



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS



Análisis comparativo de tres herramientas de caracterización e identificación (HPLC, AA e IR) de compuestos en productos lácteos, sus principales usos y aplicaciones para el control de calidad. Una revisión básica.

Trabajo de Titulación, Modalidad de Proyecto de investigación, previo a la obtención de título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

AUTOR: Sofía Carolina Hernández Castro

TUTOR: PhD. Dayana Cristina Morales Acosta.

Ambato - Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. Dayana Cristina Morales Acosta.

CERTIFICA

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación bajo la modalidad de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 1 de agosto del 2022

PhD. Dayana Cristina Morales Acosta
C.I. 180413557-0
TUTORA

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Sofia Carolina Hernández Castro, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente trabajo de titulación, modalidad proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Sofia Carolina Hernández Castro

C.I. 172472831-4

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Nelly Esther Flores Tapia
C.I. 171625330-5

PhD. Rubén Darío Vilcacundo Chamorro
C.I. 180273810-2

Ambato, 13 de septiembre de 2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Sofía Carolina Hernández Castro

C.I. 172472831-4

AUTORA

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado principalmente a Dios, que puso en mi corazón la motivación para elegir esta carrera y que siempre ha puesto en mi camino las herramientas y las enseñanzas necesarias para seguir en él.

A mis padres Wilson y Fanny que supieron apoyarme desde el primer hasta el último día, con palabras de aliento, compartiéndome sus experiencias y enseñanzas, a mi hermano José, los tres siempre me ayudaron cuando me encontraba con problemas que no supe resolver sola en su momento.

A la memoria de mis abuelos, Rosario y Rafael, que siempre me decían que querían vivir para ver este día. Gracias por todo el amor y el chocolate caliente.

A Max que estuvo desde que se sembró en mi este sueño y me acompañó los primeros semestres, fue la principal motivación que tuve y tengo para alcanzar mis metas.

A la memoria de Darwin, la primera persona que estuvo pendiente de mí y de que me sienta incluida y apoyada, mi primer amigo de otra ciudad, gracias por cuidarme desde el primer día y por todos los años de amistad.

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia, cada uno supo brindarme su apoyo durante todos estos años, tanto a mí y a mis padres y por eso siempre les estaré agradecida.

Agradezco a todos los amigos y compañeros con los que he podido compartir esta etapa de mi vida, quienes han sabido enseñarme a ser humilde al momento de aprender y que todas las personas tienen algo que enseñarnos; les agradezco enseñarme a pedir ayuda, sin ustedes no hubiese podido culminar este trabajo, principalmente a Vanessa y Carolina.

A mis amigos de siempre, quienes me han apoyado desde antes de empezar y aún siguen haciéndolo, gracias por su bonita amistad.

Gracias a todas las personas que supieron enseñarme algo, tanto de la ingeniería en alimentos como de la vida, principalmente a todos mis maestros, mi total admiración y respeto, sobre todo a mi tutora Dayana Morales de quien he aprendido mucho y me ha apoyado en este trabajo y a mi primer profesor de vida Marco Murgueitio.

A mi querido Ambato, que ha sabido ser mi segundo hogar y donde estoy feliz y orgullosa de haber culminado mi carrera.

ÍNDICE

PORTADA	i
APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	v
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE.....	viii
SITUACIÓN DE ESTUDIO	1
RESUMEN	x
ABSTRAC.....	xi
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes investigativos.....	3
1.1.1. Industria Alimentaria.....	3
1.1.2. Industria Láctea	3
1.1.3. Pruebas de control de calidad de la leche	5
1.1.4. Adulteración de la leche	6
1.1.5. Soberanía y Seguridad Alimentaria.....	9
1.2. Principales herramientas de caracterización de productos lácteos	9
1.2.1. Espectroscopia infrarroja (IR).....	9
1.2.2 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	13
Fundamentos de la cromatografía líquida de alta resolución.....	13
1.2.3. Espectroscopia de absorción atómica (AA)	19
OBJETIVOS	23
OBJETIVO GENERAL.....	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
CAPÍTULO II.....	24
MATERIALES Y MÉTODOS.....	24

Materiales.....	24
Métodos.....	24
CAPÍTULO III	26
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
CAPITULO IV	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
CONCLUSIONES	35
RECOMENDACIONES	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de un equipo de IR.....	10
Figura 2. Esquema de un equipo HPLC	13
Figura 3. Esquema de un equipo AA.....	20
Figura 4. Organización de la información mediante la herramienta Excel.	24
Figura 5. Organización de la información mediante la herramienta Mendeley	25

RESUMEN

Es común usar técnicas de análisis para asegurar el desarrollo de alimentos inocuos. Los análisis químicos en productos lácteos y sus derivados son útiles para establecer y mantener la calidad de los alimentos y para garantizar su seguridad. Es por lo mencionado que, el principal objetivo de este estudio fue analizar las aplicaciones y los usos generales de las herramientas de caracterización e identificación de compuestos orgánicos en alimentos, haciendo énfasis en su contribución a la inocuidad alimentaria. Las herramientas analizadas durante el desarrollo del trabajo fueron: Espectroscopia Infrarroja (IR), Cromatografía de alta definición (HPLC) y Absorción Atómica (AA). La metodología de revisión bibliográfica utilizada compila información de diversas fuentes referente al tema, para así argumentar la importancia de la utilización de estas técnicas en la industria láctea. Los resultados aseveran que la Espectroscopia infrarroja tiene una amplia aplicación en la medición de la efectividad en procesos industriales de control de calidad de productos. A su vez afirman que, la Cromatografía líquida de alta resolución es uno de los métodos más empleados en la industria láctea para la cuantificación de componentes y el control de calidad de la leche como materia prima, así como la evaluación de la inocuidad y la calidad nutricional de sus derivados; sin descartar la cromatografía infrarroja como herramienta útil para analizar la composición química (macronutrientes) de los lácteos y, finalmente sugieren a la Espectroscopia de absorción atómica como la mejor herramienta en la determinación de metales pesados.

Palabras clave: Investigación bibliográfica, industria láctea, calidad alimentaria, inocuidad alimentaria, seguridad alimentaria, herramientas de calidad, HPLC, productos lácteos.

ABSTRACT

It is common to use testing techniques to ensure the development of safe foods. Chemical analyzes in dairy products and their derivatives are useful to establish and maintain the quality of foods and to guarantee their safety. For this reason, the main objective of this study was to analyze the applications and general uses of the tools for the characterization and identification of organic compounds in food, emphasizing their contribution to food safety. The tools analyzed during the development of the work were: Infrared Spectroscopy (IR), High Definition Chromatography (HPLC) and Atomic Absorption (AA). The literature review methodology used compiles information from various sources on the subject, in order to argue the importance of using these techniques in the dairy industry. The results assert that infrared spectroscopy has a wide application in the measurement of the effectiveness in industrial processes of product quality control. At the same time, they affirm that high resolution liquid chromatography is one of the most used methods in the dairy industry for the quantification of components and the quality control of milk as raw material, as well as the evaluation of safety and quality. nutritional value of its derivatives; without ruling out infrared chromatography as a useful tool to analyze the chemical composition (macronutrients) of dairy products and, finally, they suggest Atomic Absorption Spectroscopy as the best tool in the determination of heavy metals.

Keywords: Bibliographic research, dairy industry, food quality, food safety, food safety, quality tools, HPLC, dairy products.

CAPITULO I

SITUACIÓN DE ESTUDIO

Cuando se habla de parámetros de control de calidad de lácteos, el análisis básico menciona control de pH, rendimiento, densidad y, ocasionalmente, pruebas de mastitis y contenido de grasa. Gran parte de la población considera que el objetivo principal de los procesos aplicados en la industria alimentaria son exclusivamente para la optimización de recursos y el rendimiento comercial, naturalmente estos son de gran importancia; sin embargo, dentro de este tipo de industria es primordial salvaguardar la calidad nutritiva de los alimentos, profundizando el control en la calidad de todos los parámetros involucrados en el proceso, como la materia prima, los residuos orgánicos generados y los productos terminados.

A pesar de que existen herramientas, como la espectroscopia infrarroja y la cromatografía líquida de alta resolución, que se han utilizado en control de calidad de alimentos desde hace varios años, en Ecuador es inusual encontrar protocolos innovadores destinados al control de parámetros de calidad. Si nos referimos a las industrias lácteas, la situación es incluso peor, ya que la información que existe sobre la aplicabilidad de análisis regulares en los productos lácteos del país es escasa o nula. Cabe recalcar, que dicha información sería un pilar en la seguridad alimentaria; ayudaría a mitigar problemas en salud pública y permitiría corroborar los estándares de calidad que rigen internacionalmente.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

- Baja disponibilidad de estas herramientas en el país.
- Desconocimiento de sus aplicaciones.
- Desconocimiento de sus beneficios y su relación con la nutrición y la innovación.

