKLMNPO
14	12.2	0.9968	0.9978	2.72357	ABCDEGJKLMNPO
14	12.3	0.9968	0.9978	2.73612	ACDEFGHJLMNOP
14	12.3	0.9968	0.9978	2.74377	ABCDEGHJLMNOP
14	12.4	0.9968	0.9978	2.74653	ABCDFGHJKLMNO
14	12.4	0.9968	0.9978	2.75026	ACDEGHIJLMNOP
15	13.1	0.9968	0.9979	2.61794	ABCDEFEGJKLMNPO
15	13.7	0.9968	0.9979	2.67450	ABCDEFGIJLMNOP
15	13.8	0.9967	0.9979	2.68602	ACDEFGIJKLMNPO
15	13.8	0.9967	0.9979	2.68617	ABCDEFEGHJKLMNO
15	13.8	0.9967	0.9979	2.68705	ABCDEFGIJKLMNO
15	13.9	0.9967	0.9978	2.69404	ABCDEFEGHJLMNOP
15	13.9	0.9967	0.9978	2.70179	ACDEFGHIJLMNOP
15	14.0	0.9967	0.9978	2.70883	ABCDEGHJKLMNPO
15	14.0	0.9967	0.9978	2.70909	ACDEFGHJKLMNPO
16	15.0	0.9967	0.9979	2.60521	ABCDEFGIJKLMNPO
16	15.1	0.9967	0.9979	2.61663	ABCDEFEGHJKLMNO
16	15.6	0.9966	0.9979	2.66354	ABCDEFGHIJLMNOP
16	15.8	0.9966	0.9979	2.68291	ABCDEFEGHIJKLMNO
16	15.8	0.9966	0.9979	2.68423	ACDEFGHIJKLMNPO
16	15.9	0.9966	0.9978	2.69574	ABCDFGHIJKLMNPO
16	16.0	0.9966	0.9978	2.70462	ABCDEGHIJKLMNPO
16	16.3	0.9965	0.9978	2.73899	ABDEFGHIJKLMNPO
16	19.7	0.9961	0.9975	3.08922	ABCDFGHIJKLMNPO
17	17.0	0.9966	0.9979	2.60366	ABCDEFEGHIJKLMNO

CASES INCLUDED 42 MISSING CASES 0

Tabla A.II.9 Matriz de correlación para grasa de coco

	% A	C4:0	C6:0	C8:0	C10:0	C10:1	C12:0	C14:0	C14:1	C15:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3	C18:2c
% A	1,000																
C4:0	-0,452	1,000															
C6:0	-0,696	0,660	1,000														
C8:0	0,976	-0,411	-0,557	1,000													
C10:0	0,555	-0,218	0,024	0,718	1,000												
C10:1	-0,630	0,302	0,792	-0,463	0,234	1,000											
C12:0	0,982	-0,433	-0,600	0,994	0,685	-0,505	1,000										
C14:0	0,429	-0,020	0,212	0,587	0,859	0,280	0,551	1,000									
C14:1	-0,671	0,323	0,677	-0,575	-0,088	0,793	-0,608	0,208	1,000								
C15:0	-0,577	0,262	0,439	-0,578	-0,383	0,324	-0,593	-0,334	0,232	1,000							
C16:0	-0,853	0,345	0,666	-0,810	-0,397	0,663	-0,829	-0,176	0,801	0,372	1,000						
C16:1	-0,628	0,036	0,138	-0,699	-0,675	0,199	-0,694	-0,522	0,512	0,346	0,595	1,000					
C18:0	-0,451	0,040	-0,168	-0,594	-0,809	-0,266	-0,559	-0,923	-0,199	0,330	0,149	0,419	1,000				
C18:1	-0,610	0,034	-0,058	-0,749	-0,918	-0,102	-0,723	-0,914	0,113	0,375	0,375	0,710	0,864	1,000			
C18:2	-0,099	0,121	0,354	0,021	0,436	0,382	0,014	0,405	0,155	-0,143	0,035	-0,268	-0,338	-0,393	1,000		
C18:3	-0,397	0,265	0,475	-0,342	-0,035	0,326	-0,362	-0,074	0,055	0,655	0,211	0,078	0,040	0,026	0,407	1,000	
C18:2c	-0,262	0,096	0,048	-0,344	-0,497	-0,144	-0,333	-0,530	-0,174	0,741	0,006	0,301	0,428	0,460	-0,355	0,449	1,000

