

ANÁLISIS NIRS DE LECHE DE OVEJA: LECHE DESECADA (REFLECTANCIA) VS LECHE LÍQUIDA (DOBLE TRANSMISIÓN)

Nieves Núñez Sánchez¹, Ana Garrido Varo¹, Juan M. Serradilla Manrique¹ y José L. Ares Cea²

1. Dpto. Producción Animal–ETSIAM. Avda. Menéndez Pidal s/n. 14080-Córdoba.

2. C.I.F.A. Hinojosa del Duque (Córdoba). Junta de Andalucía.

INTRODUCCIÓN

El análisis de la composición química de la leche es fundamental, tanto para el manejo de las explotaciones lecheras, como para el control de calidad en las industrias lácteas. Laporte y Paquin (1998), en una revisión reciente, señalan que, a pesar de la amplia actividad NIRS en el sector lácteo, y del entusiasmo general que rodea a dicha tecnología, existen aún problemas asociados a la rutina de análisis NIRS que es necesario resolver antes de su definitiva implantación a nivel de industrias y laboratorios.

Uno de los aspectos más críticos en el análisis NIRS de la leche es el relacionado con el modo de presentación de las muestras. Esta presentación debe reunir las cualidades de ser simple y rápida, a fin de aumentar el número de análisis por unidad de tiempo. Un problema de importancia en la obtención del espectro NIR de la leche es su alto contenido en agua (80 a 90%), ya que ésta absorbe la mayor parte de la radiación infrarroja, lo que dificulta la calibración de otros constituyentes. Para evitar este problema, se ideó el sistema denominado DESIR, que consiste en la presentación de la muestra desecada en filtros de fibra de vidrio (Alfaro y Meurens, 1989). Este ha sido el modo de trabajo empleado en la obtención de calibraciones de leche de cabra en el Departamento de Producción Animal de la ETSIAM de la Universidad de Córdoba (Díaz, 1993; Angulo, 1997). Sin embargo, este método conlleva un proceso de desecación de las muestras durante 24 horas, lo que hace que esta forma de análisis pierda una de las mayores ventajas de la tecnología NIRS: la de ser una técnica de análisis instantáneo, y de escasa o nula necesidad de preparación de muestra.

En el análisis NIRS existen otros modos de interacción radiación-muestra apropiadas para líquidos o semi-líquidos, como son la Transmisión (Hall y Chan, 1993) y la Doble Transmisión o Transflectancia (Frankuizen, 1992; Albanell y col., 1997 y 1999; Pascual y col., 1996).

El objetivo del presente trabajo es el de comparar la precisión y exactitud de ecuaciones de calibración NIRS para la predicción de constituyentes mayoritarios de leche de oveja analizada mediante dos modos de análisis: Reflectancia (leche desecada) y Doble Transmisión (leche líquida).

MATERIAL Y MÉTODOS

Colectivo de muestras: se utilizaron un total de 101 muestras de leche de oveja, procedentes de controles individuales realizados en diferentes momentos de lactación, y en tres lactaciones diferentes (entre octubre-97 y julio-98), con objeto de obtener un amplio rango de variación en las muestras del colectivo de calibración. Tras la adición de dicromato potásico, las muestras fueron conservadas a 4°C y analizadas dentro de los tres días siguientes al de la recogida.

Análisis químico: previamente al análisis químico y NIRS, las muestras de leche fueron calentadas en baño a 40°C, mezcladas suavemente para conseguir una dispersión homogénea de la materia grasa, y se dejaron enfriar posteriormente a temperatura ambiente.

El análisis químico de las muestras fue realizado por duplicado. Se determinaron los siguientes parámetros químicos:

Proteína Total: método colorimétrico descrito por Bradford (1976).

Caseína Total: la proteína del suero fue determinada por el método anterior, después de precipitar las caseínas de la leche. El contenido en caseína total se obtuvo tras sustraer al valor de proteína total de la leche el de proteína del suero (MAPA, 1974).

Grasa: Gerber (MAPA, 1974).

Extracto Seco: desecación en estufa (MAPA, 1974).

Análisis NIRS: El instrumento NIRS utilizado fue un monocromador FOSS-NIRSystems (400-2500 nm) 6500 equipado con módulo de giro, provisto de cápsulas para productos sólidos (reflectancia) y para semipastosos y líquidos (doble transmisión).