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Industria Alimentaria

La industria alimentaria engloba a todas las actividades industriales enfocadas al tratamiento, transformación, preparación, conservación y envasados de los diferentes tipos de productos alimenticios (Rendón et al., 2018). Dentro de esta industria se encuentran líneas de producción de alimentos lácteos, cárnicos, derivados de frutas y hortalizas, etc.

Considerando los procesos productivos y la variedad de productos que se ofrecen al mercado, la industria alimentaria se ha convertido en uno de los sectores productivos más importantes a nivel global; presentando un alto impacto en el ámbito, económico, social y ambiental (Restrepo, 2006). Es por ello, que resulta esencial emplear técnicas de análisis para asegurar el desarrollo de alimentos inocuos, que sean seguros al momento de consumirlos.

En la industria alimentaria, todo alimento es sometido a pruebas para verificar su autenticidad, asegurando sus cualidades intrínsecas y de esta manera que se establezca un precio justo de venta. Entre los parámetros que se consideran para que un producto pueda ser comercializado y que se contemplan en los requisitos establecidos para la obtención de la notificación sanitaria encontramos: el envase, la etiqueta con la información nutricional, el nombre del producto, el precio, la fecha de caducidad, análisis físico-químicos y microbiológicos, entre otros; información que busca garantizar que el alimento cumpla con los parámetros de inocuidad y calidad (Rios, 2019).

1.1.2. Industria Láctea

Los productos lácteos y sus derivados se encuentran en una posición favorable en cuanto a su posicionamiento en el mercado; exhibiendo un elevado interés debido a su importancia económica y social (Ramírez et al., 2009). El elevado consumo de este grupo de alimentos se debe a sus cualidades intrínsecas, como los beneficios que aportan a la

salud a través de vitaminas; además de proteínas y lípidos imprescindibles en la nutrición humana.

El consumo de leche contribuye al correcto funcionamiento de músculos y del sistema nervioso, ayuda a la formación de anticuerpos y glóbulos rojos o aportan a procesos digestivos, entre otras cosas (M. Sánchez, 2021). Es así, que la leche es considerada un alimento fundamental en la alimentación humana. Por otra parte, es un alimento que se encuentra disponible en casi cualquier parte del mundo y su acceso no es difícil en términos económicos (Uscanga et al., 2019).

La industria láctea es el sustento económico de varias familias en países de Europa y Latinoamérica. En España se produce más de 77.741 toneladas de leche por mes y cabe mencionar, que la producción de leche de oveja es una de las actividades más importantes. En el 2019 Colombia vendió 31,1 TM de yogur y Ecuador exportó 72,2 TM de queso a Estados Unidos; en el 2020 Colombia perdió el 30% de sus ventas a Estados Unidos en yogurt y Ecuador perdió el 14% de sus ganancias por exportar queso a Estados Unidos, esto con respecto a los valores generados en el 2019 para ambos países (A. Sánchez et al., 2020).

Para el año 2019, en nuestro país se reconocieron un aproximado de 279 mil ganaderos, que se dedican a la actividad de la industria láctea (Hoyos & Aguilar, 2021). Si referimos la importancia de este tipo de industria, al tema socioeconómico, Ecuador genera alrededor de 1,2 millones de empleos directos e indirectos, y su aporte al PIB Agroindustrial es del 4 % (CIL ECUADOR, 2021). A pesar de los grandes cambios de consumo que surgieron a raíz de la inestabilidad en el periodo pandémico, el sector lácteo no presentó mayores fluctuaciones y, según datos del Servicio de Rentas Internas (SRI), en septiembre de 2021, el sector presentó un crecimiento del 10,92 % en relación a septiembre de 2020 (Ávila & Jaén, 2022).

Por otro lado, en Ecuador se producen alrededor de 5'100.000 litros de leche diarios que abastecen la demanda local, considerando que, el consumo de leche fluida es de 110 litros por habitante cada año (FAO, 2014). Además, se elaboran derivados lácteos cuya gran parte del proceso es artesanal, sin embargo, la producción es escasa cuando se trata de productos cuyo tratamiento requiere aplicaciones y herramientas más complejas; haciendo que productos como los suplementos proteicos para deportistas a base de lactosuero, sean importados para satisfacer su demanda (Jaramillo, 2021). Gran parte de la

leche utilizada para elaborar queso, se convierte en lactosuero y este subproducto no siempre se aprovecha adecuadamente; existen registros que evidencian que cerca del 50% de los productores ecuatorianos registrados obtienen entre 9.000 a 45.000 L de lactosuero mensuales, ya que el queso es un producto con alta demanda en el país y se ha convertido en sustento económico principal de algunas familias ecuatorianas, en el 2016 se estimó que la demanda de productos lácteos se distribuía de la siguiente manera: 90 kilogramos en quesos de mesa, 100 kilogramos en quesos de sopa, 1200 kilogramos en leche pasteurizada (Cruz et al., 2021).

1.1.3. Pruebas de control de calidad de la leche

En los últimos años, el interés de los productores por asegurar la calidad y la seguridad de los alimentos lácteos ha crecido conjuntamente con el deseo de los consumidores por una alimentación que no represente una posible amenaza para su salud (Téllez, 2019). Las principales pruebas que se realizan a la leche para comprobar su calidad se mencionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales pruebas de calidad de la leche

Nombre	Descripción / Función	Precisión
Prueba de acidez	Determina la acidez por medio de la titulación de la leche con ayuda de un indicador de color (fenolftaleína).	Media
Prueba de densidad	Determina la densidad de la leche utilizando un lactodensímetro, detecta si la leche ha sido adulterada con agua o suero, pero no detecta otro tipo de adulteraciones más discretas como la melamina.	Media
Prueba de alcohol	Es una prueba rápida que determina si la acidez no supera el 0.21% en la leche y es apta para ser procesada; sin embargo, es propensa a falsos positivos en presencia de Ca, Mg y otros componentes.	Baja
Prueba de reductasa	Es una prueba colorimétrica sencilla, que sirve para determinar la calidad higiénica de la leche. (Novoa et al., 1987).	Baja

pH	Se usa un potenciómetro calibrado para determinar que el pH de la leche este dentro del rango de 6,4 y 6,8.	Media
Índice de grasa	Son métodos químicos que extraen o separan la grasa de la leche o el queso con ayuda de disolventes para que pueda ser medida, el método más utilizado en lácteos es el método del butirometro de Gerber (E. García et al., 2013)	Media
Sólidos totales y Sólidos no grasos	Se calculan aplicando sus fórmulas correspondientes, que están relacionadas con el porcentaje de grasa y la densidad medida con el lactodensímetro. Es importante conocer estos valores para tener una idea más clara de que componentes le dan la densidad a la leche, además de la grasa (Novoa et al., 1987).	Media
Lactometría	Mide el índice de refracción de la leche según tenga mayor o menor contenido de agua. Se mide con el refractómetro de Bertuzzi. La leche normalmente tiene una lactometría entre 8.2 y 9.0%. Si el índice es mayor al rango establecido puede significar que hay agua adicional, mientras que, si es menor, se puede deber a la adición de otras sustancias (Novoa et al., 1987).	Media
Prueba de mastitis	Existen varios métodos para determinar si la leche está contaminada con mastitis, entre ellos midiendo la conductividad eléctrica de la leche, papel indicador, concentración de cloro en leche, prueba California, conteo de células somáticas (Rodríguez et al., 2021).	Alta

Fuente: (L. Méndez, 2020)

1.1.4. Adulteración de la leche

Los alimentos son objetivos de diferentes tipos de fraude como lo son la publicidad engañosa, etiquetas con información que no corresponden al producto y uno de los más graves e importantes es la adulteración directa de la calidad de los alimentos. Los cambios en la composición de estos tienen el objetivo de economizar costos de producción y pueden llegar a tener efectos negativos en la salud de los consumidores, algunos pueden

llegar a ser tóxicos. Un claro ejemplo de esta problemática es la presencia de melamina en la leche, misma que condujo a una de las grandes crisis alimentarias conocidas en los últimos años (C. de la J. R. Pérez & García, 2012). En la Tabla 2 se enfatizan las adulteraciones más comunes de la leche, sus funciones y los ensayos de detección. Con ello se destaca la importancia a la prevención del fraude alimenticio y la necesidad de aplicar métodos y herramientas de análisis para la caracterización de leche, que consigan descubrir cualquier cambio en la composición química de los alimentos (Téllez, 2019).