Tabla A.II.10 Salida del Best Subset Regression Models para grasa de coco
 Variables independientes: (A)C_{4:0} (B)C_{6:0} (C)C_{8:0} (D)C_{10:0} (E)C_{10:1} (F)C_{12:0} (G)C_{14:0}
 (H)C_{14:1} (I)C_{15:0} (J)C_{16:0} (K)C_{16:1} (L)C_{18:0} (M)C_{18:1} (N)C_{18:2} (O)C_{18:3} (P)C_{18:2} conj

Se listan los 9 "mejores" modelos para cada tamaño de subset.

P	CP	R ² Ajustado	R ²	SSE	Variables del Modelo
1	141814.2	0.0000	0.0000	1251.14	INTERCEPT ONLY
2	4921.4	0.9642	0.9650	43.7411	F
2	6619.1	0.9519	0.9531	58.7147	C
2	38606.4	0.7208	0.7276	340.841	J
2	72855.4	0.4733	0.4861	642.914	B
2	77265.4	0.4414	0.4551	681.809	H
2	84846.0	0.3867	0.4016	748.670	K
2	88075.3	0.3633	0.3788	777.152	E
2	89059.8	0.3562	0.3719	785.836	M
2	94743.5	0.3151	0.3318	835.965	I
3	356.9	0.9971	0.9972	3.46528	C D
3	895.4	0.9931	0.9934	8.21462	C E
3	1170.8	0.9911	0.9915	10.6442	D F
3	1565.8	0.9881	0.9887	14.1274	E F
3	1861.2	0.9859	0.9866	16.7333	C M
3	1925.8	0.9855	0.9862	17.3028	F M
3	1958.6	0.9852	0.9859	17.5922	B C
3	2146.5	0.9838	0.9846	19.2495	C G
3	2343.9	0.9824	0.9832	20.9908	F G
4	127.7	0.9988	0.9989	1.42607	B C D
4	188.4	0.9983	0.9984	1.96184	C D F
4	253.2	0.9978	0.9980	2.53272	A C D
4	283.0	0.9976	0.9978	2.79555	C D G
4	284.3	0.9976	0.9978	2.80736	C D L
4	298.3	0.9975	0.9977	2.93062	C D E
4	312.2	0.9974	0.9976	3.05320	C D H
4	313.4	0.9974	0.9976	3.06437	C D M
4	331.1	0.9972	0.9974	3.22002	C D J
5	61.7	0.9993	0.9993	0.82669	B C D F
5	103.4	0.9989	0.9990	1.19418	B C D E
5	107.1	0.9989	0.9990	1.22686	B C D M
5	113.4	0.9989	0.9990	1.28280	B C D H
5	115.2	0.9989	0.9990	1.29841	B C D O
5	115.9	0.9988	0.9990	1.30486	B C D K
5	119.7	0.9988	0.9989	1.33768	B C D N
5	120.6	0.9988	0.9989	1.34632	B C D P
5	122.9	0.9988	0.9989	1.36645	B C D J
6	47.4	0.9994	0.9995	0.68238	B C D F O
6	52.3	0.9993	0.9994	0.72623	B C D F I
6	55.4	0.9993	0.9994	0.75288	B C D F P
6	56.6	0.9993	0.9994	0.76423	B C D E F