Todas las muestras fueron analizadas por los dos modos espectroscópicos que pretendemos comparar:

a) Reflectancia (R), utilizando una cápsula circular estándar para análisis de productos sólidos.

b) Doble transmisión (DT), utilizando una cápsula de productos semipastosos y líquidos de 0,1 mm de paso óptico y fondo de material reflectante de aluminio (ref. IH-0345).

Para los análisis por reflectancia, se preparó un filtro con cada muestra de leche y se desecó durante 24 horas en estufa a 40°C. Una vez desecados, los filtros se situaron al fondo de la cápsula, con la cara de lectura de los mismos enfrentada a la ventana de cuarzo.

Para los análisis por doble transmisión, el llenado de la cápsula se realizó depositando 0,85 ml de leche sobre el fondo reflectante. Una vez cerrada la cápsula, el análisis se realizó a través de la ventana de cuarzo de la misma. Se prepararon dos cápsulas por muestra de leche, y se desarrollaron las calibraciones utilizando el espectro medio de ambas.

Tanto en la recogida de datos espectrales como en el tratamiento quimiométrico de datos se empleó el software ISI NIRS 3 versión 3.11 (Infrasoft Internacional, Port Matilda, PA, USA). El método de calibración empleado fue el de regresión por mínimos cuadrados parciales modificado (MPLS), evaluando diferentes tratamientos matemáticos y pretratamientos de la señal. La metodología a seguir para el desarrollo y evaluación de calibraciones es la descrita en diferentes publicaciones (Mark y Workman, 1991; Shenk y Westerhaus, 1995 y 1996; Williams y Sobering, 1996). Los estadísticos utilizados para la selección de las mejores ecuaciones de calibración fueron: el error típico residual para el colectivo de calibración (ETC) y para el de validación cruzada (ETVC), el coeficiente de determinación para el proceso de calibración (R^2) o validación cruzada (r^2), el coeficiente de variación (CV) calculado como $ETVC/Media \times 100$, y el RPD ($DT/ETVC$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el análisis químico, calibración y validación cruzada de las ecuaciones de calibración seleccionadas para cada constituyente en las dos modalidades de análisis NIRS estudiadas quedan recogidos en la Tabla 1.

Tabla 1. Estadísticos de calibración de las ecuaciones de leche obtenidas para cada constituyente en análisis NIRS por reflectancia (R) y doble transmisión (DT).

	MODO	N	MEDIA	ET	ETC	R^2	ETVC	r^2	CV	RPD
CASEÍNA	R	90	5,49	0,56	0,13	0,97	0,19	0,88	3,50	2,95
	DT	89	5,49	0,60	0,17	0,92	0,21	0,88	3,77	2,86
PROTEÍNA	R	88	5,95	0,65	0,11	0,97	0,16	0,94	2,75	4,06
	DT	95	5,95	0,68	0,18	0,93	0,19	0,92	3,21	3,58
GRASA	R	90	7,85	1,82	0,21	0,99	0,43	0,94	5,52	4,23
	DT	84	8,06	2,02	0,11	0,99	0,14	0,99	1,71	14,43
EXTRACTO SECO	R	81	17,78	2,20	0,24	0,99	0,34	0,98	1,91	6,47
	DT	82	17,97	2,23	0,19	0,99	0,25	0,99	1,41	8,92

Las calibraciones obtenidas para proteína, grasa y extracto seco poseen una excelente capacidad para la predicción cuantitativa, ya que presentan valores de r^2 mayores que 0,9 (Shenk y Westerhaus, 1996). Los valores de r^2 son ligeramente inferiores en caseína, pero aún siguen siendo elevados.

En general, los dos modos de análisis presentan unos bajos errores de predicción estimados por los valores de los estadísticos ETVC, RPD y CV. En el caso particular del

estadístico RPD, las ecuaciones obtenidas para todos los parámetros analíticos igualan o superan el valor recomendado ($RPD > 3$) por Williams y Sobering (1996).