La química lechera se creó por la necesidad de controlar la calidad de la leche como materia prima; para ejecutar un análisis fisicoquímico en el área de tecnología de productos lácteos, se requieren de soluciones químicas que serán empleados en la determinación de ciertos componentes de la leche y sus derivados (Artica, 2014). Existen varios métodos fisicoquímicos de detección de compuestos específicos, que ya son conocidos por su capacidad de disimular las adulteraciones en la leche como materia prima, o para conservar las características que identifican a los productos lácteos como frescos, como la textura, el color, el olor, entre otros. En la tabla 2 se describen los compuestos más comunes que se agregan a la leche y sus derivados con el propósito de adulterarlos, esta tabla describe el propósito y el ensayo físico químico que detecta el adulterante, estos ensayos son aplicados en la actualidad de forma algorítmica y empírica, basándose en la repetición de guías establecidas hace más de 20 años como lo hizo Novoa en 1987.

Tabla 2. Adulteraciones en la leche

Aditivo adulterante	Función	Ensayo de detección
Formol	Se agrega para aumentar la estabilidad de la leche evitando que se corte o se acidifique, actuando como agente conservador ya que es un compuesto bacteriostático, su consumo es tóxico y puede llegar a ser mortal (Gómez et al., 2016).	Si al agregar una solución de cloruro férrico y H_2SO_4 se forma un anillo violeta entre los ácidos y la leche, se indica la presencia de formol (Novoa et al., 1987).

Cloruros (sal)	Se encuentran en el agua salada que se agrega a la leche para abaratar costos (Periago, 2013).	Hay cloruros añadidos en la leche, si esta adquiere un color amarillo intenso al añadir nitrato de plata y bicromato de potasio (Novoa et al., 1987).
Agua oxigenada	El peróxido de hidrogeno puede llegar a la leche por malas prácticas de manufactura, ya que se usa para limpiar los contenedores donde pasteurizan la leche en la industria, este compuesto hace que la leche se corte y adquiera un olor y sabor poco agradables (Castón, 2017)	La leche ha sido mezclada con agua oxigenada si cambia su color blanco a amarillo, verde o azul; en presencia de una mezcla de almidón, yoduro de potasio y ácido clorhídrico (Novoa et al., 1987).
Bicarbonato o sosa cáustica (Neutralizantes)	Se agrega bicarbonato de sodio para neutralizar el exceso de acidez de la leche y así proporcionar un medio neutro que favorece la formación del color típico del manjar (Pilco, 2013).	Si al mezclar leche con ácido rosálico y alcohol, esta se hace rosada entonces se indica la presencia de neutralizantes. También si al mezclar la leche con una solución de alizarol, no se corta, es señal de que la leche ha sido adulterada (Novoa et al., 1987).
Féculas (maicena, harinas)	Se agrega para aumentar la densidad de la leche, puede aparentar un mayor contenido de nutrientes y un menor contenido de agua (Novoa et al., 1987).	Se agrega lugol a la leche hervida y si se oscurece hasta un tono azul o morado, significa que existen féculas agregadas (Novoa et al., 1987).
Azúcar	Se agrega para alterar el sabor del producto, esto es conveniente cuando se ha agregado agua a la leche (Novoa et al., 1987).	Se mezcla la leche con una solución de bilis de buey y HCl a 65°C, si después de 5 minutos se torna negro, significa que se ha añadido azúcar (Novoa et al., 1987).

Fuente: (Novoa et al., 1987).

1.1.5. Soberanía y Seguridad Alimentaria

La Soberanía Alimentaria es un término que describe el derecho a una alimentación inocua, nutritiva y culturalmente apropiada de los pueblos y comunidades dentro de un país. Constituye un componente esencial en los países en vías de desarrollo como el Ecuador, es así que se la incluyó entre los derechos del Buen Vivir de la última Constitución (Gómez et al., 2016).

La Soberanía y Seguridad Alimentaria establecen políticas adecuadas que protegen a la comunidad y aseguran el acceso a productos de calidad (Gómez et al., 2016), es decir que, su finalidad es priorizar la garantía del derecho universal a la alimentación (Giunta, 2009). Por lo tanto, es necesario asegurar el desarrollo de la industria alimentaria en el área de análisis instrumental; garantizando la actualización de los recientes descubrimientos innovadores y sustanciales, así como la verificación y la socialización de información (Chávez et al., 2019).

1.2. Principales herramientas de caracterización de productos lácteos

Con el avance tecnológico y el desarrollo científico se han implementado nuevas herramientas de caracterización cuya finalidad es detectar y mitigar el fraude alimenticio, pues las adulteraciones son más comunes y utilizan mejores metodologías que las hacen imperceptibles a simple vista y casi indetectables con los métodos tradicionales de análisis de calidad y seguridad (Escobar et al., 2010).

1.2.1. Espectroscopia infrarroja (IR)

Fundamentos de la IR

La espectroscopia infrarroja es una técnica económica y eficaz para la identificación estructural o determinación cualitativa de diversos compuestos orgánicos, ya que algunos grupos de átomos muestran frecuencias de absorción vibracional, características en esta región del espectro electromagnético (Rojas, 2012).

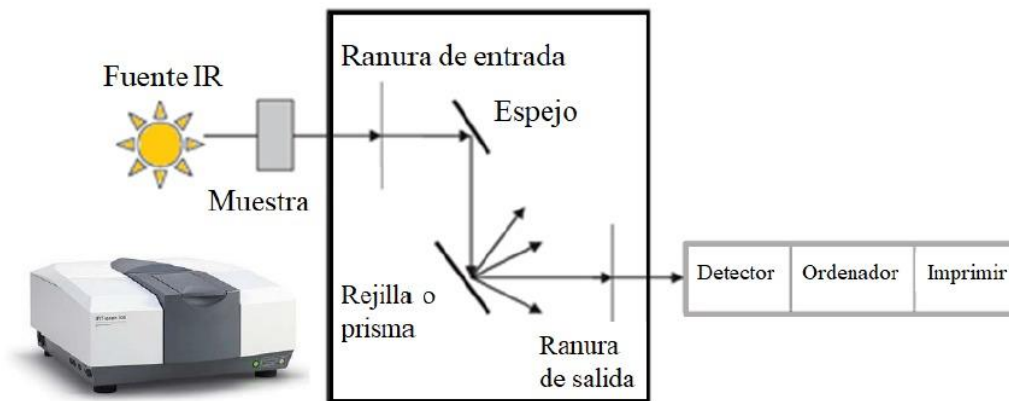


Figura 1. Esquema de un equipo de IR dispersivo

Fuente: (Téllez, 2019).

En la figura 1 se muestran las partes fundamentales de un espectrómetro infrarrojo dispersivo conectado a un sistema informático, existen muchos equipos que aplican la tecnología infrarroja, algunos específicos para composición química de leche, adaptados para medir un solo analito, portátiles, etc. Por otra parte, hay un grupo de espectrómetros con transformada de Fourier que no son portátiles y cuentan con un interferómetro de Michelson, que permite aplicar la transformada de Fourier. Estos equipos permiten trabajar con varias muestras ya que es rápido, económico y la preparación de la muestra es mínima (Téllez, 2019).

La tecnología IR puede ser aplicada en varias líneas de producción de alimentos, incluyendo los lácteos, por lo que a continuación se van a analizar varios artículos en los cuales se aplica la espectroscopía infrarroja en productos de ésta línea, destacándose la leche, el suero de leche y el queso.

Recuperación de lactosa y proteínas a partir del suero de queso de leche de vaca

En este artículo publicado en el 2012, separaron las proteínas del suero de queso de leche, sometiendo la muestra a un proceso de pasteurización y posteriormente a ultrafiltración para concentrar las proteínas. Para obtener la lactosa, se deshidrató el concentrado de proteínas y pasó por un proceso de nanofiltración. En cada etapa se analizaron muestras

por espectrofotometría FTIR para demostrar la eficiencia del proceso de recuperación de los componentes mencionados, además, se compararon los resultados con productos comerciales como concentrados proteicos, leches en polvo y suero deshidratado (comercializado para materia prima), obteniendo como resultado que la muestra experimental obtenida en el trabajo obtuvo mayor concentración proteica que algunos productos comercializados como algunas marcas de leche en polvo y suero en polvo. Es por esto que en algunos países se utiliza el suero de leche deshidratado en lugar de la leche en polvo, ya que así se optimiza la leche como recurso, se puede utilizar el suero deshidratado en la elaboración de otros productos derivados de la leche como el yogurt o el queso para aumentar su concentración en nutrientes, como proteínas y lactosa (Rojas, 2012). El trabajo enfatiza la importancia de las proteínas solubles presentes en el suero y en la leche en polvo, así como vitaminas del grupo B, lactosa y ácido ascórbico.