6	57.8	0.9993	0.9994	0.77428	BCDFH
6	60.5	0.9993	0.9994	0.79820	BCDFM
6	61.0	0.9993	0.9994	0.80302	BCDFL
6	61.4	0.9993	0.9994	0.80577	BCDFK
6	61.8	0.9993	0.9994	0.80976	BCDFG
7	47.2	0.9994	0.9995	0.66299	BCDEFI
7	47.3	0.9994	0.9995	0.66453	BCDFMO
7	47.4	0.9994	0.9995	0.66473	BCDEF0
7	47.9	0.9994	0.9995	0.66966	BCDFIO
7	48.0	0.9994	0.9995	0.67072	BCDFLO
7	48.1	0.9994	0.9995	0.67110	BCDFKO
7	48.8	0.9994	0.9995	0.67731	BCDFOP
7	48.9	0.9994	0.9995	0.67831	BCDFJO
7	49.3	0.9994	0.9995	0.68159	BCDFHO
8	46.2	0.9994	0.9995	0.63672	BCDEFIM
8	46.3	0.9994	0.9995	0.63781	BCDFLMO
8	46.7	0.9994	0.9995	0.64093	BCDFJLO
8	46.7	0.9994	0.9995	0.64124	BCDEFIO
8	47.2	0.9994	0.9995	0.64598	BCDEFMO
8	47.5	0.9994	0.9995	0.64813	BCDEFMP
8	47.5	0.9994	0.9995	0.64860	BCDEFIJ
8	47.6	0.9994	0.9995	0.64953	BCDEFIN
8	47.7	0.9994	0.9995	0.65017	BCDFIMO
9	45.9	0.9994	0.9995	0.61618	BCDEFGIM
9	46.3	0.9994	0.9995	0.61982	BCDEFIMO
9	46.4	0.9994	0.9995	0.62125	BCDFHJLO
9	46.6	0.9994	0.9995	0.62278	BCDEFIJO
9	46.8	0.9994	0.9995	0.62431	BCDFLMOP
9	46.8	0.9994	0.9995	0.62481	BCDFIJLO
9	46.9	0.9994	0.9995	0.62529	BCDEFMOP
9	47.0	0.9994	0.9995	0.62601	BCDFILMO
9	47.0	0.9994	0.9995	0.62657	BCDEFIJN
10	45.4	0.9994	0.9995	0.59434	BCDEFGHIM
10	46.3	0.9994	0.9995	0.60227	BCDFHJLOP
10	46.5	0.9994	0.9995	0.60439	BCDEFHJLO
10	46.7	0.9994	0.9995	0.60605	BCDEFIJLO
10	46.9	0.9994	0.9995	0.60783	BCDEFGIMO
10	47.0	0.9994	0.9995	0.60887	BCDEFIJLN
10	47.1	0.9994	0.9995	0.60924	BCDEFGIMN
10	47.1	0.9994	0.9995	0.60942	ABCDEFGIM
10	47.2	0.9994	0.9995	0.61068	BCDEFGIIN
11	44.8	0.9994	0.9995	0.57173	BCDEFHJLOP
11	45.3	0.9994	0.9995	0.57581	BCDEFGHIMO
11	45.9	0.9994	0.9995	0.58135	BCDEFGHIMN
11	46.1	0.9994	0.9995	0.58317	BCDEFHIJLO
11	46.4	0.9994	0.9995	0.58545	BCDFHJLNOP
11	46.6	0.9994	0.9995	0.58767	ABCDEFGHIM
11	46.8	0.9994	0.9995	0.58887	BCDEFGHIKM
11	46.8	0.9994	0.9995	0.58912	BCDEFGHJLO
11	46.8	0.9994	0.9995	0.58946	BCDEFGHLMO