La precisión de las ecuaciones de caseína y proteína no se afectan por el modo de presentación de las muestras, ya que presentan valores de ETVC muy similares en reflectancia y doble transmisión (0,19 vs 0,21 y 0,16 vs 0,19 respectivamente). En cambio, la precisión de la ecuación de grasa mediante reflectancia es muy inferior a la de doble transmisión (ETVC 0,43 vs 0,14), y algo similar ocurre para el extracto seco (ETVC 0,34 vs 0,25). Dados los resultados más ventajosos de las ecuaciones obtenidas en doble transmisión, en adelante nos referiremos a esta modalidad de análisis.

Los valores del CV nos permiten comparar entre sí las ecuaciones obtenidas para los cuatro parámetros analíticos estudiados. Se observa que los CV más bajos se alcanzan para extracto seco (1,41%) y grasa (1,71%), seguidos de proteína (3,21%) y caseína (3,77%). Los valores del CV nos permiten también comparar nuestros resultados con los obtenidos en otros trabajos realizados sobre leche de oveja y cabra con un modo de análisis (transreflectancia) similar al de doble transmisión utilizado en este trabajo. Así, el CV obtenido para las calibraciones de proteína resultan muy similares a los obtenidos por Albanell y col. (1997 y 1999) y Pascual y col. (1996). En cambio, el valor del CV para grasa es inferior a los obtenidos por Albanell y col. (1997 y 1999) en leche de oveja (3,28%) y cabra (4,55%) respectivamente, así como el CV para extracto seco, que fue inferior al obtenido por Albanell y col. (1999) en leche de cabra (3,03%).

CONCLUSIÓN

En términos de precisión, exactitud y rapidez de respuesta analítica, se recomienda el análisis NIRS de leche líquida (doble transmisión) frente al análisis de muestras de leche desecada (reflectancia), si bien ambos modos de análisis ofrecen resultados muy satisfactorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albanell E., Cáceres P., Caja G., Molina E. y Gargouri A. 1997. ITEA Vol. Extra 18 Tomo II: 664-666.
- Albanell E., Peris S., Romá M., Caja G. y Such X. 1999. ITEA Vol. Extra 20 Tomo I: 161-163.
- Angulo C. 1997. Tesis doctoral. Universidad de Córdoba.
- Alfaro G. y Meurens M. 1989. Proceedings of the 2nd International NIRS Conference. Tsukuba, Japón. :4204-212.
- Bradford M.M. 1976. Analytica Biochemistry 72: 248-254.
- Díaz E., Muñoz A., Alonso A. y Serradilla J.M. 1993. J. Near Infrared Spectrosc 1:141-146.
- Franhuizen, R. 1992. Handbook of near-infrared analysis. Bunis, D.A. y Ciurczak, E.W. editores. New York. Marcel Dekker, Inc.(cap. 22):p. 609-641.
- Hall J.W y Chan K. 1993. Cheese yield and factors affecting its control, Ref. SI 9402. International Dairy Federation: 230-239
- Laporte M-F. y Paquin P. 1998. Seminars in Food Analysis 3: 173-190.
- MAPA. 1974. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Mark H. y Workman Y. 1991. Statistics in Spectroscopy. Academic Press, Inc. NY.
- Pascual J. J., Molina P. y Puchades, R. 1996. Near Infrared Spectrosc.: The Future Waves. Davies A.M.C. y Williams P.C.(Eds.). NIR Publications, Chichester, G.B.: 559-564.
- Shenk J.S. y Westerhaus M.O. 1995. Monograph. NIRSystems, Inc., 12101 Tech Road, Silver Spring, MD 20904, PN IS-0119.
- Shenk, J.S. y Westerhaus, M.O. 1996. Near Infrared Spectrosc.: The Future Waves. Davies A.M.C. y Williams P.C.(Eds.). NIR Publications, Chichester, G.B.: 198-202.
- Williams P.C. y Sobering D. 1996. Near Infrared Spectrosc.: The Future Waves. Davies A.M.C. y Williams P.C.(Eds.). NIR Publications, Chichester, G.B.: 185-188.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de una Tesis doctoral financiada por una Beca FPI de la Dirección General de Investigación y Formación Agroalimentaria de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía, utilizando el equipamiento e infraestructura del SCAI (Unidad NIR-MIR) de la UCO, y contando con la asistencia técnica de Dña. Francisca Baena Manzano, del Dpto. de Producción Animal-ETSIAM de la Universidad de Córdoba.