Efecto de la temperatura de cuajado de la leche sobre el rendimiento quesero, la composición química y la valoración sensorial de quesos frescos de cabra

Este estudio fue realizado en Valencia en el año 2016, en el que Crespo utiliza la espectroscopia de infrarrojo cercano para analizar la composición fisicoquímica del queso producido en SAT (quesera española). Se aplicaron temperaturas en un rango de 30°C y 34°C en diferentes lotes de queso, para determinar cómo afectaba esta variable a la composición y las características sensoriales de los quesos obtenidos al finalizar cada proceso; para esto se analizaron sólidos totales, grasa, proteína y sal en las diferentes muestras de queso, además se aplicó un análisis sensorial. Finalmente se determinó que el rango de temperatura aplicada no demostraba adulteraciones en la composición fisicoquímica ni organoléptica de los quesos (Crespo, 2016). En los últimos años la espectroscopia infrarroja ha sido considerada en algunos trabajos de investigación para analizar el tratamiento de coagulación y otras características reológicas de la leche durante la preparación de quesos, ya que los parámetros derivados a partir de los perfiles de dispersión de luz de infrarrojo cercano, se correlacionan con la velocidad de coagulación, permitiendo analizar en tiempo real este proceso gracias a sus sensores de fibra óptica (Arango et al., 2012); sin embargo, existen otras técnicas de caracterización que han demostrado potencial para estudiar estos parámetros, entre ellas la espectroscopia

de fluorescencia sincrónica, que es una técnica rápida y no destructiva que permite controlar los tiempos de coagulación y gelificación del queso (Moreno, 2012).

Evaluación del efecto de la concentración de la salmuera y tiempo de inmersión en el contenido de cloruro de sodio del queso mozzarella

En este estudio se evaluó un proceso de osmodeshidratación presente en quesos sumergidos en una solución de salmuera, para esto se analizó la concentración de cloruros en porcentaje usando espectroscopia de infrarrojo cercano, que es un método instrumental que permite medir de forma rápida la composición química y nutricional de una muestra; determinando que la concentración de salmuera influye de manera significativa en el porcentaje de cloruros encontrado en las superficies laterales del queso; mientras que el tiempo de inmersión influye en la concentración de cloruros ubicada en el centro del queso al final del proceso, esto permitirá predecir la composición adecuada de la solución de salmuera para obtener un queso mozzarella homogéneo en cuanto a sabor y porcentaje de cloruros; información útil para industrias queseras (Quintero, 2018).

Análisis de leche mediante espectroscopia de infrarrojo para la determinación de mastitis subclínica en el ganado caprino

Se desarrolló una metodología a nivel de laboratorio en el que se trituraron las muestras de quesos como pretratamiento, y fueron analizadas por duplicado usando un FoodScan específico para lácteos, este equipo utiliza la espectroscopia de infrarrojo cercano, que permite determinar la composición química de muestras sólidas y semisólidas, como es el caso del queso; se pretendía descubrir evidencia de infección por mastitis subclínica en el ganado caprino a través de los resultados obtenidos de las muestras de queso de leche de cabra; se analizaron los marcadores inflamatorios y los resultados de un Recuento de Células Somáticas (RCS) como indicadores de la presencia de mastitis. Sin embargo, los resultados obtenidos presentaron una baja precisión como indicadores inflamatorios. Por lo que se puede inferir que aún no se ha desarrollado un método efectivo en el que se aplique MIR para detectar células somáticas (Orts Tejero, 2021). Sin embargo, Beltrán (2016) demostró que existe una concentración residual considerable de tilosina en la leche recién ordeñada de cabras a las que se les ha suministrado el antibiótico para combatir la

mastitis, también estableció que los quesos fabricados con esta leche presentaron cambios significativos en sus características, principalmente en la textura y alteraciones en la fase de curado, también se conservaron cantidades cuantiosas del antibiótico residual en la etapa de maduración, la tilosina residual fue cuantificada por HPLC-MS y previamente se utilizó un equipo de infrarrojo cercano calibrado con leche de cabra para determinar la composición química de los quesos y la leche, es decir, para determinar el porcentaje de lípidos, proteínas, materia grasa y contenido de sal de las muestras (Beltrán, 2017).

1.2.2 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Fundamentos de la cromatografía líquida de alta resolución

La HPLC es uno de los métodos cromatográficos más utilizados para la separación y análisis de los componentes químicos de una mezcla (Suarez Ospina & Morales Hernández, 2018). La Figura 2 muestra el esquema de un equipo HPLC con sus módulos ineludibles, en el cual intervienen dos fases inmiscibles entre sí: la fase móvil y la fase estacionaria; además del analito o muestra de interés (A. Pérez, 2021). Las distintas fuerzas químicas y físicas que actúan entre sus componentes son quienes determinan la retención y separación de cada uno de ellos (Fallon et al., 1987).

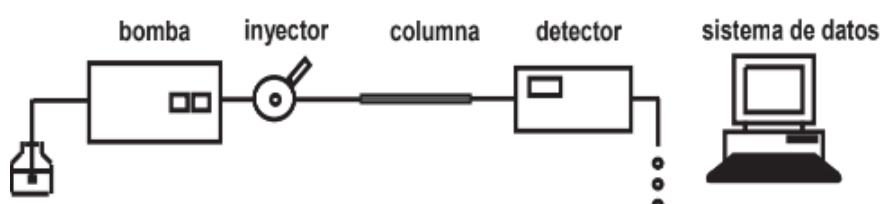


Figura 2. Esquema de un equipo HPLC. Cinco módulos ineludibles del cromatógrafo HPLC

Fuente: García de Marina Bayo y Yusa Marco, 2016

La cromatografía en combinación con otras técnicas, como la espectrometría de masas ha probado ser de gran utilidad en la identificación y cuantificación de diferentes compuestos como los fenólicos, flavonoides, ácidos orgánicos, etc.; contribuyendo así en la determinación de características como la actividad antioxidante o, a su vez, catalogando alimentos como ingredientes funcionales por su contenido de nutrientes (A. M. López, 2017).

La técnica de HPLC es una de las más utilizadas en las industrias láctea para la separación y análisis de componentes, ya que tiene un elevado poder de resolución, un corto tiempo de análisis, una elevada versatilidad, el tiempo de separación es corto y es una técnica no destructiva (A. Pérez, 2021). Los análisis que se han reportado hasta la actualidad en productos lácteos se refieren a la determinación de sustancias como las que se detallan a continuación:

Determinación de histamina en quesos

La cromatografía de líquidos ha sido de gran utilidad en el análisis de la calidad química en quesos, determinando sustancias de interés como la histamina (Cuevas Mantecón, 2017). La histamina es una sustancia reguladora que se encarga de que las reacciones en el organismo se produzcan normalmente; controla la contracción o relajación de los músculos lisos, estimula la memoria y el sistema motor, además, interviene en el control de las secreciones gástricas (Izquierdo et al., 2003). Las bacterias ácido lácticas son los principales microorganismos a quienes se les atribuye la producción de histamina y, considerando que forman parte habitual de la composición de quesos y otros productos lácteos, resulta imprescindible monitorear las condiciones de refrigeración y conservación para que su crecimiento esté controlado y los alimentos lácteos conserven sus propiedades de la mejor manera (García, 2012).

La histamina puede encontrarse en productos lácteos y aunque no se ha encontrado en cantidades alarmantes, sin embargo, en quesos como el Gouda y queso blando en salmuera la concentración es elevada en relación con los quesos frescos (G. Hernández et al., 2019). La concentración considerada de riesgo es la mayor de 500 ppm, misma que puede provocar intoxicaciones (R. Hernández et al., 2019). Es por ello que Izquierdo et al. (2003) han establecido la importancia de realizar este análisis en productos lácteos tomando en consideración que esta sustancia representa un peligro para la salud de las personas.

Para la cuantificación de histamina (Izquierdo et al., 2003) toman como punto de partida la preparación de la muestra. En su experimentación, se diluyeron varias muestras de queso en ácido tricloroacético al 5%, para posteriormente homogenizarla y filtrarla. El líquido filtrado continuó el proceso de derivatización con ortoftaldehído y, finalmente,

fue colocado en el equipo de HPLC con detector de fluorescencia. Se consideraron ciertas condiciones en la corrida cromatográfica como: volumen de inyección de 20 µl con un tiempo de 15 minutos por corrida; temperatura del horno de columna de 33°C y composición de la fase móvil por fosfato monosódico. Del total de muestras analizadas por Izquierdo, se obtuvo un valor medio de histamina de 52.38 ± 5.39 mg/kg.