12	45.3	0.9994	0.9996	0.55825	BCDEFGHIKMO
12	45.6	0.9994	0.9996	0.56083	BCDEFGHJLOP
12	45.6	0.9994	0.9996	0.56084	ABCDEFHJLOP
12	45.6	0.9994	0.9996	0.56121	BCDEFGHIJLO
12	45.7	0.9994	0.9996	0.56163	BCDEFHJLNOP
12	45.9	0.9994	0.9995	0.56318	BCDEFHJKLOP
12	46.0	0.9994	0.9995	0.56486	BCDEFGHILMO
12	46.5	0.9994	0.9995	0.56868	BCDEFGHKMOP
12	46.7	0.9994	0.9995	0.57107	BCDEFHIJLOP
13	32.9	0.9995	0.9997	0.43166	ACFGIJKLMNPO
13	45.5	0.9994	0.9996	0.54259	BCDEFGHJKLOP
13	46.1	0.9994	0.9996	0.54813	BCDEFGHIJKLO
13	46.2	0.9994	0.9996	0.54849	ABCDEFHJLOP
13	46.2	0.9994	0.9996	0.54854	BCDEFGHIJLNO
13	46.2	0.9994	0.9996	0.54864	ABCDEFHJLNOP
13	46.2	0.9994	0.9996	0.54877	ABCDEFGHIKMO
13	46.4	0.9994	0.9996	0.55025	BCDEFGHJLNOP
13	46.5	0.9994	0.9996	0.55085	ABCDEFHJLMOP
14	27.2	0.9996	0.9997	0.36342	ACFGHIJKLMNPO
14	30.6	0.9995	0.9997	0.39301	ABCFGIJKLMNPO
14	32.5	0.9995	0.9997	0.41009	ACDFGIJKLMNPO
14	34.1	0.9995	0.9997	0.42416	ACEFGIJKLMNPO
14	39.6	0.9994	0.9996	0.47295	ACDFGHJKLMNPO
14	43.5	0.9994	0.9996	0.50685	ABCDEFHJLMNOP
14	43.6	0.9994	0.9996	0.50824	ABCDFGHJLMNOP
14	46.2	0.9994	0.9996	0.53061	ACDFGHIJLMNOP
14	46.7	0.9994	0.9996	0.53524	BCDEFGHJKLNOP
15	19.6	0.9997	0.9998	0.27865	ABCFGHIJKLMNPO
15	26.2	0.9996	0.9997	0.33735	ACDFGHIJKLMNPO
15	28.3	0.9996	0.9997	0.35572	ACEFGHIJKLMNPO
15	28.6	0.9996	0.9997	0.35778	ABCEFGIJKLMNPO
15	32.3	0.9995	0.9997	0.39056	ABCDFGIJKLMNPO
15	33.1	0.9995	0.9997	0.39772	ACDFGIJKLMNPO
15	41.2	0.9994	0.9996	0.46910	ABCDFGHJKLMNPO
15	41.4	0.9994	0.9996	0.47065	ACDFGHJKLMNPO
15	41.8	0.9994	0.9996	0.47473	ACDFGHIJLMNOP
16	15.7	0.9997	0.9998	0.22640	ABCDFGHIJKLMNPO
16	21.6	0.9996	0.9998	0.27863	ABCEFGHIJKLMNPO
16	27.8	0.9996	0.9997	0.33306	ABCDEFGIJKLMNPO
16	27.8	0.9996	0.9997	0.33335	ACDFGHIJKLMNPO
16	40.3	0.9994	0.9996	0.44385	ABCDEFGHIJLMNOP
16	42.6	0.9994	0.9996	0.46432	ABCDEFGHJKLMNOP
16	44.1	0.9994	0.9996	0.47716	ABCDEFHIJKLMNOP
16	48.7	0.9993	0.9996	0.51786	ABCDEFGHIJKLNOP
16	49.6	0.9993	0.9996	0.52587	BCDEFGHIJKLMNOP
17	17.0	0.9997	0.9998	0.22050	ABCDEFGHIJKLMNPO

CASES INCLUDED 42 MISSING CASES 0