Determinación de glicomacropéptido en leche adulterada

El glicomacropéptido (GMP), es una proteína producida por la degradación de caseínas presentes en la leche por efecto de enzimas o bacterias y, la mayor parte se produce en el proceso de fabricación de quesos (Galindo et al., 2006). El GMP se cuantifica por métodos cromatográficos; bien sea por cromatografía de exclusión molecular, HPLC en fase inversa o cromatografía de intercambio iónico. El único inconveniente que presenta la técnica de HPLC, al momento de determinar la presencia de GMP, es arrojar resultados con falsos positivos (E. Rojas et al., 2009).

Tomando en consideración la importancia de la GMP, en Ecuador se han realizado varios estudios sobre la adulteración de productos lácteos. Uno de ellos fue la determinación de esta proteína en leche cruda. El estudio realizado en el laboratorio de Control de Leche de Agrocalidad inició con la preparación de las diferentes muestras de leche, mismas que fueron refrigeradas y homogenizadas. Posteriormente, a cada muestra se añadió ácido tricloroacético y se las filtró para comenzar con las corridas cromatográficas. Los resultados obtenidos, mediante el método de cromatografía líquida en elusión isocrática, indicaron que un 35,7 % de muestras contenían GMP (Bahamonde & Jiménez, 2015); demostrando así, que la leche analizada no cumplía con los parámetros establecidos en la Norma INEN 9:2012.

Determinación de riboflavina en productos lácteos

La riboflavina, vitamina hidrosoluble del complejo B, se encuentra presente en productos lácteos en un rango de 11,73 a 15,41 µg/g BS. Es un componente vital para el correcto funcionamiento del organismo; el consumo regular de leche, yogurt y quesos puede satisfacer el requerimiento nutricional. Es así que, el 40,4% de ingesta de esta vitamina

proviene de productos de lácteos; sin embargo, durante los procesos térmicos y de almacenamiento de leche y yogurt, esta vitamina suele degradarse (Vega et al., 2001).

En el artículo publicado por Bueno-Solano et al. (2009) se determinó mediante HPLC con detección por fluorescencia, la presencia de riboflavina en varias muestras de lácteos. La preparación de la muestra inició con una hidrólisis ácida, seguida por una digestión enzimática, y, por último, la precipitación de proteínas. Posteriormente, se utilizó un sistema isocrático en el análisis cromatográfico. Los resultados reportados indican que el contenido de riboflavina alcanzó un valor de 15,41 µg/g BS en la leche pasteurizada y 3,078 µg/g BS en yogurt (Bueno et al., 2009).

Determinación de residuos de triclabendazol en lácteos

El triclabendazol (TCBZ) es un desparasitante de alto espectro de uso extenso en bovinos y en general, en la veterinaria; se lo emplea para tratar la fasciolosis que afecta a humanos y animales. La presencia de residuos de este fármaco, así como el de sus metabolitos sulfóxido de triclabendazol (TCBZSO) y triclabendazol sulfona (TCBZSO₂) en leche fresca y derivados lácteos, representan un problema de salud pública, además de que su uso está prohibido en vacas lactantes (Huamán, 2021).

En el estudio realizado por Reyna Corina en 2014, se determinaron residuos de TCBZ y TCBZSO en leche y queso mediante cromatografía líquida de alta resolución. Para la extracción de estos compuestos en muestras de leche se agregó acetonitrilo y adicionalmente, se centrifugaron las mezclas homogéneas. La muestra se inyectó directamente al equipo de HPLC, cuya fase móvil estuvo compuesta por acetonitrilo y acetato de amonio. El equipo empleado utilizó un sistema de detección por luz ultravioleta a longitud de onda de 300 nm. Ninguna de las muestras de queso y leche presentó residuos de triclabendazol y sulfoxido de triclabendazol, por lo que se las consideraron libres del antiparasitario y seguras para el consumo (Reyna, 2014).

Determinación de melamina en leche

La melamina es una sustancia química cuyo consumo puede ser muy peligroso tanto para humanos como para animales, la melamina puede llegar a la leche y otros alimentos de

forma natural, o por malas prácticas, ya que es un químico usado en algunos envases alimentarios y también en madera (Pérez & García, 2012). También se usa la melamina intencionalmente en alimentos para cambiar las características organolépticas; en el caso de la leche, puede aparentar un mayor contenido proteico. En el 2007, en China se presentaron varios casos de intoxicación por melamina en infantes y en animales (Escobar et al., 2010). La Unión Europea y la FDA (Food and Drug Administration), establecieron como límite máximo de melamina en productos lácteos un valor de 2,5 mg/kg (Puñales, 2015).

Existen varios análisis químicos para detectar melamina en diferentes muestras. Garrido Rubio, 2017 destaca entre ellos el método de cromatografía líquida de alta resolución, debido a su alta sensibilidad, sin embargo, refiere que esta instrumentación es alta y costosa. El trabajo publicado por Puñales, 2015 inició con la extracción con solventes mediante una precipitación proteica; a continuación, se procedió a la purificación por intercambio iónico y finalmente, el análisis cromatográfico. Para realizar dicho análisis se utilizó un equipo HPLC con detección ultravioleta, el volumen de inyección de estándares y muestras fue de 90 µL para ambos casos y, la fase móvil estuvo compuesta por una solución de 1-heptano sulfonato de sodio y ácido cítrico. Los resultados finales de este estudio arrojaron valores de concentración de melamina entre 0,017 mg/kg y 0,082 mg/kg.

Especiación de yodo en leche mediante HPLC

El yodo es un elemento esencial para el correcto funcionamiento del organismo. Forma parte de las hormonas tiroideas, mismas que se encargan de regular el desarrollo y diferenciación de las células del cuerpo; del metabolismo basal, de la maduración de las neuronas y el crecimiento de huesos largos (Landaeta, 2021). El déficit de yodo es un trastorno nutricional que puede provocar retraso mental prevenible y en otros casos bocio. Es por lo mencionado que, la ingesta de este componente es recomendada en la dieta diaria (M. García, 2013). La presencia de yodo en suero de leche es de alrededor del 85%, mientras que en natas y caseína es de 2% y 7%, respectivamente (Fernández, 2004)

En productos lácteos, el yodo se puede presentar de diversas formas químicas, mismas que se determinan mediante HPLC (Cárdenas Quintana et al., 2003). Las técnicas

cromatográficas de alta resolución empleadas en los análisis de yodo son las de exclusión por tamaños y en fase reversa. La HPLC por exclusión de tamaño nos da un acercamiento de los compuestos a los que está unido el yodo en los productos lácteos, que en su mayoría son yoduros. A su vez, esta herramienta también permite evidenciar cómo ciertas fracciones de yodo se une a las caseínas, presentes en el suero láctico (Fernández, 2004).

Determinación del contenido de fosfolípidos en productos lácteos

Los fosfolípidos tienen propiedades bioactivas y presentan varios beneficios como promotores de la salud humana, en la inhibición del cáncer y en la mejora del sistema inmunológico (Castro, 2015). La presencia de lípidos polares en la leche es menor al 1%. (Miravalles, 2015). La concentración de fosfolípidos totales en la leche es variable, oscilando en un rango de 44,9 – 420,0 mg por kg de leche (J. Fontecha, 2010).

El artículo publicado por Ferreiro Portas, 2016, describe como primer paso la extracción de fosfolípidos de la leche; una vez culminada esta etapa, la metodología utilizada menciona que se identificaron y cuantificaron los componentes mediante análisis cromatográfico. El protocolo descrito para el uso de HPLC con detector de dispersión de luz. empleó una fase estacionaria de sílice con partículas de 3µm; un volumen de inyección de 20µl y una temperatura del detector de 50 °C. El contenido promedio de fosfolípidos en leches comerciales fue de 309,5 mg/kg, valores que se encuentran dentro del rango establecido previamente (Fontecha, 2010).

Determinación de aminoácidos en productos lácteos

Dentro de las fuentes proteicas, los lácteos fermentados como el yogur han aumentado su popularidad y consumo en los últimos años, por la cantidad de proteína que presentan (Medina & Lozano, 2016). Se ha establecido que para que un yogurt sea denominado como “alto en proteínas” debe contar en su contenido con un 5,6% mínimo de proteína y un máximo de 15% de grasa total (Behrmann et al., 2021).

La determinación del perfil de aminoácidos se realiza mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Glaves et al., 2021). En la tabla 3 se puede observar la cantidad de aminoácidos, esenciales y no esenciales, en mg por cada 100g del producto lácteo.

Tabla 3. Contenido de aminoácidos en miligramos (mg) por 100 g (mg/100 g) de yogures altos en proteína (YP), yogur batido (YBAT) y proteína del suero de leche (WP)

Muestra	Aminoácidos no esenciales						Aminoácidos esenciales								
	Asp (mg)	Glu (mg)	Ser (mg)	Arg (m)	Ala (mg)	Pro (mg)	Tyr (mg)	His (mg)	Thr (mg)	Val (mg)	Met (mg)	Ile (mg)	Leu (mg)	Phe (mg)	Lys (mg)
YP1	835	2079	582	414	485	819	393	450	584	629	286	625	1067	412	888
YP2	445	1224	349	283	286	539	253	342	303	367	184	337	590	243	490
YP3	485	1444	407	340	322	671	278	413	325	420	209	374	687	295	557
YP4	527	1274	321	267	204	599	269	259	255	382	143	315	578	247	460
YP5	367	1098	318	266	254	528	225	305	263	323	165	289	525	223	428
YBAT	209	610	190	180	154	319	131	247	138	188	109	160	283	115	242
WP	7,482	14,134	3,901	2,083	4,02	4,701	1,949	2,851	5,368	3,990	1,698	4,524	7,389	2,015	5,712

Asp: aspartato; Glu: ácido glutámico; Ser: serina; His: histidina; Arg: arginina; Thr: treonina; Ala: alanina; Pro: prolina; Tyr: tirosina; Val: valina; Met: metionina; Ile: isoleucina; Leu: leucina; Phe: fenilalanina; Lys: lisina.

Fuente: (Glaves et al., 2021)

1.2.3. Espectroscopia de absorción atómica (AA)

Fundamentos de la AA

Según Pérez, 2013, la espectrofotometría de absorción atómica es una técnica instrumental en la cual, los átomos presentes en la llama absorben parte de la radiación, por lo tanto, la señal disminuye y ese dato es lo que mide el detector, el cual posteriormente es transformado en una concentración; esquema que se observa en la Figura 3. De acuerdo con la medición de la cantidad de luz absorbida, se puede hacer una determinación cuantitativa de la cantidad de analito. El uso de fuentes de luz especiales y una cuidadosa selección de las longitudes de onda permiten determinar elementos específicos (Gaitán, 2006). Esta es una de las técnicas espectroscópicas más utilizadas por su sensibilidad (Briceño, 2012).

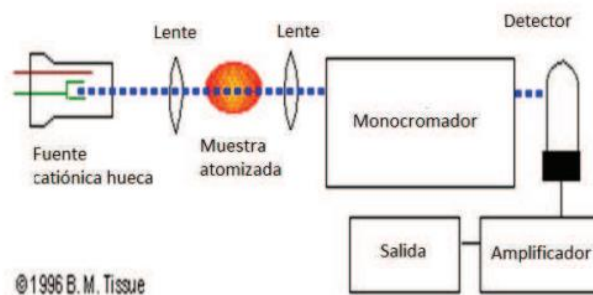


Figura 3. Esquema básico de un equipo AA

Fuente: Gallegos et al., 2012

En los alimentos lácteos, gracias al método de espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito, se ha detectado contaminación por metales como el plomo, el cadmio, el arsénico entre otros; por lo que se ha establecido la importancia de analizar periódicamente los niveles de estos metales en la leche cruda. Estos niveles varían dependiendo de las regiones, por lo que según la ubicación geográfica de la zona se deben tomar medidas correspondientes para asegurar la calidad de la leche (Mendoza & Medina, 2013)

Determinación de metales pesados en la leche

Nos referimos al término de metal pesado para cualquier elemento químico tóxico o incluso venenoso a bajas concentraciones y, cuya densidad supere los 6 g/cm^3 (Quichiyao, 2014). Se considera a los metales pesados como elementos traza, es decir, elementos cuya concentración es menor al 0,1%. En los alimentos se encuentran metales tóxicos como plomo, arsénico, cadmio, selenio y mercurio y, metales esenciales como cobre, manganeso, aluminio y cobalto (Pardo, 2001).

Para determinar las concentraciones mínimas de metales en alimentos se emplea la técnica de Absorción Atómica (Simón, 2008). La OMS (2020) refiere que una de las etapas más importantes en la vigilancia de la seguridad química de los alimentos, es la obtención de datos acerca de los niveles de determinadas sustancias que pueden estar presentes en los alimentos, por lo cual es necesario realizar un análisis de los mismos (E. López & Rodríguez, 2018)

Las fuentes de las cuales provienen los metales pesados son diversas, entre las que destacan los fertilizantes utilizados en agricultura, el agua y los alimentos ingeridos por los bovinos, el uso de material en el ordeño, el almacenamiento de la leche y su transporte (B. Méndez & Leyva, 2018).

El procedimiento seguido por Fuentes et al., 2005 para analizar los metales pesados en las muestras fue el sugerido por Gabrielli Favretto y consistió en incinerar las muestras, agregar ácido nítrico para posteriormente se disuelve antes de medir estos metales por absorción atómica. En el equipo se utilizaron lámparas de cátodo hueco y se empleó la llama de aire-acetileno para la vaporización para cada elemento analizado.

En la Tabla 4 encontramos la concentración de metales pesados por kilogramo de leche proveniente de diferentes localidades, lo que en el estudio se denominó como concentración de metales pesados por establos, y el límite permitido en diferentes lugares del mundo. Los valores promedios de zinc y cobre se encuentran dentro del límite de detección; sin embargo, el valor promedio de la concentración de plomo y cadmio sobrepasa el límite permitido. Este resultado resulta alarmante por las consecuencias que tienen estos metales pesados en la salud humana. De acuerdo con Fuentes et al., 2005 los excedidos valores se dan por varios factores como los forrajes, la calidad de agua bebida por el animal, la época de año, la contaminación automovilística de la zona, entre otros; además de factores como el método de análisis de los metales.

Tabla 4. Promedio de concentración de metales pesados por establo.

<i>Establo</i>	<i>Concentración (mg/kg) base seca</i>			
	Plomo	Cadmio	Cobre	Zinc
1	0.8714	0.2857	0.4278	3.3735
2	0.5998	0.2936	0.3396	3.2061
3	0.6296	0.3048	0.4167	3.6048
4	0.7723	0.3142	0.4816	4.0177
5	0.8299	0.2794	0.3968	3.1990
Promedio	0.7406	0.2955	0.4125	3.4802
Límite permitido				
Unión Europea	0.02	-	-	-
Rumania	0.10	0.01	0.5	5
Codex- FAO	0.02	-	-	-

Fuente: (Fuentes et al., 2005)

Según el estudio realizado por Ayala y Romero, 2013, en Ecuador fueron analizadas muestras de leche provenientes de la provincia del Oro, después de aplicar espectrofotometría de absorción atómica con generación de vapor de hidruros se determinó en el caso del mercurio que excede 2,2 veces los límites establecidos por los requisitos para leche cruda determinados en la Norma Técnica Ecuatoriana, de 0,005 mg/kg en su media; mientras que, en el caso del arsénico, aunque si se encontró presencia de este metal, no sobrepasó en ningún caso el valor de 0,015 mg/kg que es el límite permitido (INEN 0009:, 2008)

Considerando que, en Machachi se encuentran varias fincas lecheras que cuentan con un pastoreo que incluso llega a la Panamericana Sur, la determinación de metales pesados en la leche es un indicador de contaminación ambiental. Las muestras recolectadas se analizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica con horno de grafito. Todos los ensayos dieron positivo a la presencia de metales; el 98,28% de muestras sobrepasa el límite máximo de plomo permitido, que es de 0,02 mg/kg. También se detectó arsénico y mercurio en algunas muestras de leche y, a pesar de que los niveles son bajos, representan un riesgo a la salud por su capacidad de acumulación al ser potencialmente cancerígenos (de la Cueva et al., 2021).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ❖ Analizar las aplicaciones y los usos generales de las herramientas de caracterización e identificación (HPLC, AA & IR) de compuestos orgánicos en alimentos haciendo énfasis en su contribución a la inocuidad alimentaria.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conceptuar información concreta del aporte de tres herramientas de caracterización e identificación (HPLC, IR y AA) de compuestos en productos lácteos y resaltar sus virtudes para promover el interés en su estudio y aplicación en el futuro.
- Comparar información relevante sobre las condiciones actuales necesarias para manejar las tres herramientas seleccionadas (HPLC, IR, AA) en alimentos lácteos.
- Discutir la importancia y el efecto que tienen estas herramientas de caracterización en los avances de inocuidad en alimentos lácteos y otros aspectos alimenticios.

La primera fase, de revisión bibliográfica introductoria, se realizó tomando como punto de partida las palabras de búsqueda: “leche”, “importancia de la leche”, “aporte nutricional de la leche”, “industria alimentaria”, “seguridad alimentaria”, “soberanía alimentaria”, “leche en industria”, “innovación en lácteos”, “derivados lácteos”, “fundamentos de IR”, “espectrometría”, “absorción atómica”, “análisis instrumental”, “caracterización de alimentos” incluyendo sus equivalentes en inglés.

Para la organización sistemática de la información adquirida, se priorizaron los artículos relacionados con ciencias alimentarias y se dio preferencia a las publicaciones más recientes. Cabe recalcar que, el criterio de búsqueda fueron los trabajos publicados en los últimos 10 años (2012-2022).

Mendeley es una aplicación utilizada para crear una base de referencias bibliográficas, ordenarlas, gestionarlas y organizarlas. Esta herramienta fue la empleada en esta revisión sistemática (Figura 5).

AUTORES	AÑO	TÍTULO	FUENTE	ADICIONAL	EXPE
escobar, Fauré R, Muy triste, ponce, ...	2010	MELAMINA. UN PROBLEMA POTENCIAL PARA LA SALUD	Salud Anim	15/6/2022	
Fernández Eliana	2022	Propiedades funcionales de aislados proteicos de cajanus cz		9/6/2022	✓
Castillo J.	2019	"OBTENCIÓN DE ENCAPSULADOS DE FRACCIONES AC"		9/6/2022	✓
Hoyos X, Aguilar P.	2021	Estudio de Mercado N° SCPM-IGT-INAC-002-2019 "Sector L	Superintendencia de (9/6/2022	✓
Ávila J, Jaén K	2022	Análisis de marketing referente al consumo de productos lác		9/6/2022	✓
Sánchez M.	2021	Vitaminas del grupo B: funciones y alimentos en los que se €		9/6/2022	✓
Pérez A.	2021	Caracterización de leches mediante ATR FT-IR combinado c		9/6/2022	✓
Uscanga-Dominguez L, Orozco-Garci...	2019	Posición técnica sobre la leche y derivados lácteos en la sal		9/6/2022	✓
CIL ECUADOR	2021	El sector lácteo ecuatoriano se reactiva con miras positivas f		9/6/2022	✓
Rojas M.	2012	RECUPERACION DE LACTOSA Y PROTEINAS A PARTIR I	Tecnología de polvo d	9/6/2022	✓
Rojas M.	2012	RECUPERACION DE LACTOSA Y PROTEINAS A PARTIR I	Tecnología de polvo d	9/6/2022	✓
Uscanga-Dominguez L, Orozco-Garci...	2019	Posición técnica sobre la leche y derivados lácteos en la sal	Revista de Gastroent	31/5/2022	

Figura 5. Organización de la información mediante la herramienta Mendeley

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la literatura se encontraron diversas formas de controlar la calidad de los lácteos. Para el estudio de esta revisión, se dividió la información en tres grupos, de acuerdo a la herramienta de caracterización utilizada (Tabla 5).

En el primer grupo se engloba los estudios realizados con Espectroscopia infrarroja (IR), encontrando que esta herramienta tiene una amplia aplicación en la medición de la efectividad de procesos industriales, así como de control de calidad de productos antes y durante el almacenamiento, es compatible con muestras sólidas o líquidas, siempre y cuando se realice un pretratamiento adecuado a la muestra.

El segundo grupo hace referencia a los estudios y análisis de calidad que se realizaron usando Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La mayor cantidad de artículos se dirigieron a este grupo, es decir, que existe mayor número de publicaciones y estudios en la industria láctea que utilizan esta herramienta.

Finalmente, en el tercer grupo encontramos a la Espectroscopia de absorción atómica, la cual se enfoca en la determinación de metales pesados. En la Tabla 5 se detalla información relevante sobre las tres herramientas mencionadas, en cuanto a sus características, ventajas y desventajas en su uso, junto con los principales usos en la industria láctea.

Tabla 5. Herramientas de caracterización e identificación en la industria láctea

	Espectroscopia Infrarroja	Cromatografía Líquida de Alta Definición	Espectroscopia de Absorción Atómica	Análisis fisicoquímicos
Características	Mide la longitud de onda y la intensidad de absorción de la radiación infrarroja de una muestra. el infrarrojo penetra en la muestra de manera tenue y con múltiples variaciones internas, ya que es una técnica vibracional que somete a las moléculas a un cambio en su momento dipolar para que la luz incidente sea absorbida cuando la frecuencia de vibración es igual a la frecuencia de radiación a la que es expuesto el analito (Crespo, 2016).	Se basa en el movimiento de una fase móvil a través de una fase estacionaria, con el objetivo de separar los componentes de la muestra, para esto intervienen las fuerzas químicas y físicas que mantienen unidas a las moléculas y aquellas que intervienen en la interacción de las moléculas con la fase móvil o con la fase estacionaria (Pérez, 2021). En la química analítica se usa el HPLC para separar componentes de una mezcla valiéndose de interacciones químicas del analito dentro de la fase móvil (Corzo, 2019).	Cuenta con una fuente de luz, cuya función es provocar que el analito absorba energía, al igual que en la espectroscopia IR, pero en otra zona del espectro electromagnético (UV), se mide la longitud de onda característica de cada analito y se cuantifica la intensidad de luz absorbida, esto permitirá determinar la concentración de átomos del compuesto estudiado, para esto el equipo cuenta con un sistema atomizador y de detección (Gaitán, 2006).	La mayoría son muy específicas y usan sustancias químicas, tienen guías de ejecución como las normas INEN y brindan resultados generales de los alimentos como el pH, la densidad, sólidos, cloruros, etc. Se aplican de forma algorítmica con el fin de evaluar la calidad tecnológica e higiénica, sobre todo de materias primas y en ocasiones de productos terminados como el queso (Vásquez, 2018).
Ventajas	<ul style="list-style-type: none"> - Múltiples aplicaciones. - No presenta problemas de dispersión. - No requiere pretratamiento de la muestra o es mínimo. - Naturaleza no destructiva. - Es rápido. - Compatible para varios alimentos (cualquier forma física). 	<ul style="list-style-type: none"> - Elevado poder de resolución. - Corto tiempo de análisis. - Elevada versatilidad. - Técnica no destructiva. 	<ul style="list-style-type: none"> - Permite determinar la presencia de varios elementos en forma directa. - Bajo límite de detección. 	<ul style="list-style-type: none"> - Su análisis e interpretación es sencillo.

	<ul style="list-style-type: none"> - Se acopla a otros métodos. - Es compatible con procesamiento de datos. - Bajo costo. <p style="text-align: right;">(Téllez, 2019)</p>	(Pérez, 2021)	<ul style="list-style-type: none"> - Manejo sencillo del equipo. <p style="text-align: right;">(Briceño, 2012).</p>	
Desventajas	<ul style="list-style-type: none"> - Resultados imprecisos si no se realiza una calibración adecuada con una muestra conocida que sirva de referencia para el analito. 	<ul style="list-style-type: none"> - Alto costo del equipo y ensayos. 	<ul style="list-style-type: none"> - Posibles interferencias <p style="text-align: center;">(Díaz Zamora, 2017)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Requiere pretratamientos complejos o extensos de las muestras. - Los materiales y reactivos representan una inversión considerable. - Su tiempo puede variar entre horas o días. - No es una técnica multi analítica. - Mayoritariamente, producen desechos. - Algunas son propensas a falsos. - Baja o media sensibilidad. <p style="text-align: right;">(L. Méndez, 2020)</p>
Usos en la industria láctea	Detección de lípidos, proteínas y carbohidratos (lactosa en el caso de la leche).	Detección de melamina, histamina, fosfolípidos, esfingolípidos	Detección de metales pesados: Cu, Pb, As, Cd. (Fuentes et al., 2005)	Sólidos totales, lípidos, coliformes, bacterias mesófilas, densidad, pH, acidez, conductividad eléctrica, neutralizantes, formol, cloruros. (L. Méndez, 2020)
Técnicas compatibles y/o complementarias	Reflectancia total atenuada. Técnicas quimiométricas como la Transformada de Fourier	Espectroscopia de masas. Espectroscopia infrarroja.	No hay datos.	No hay datos.

Elaborado: Hernández (2022)

La adulteración con componentes como agua, féculas, cloruros, suero de leche o azúcar en los productos lácteos han sido aplicadas desde hace más de 20 años, tiempo suficiente para desarrollar nuevos métodos de adulteración. Por lo mencionado, las pruebas de andén aplicadas para detectar ciertos componentes específicos como formol, azúcares, bicarbonato, entre otras sustancias mencionadas en la tabla 2, no son las más adecuadas para detectar otros compuestos establecidos en la tabla 6 como restos de penicilina y tilosina o metales como Cu y Pb; ya que estas pruebas son muy específicas y tienen baja sensibilidad.

Al aplicar diferentes herramientas de caracterización es posible medir la eficiencia de ciertos métodos, como la liofilización, la inmersión con salmuera o incluso métodos de separación de componentes como la microfiltración, que pueden ser aplicados con fines de innovación alimentaria o investigación. Resulta esencial su uso al diseñar nuevos métodos para la determinación de la calidad en lácteos u otros alimentos; de la misma forma es imprescindible analizar la concentración de los analitos de interés en productos lácteos, como helado con prebióticos, en el que se analiza la concentración de fructooligosacáridos; en leche y otros productos lácteos también se puede determinar riboflavina, glicomacropéptidos y otros compuestos establecidos en la tabla 7, al determinar compuestos como estos en los productos lácteos, es importante usar técnicas como el HPLC e IR por la elevada sensibilidad y baja especificidad que presentan estas herramientas de identificación (González & Ramírez, 2018).

La innovación y creación de productos lácteos requieren una gran cantidad de ensayos antes de ser comercializados de forma segura, es allí donde intervienen las herramientas de caracterización, ya que éstas tienen la capacidad de ejecutar suficientes ensayos como sean necesarios, haciendo el método viable económicamente (A. Pérez, 2021).

Las técnicas de caracterización permiten determinar que las cantidades de los nutrientes y componentes orgánicos sean las adecuadas para asegurar que el producto está fresco y no ha sido desnaturalizado por factores externos como el clima, contaminación cruzada, personas que buscan minimizar costos de producción (Periago, 2013). Además de determinar y cuantificar ciertos componentes que en excesiva concentración son tóxicos para la salud, como se denota en la Tabla 6.

Tabla 6. Compuestos potencialmente tóxicos detectados con las técnicas de caracterización

Producto	ANALITOS		
	IR	HPLC	AA
<i>Leche</i>	- <i>Melamina</i>	- <i>Triclabendazol</i> - <i>Tilosina</i> - <i>Penicilina</i>	- <i>Cu, Pb,</i> <i>As, Cd</i>
<i>Leche en polvo</i>	- <i>Melamina</i>		- <i>Cu, Pb,</i> <i>As, Cd</i>
<i>Queso</i>		- <i>Histamina</i> - <i>Triclabendazol</i> - <i>Tilosina</i>	- <i>Cu, Pb,</i> <i>As, Cd</i>

Elaborado: Hernández (2022)

Al complementar los métodos tradicionales con diferentes herramientas como la espectroscopia IR no solo se puede controlar que los productos lácteos se conserven de forma en la que no pierdan sus compuestos nutritivos o sus características organolépticas iniciales, también se pueden determinar métodos para obtener productos nutritivos, enriquecidos y seguros a partir de subproductos como el suero de queso.

El equipo de espectroscopia infrarroja, ha demostrado ser muy útil para determinar la eficiencia métodos de separación como la filtración por membrana, la precipitación química y la extracción líquido-líquido, incluso en tratamientos de proceso como el de curado o coagulación de los quesos, también es útil para comprobar el aporte nutricional de los alimentos comerciales cuantificando sus componentes (M. Rojas, 2012b). Este tipo de caracterizaciones enfatiza la importancia de las proteínas solubles presentes en el suero y en la leche en polvo, así como vitaminas del grupo B, lactosa y ácido ascórbico. El estado de estos componentes, así como las cantidades en las que se encuentran presentes en subproductos lácteos como el suero, pueden ser determinados aplicando espectroscopia infrarroja, después de preparar la muestra con los métodos de separación adecuados para ser analizada, como la ultrafiltración (Pérez, 2021).

Gracias a este tipo de investigaciones se ha determinado que se pueden desarrollar alimentos enriquecidos con vitaminas del grupo B, ácido ascórbico y algunos

aminoácidos como la prolina, leucina, lisina entre otros, así lo establece Medina en su estudio donde analiza por HPLC la conservación de la concentración de varios aminoácidos en muestras de yogurt (Medina & Lozano, 2016); también se puede utilizar la lactosa extraída del suero de leche en dietas para animales, fermentación de alimentos o incluso en la formulación de medicamentos; por lo que se espera que en el futuro se comercialicen alimentos de este tipo (C. Sánchez & Bustamante, 2014).

También es posible determinar las condiciones más adecuadas para el tratamiento tecnológico de los alimentos, como en el caso del queso mozzarella, en el que por medio de espectroscopia infrarroja se puede determinar la concentración adecuada de salmuera y el tiempo de inmersión para que el queso no esté muy salado y que el centro del queso no este insípido (Quintero González, 2018).

El método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es uno de los métodos más empleados en la industria alimentaria para la cuantificación y control de calidad de sustancias nutraceuticas (Atauje, 2018). Las herramientas de caracterización como esta, permiten determinar la presencia de compuestos prebióticos en diferentes tipos de alimentos, incluyendo materias primas como la leche. También son capaces de cuantificar varios tipos de sustancias, de esta manera es posible evaluar la conservación de estos elementos en los alimentos después de ser sometidos a tratamientos o transformaciones para obtener sus derivados como el helado, la mantequilla, leche en polvo, etc. Al analizar esta información brindada por las herramientas de caracterización, se puede determinar los tratamientos más convenientes para la conservación de nutrientes o prebióticos, de este modo es que se elaboran los alimentos enriquecidos que complementan la dieta de las personas y contribuyen a la conservación y desarrollo de su salud.

Los daños que ocasiona la presencia de metales pesados en alimentos, particularmente la leche, en la salud pública es un tema necesario de abordar. La presencia de metales suele ser asintomática por un largo tiempo de vida por lo que no es un factor a considerarse en los exámenes de rutina (Méndez, 2018).

A diferencia de los adultos, los niños son más sensibles a los efectos de los metales pesados. Se ha demostrado que la absorción de plomo podría ser la causa del retraso en el desarrollo mental y corporal de los infantes. Además, puede causar problemas de concentración, deficiencia de la función renal y cardiovascular y, en casos extremos, cáncer (Quichiyao, 2014).

Es importante tener un control de la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de los lácteos, ya que la mayoría de estos productos, excepto los productos secos como la proteína o leche en polvo, tienen una actividad de agua considerable, lo que los hace propensos a contaminación microbiana o una rápida descomposición, un ejemplo de esto son los quesos como Toma, Pecorino, Cheddar y Gouda, entre otros, en los cuales se ha detectado mayor presencia de tiramina, putrescina, cadaverina e histamina, que son aminas biógenas, cuyo consumo puede provocar una infección o intoxicación (G. Hernández et al., 2019).

En la tabla 6 se observó que la mayoría de las determinaciones de compuestos potencialmente tóxicos fueron realizados con HPLC, que, al ser una técnica de separación, presenta mayor potencial para analizar compuestos como antibióticos residuales en productos lácteos, sustancias que tienen como mayor complicación su separación de la muestra para su análisis (Faria et al., 2000). En segundo lugar, está la espectrometría de absorción atómica, cuya aplicación ha demostrado ser la más usada para detectar metales pesados en alimentos. Por otro lado, en la tabla 7 se demuestra que la espectrometría infrarroja tiene un gran potencial de aplicación para examinar la composición química de la leche y sus derivados, esto la hace útil para analizar parámetros de control de procesos. El IR es la principal herramienta utilizada para medir muestras de leche entera, semidesnatada, desnatada, con calcio y vitaminas o modificadas con la alteración de lípidos o la composición de grasas (Arango, 2015). El IR es usada en caracterización de macronutrientes en productos lácteos antes que el HPLC porque es más económica, rápida y fácil de usar, a pesar de eso, el HPLC sigue teniendo un gran potencial para aplicarse en esta área cuando se trata de compuestos más específicos como la riboflavina o los fructooligosacáridos, puede estar relacionado a su principio de

separación; finalmente la AA normalmente no es aplicada en esta área por su complejidad.

Según varios estudios analizados por De Fuentes et al (2008) la espectroscopia infrarroja es útil para la diferenciación de tipos de leche, de esta forma se puede verificar que cumpla con los estándares característicos de una leche deslactosada, descremada o entera, también se puede identificar de que animal proviene la leche (vaca, cabra, otros). También se encontraron investigaciones en los que la espectroscopia en el infrarrojo medio es usada en el control de autenticidad y calidad de los quesos (De Fuentes et al., 2018).

Tabla 7. Compuestos nutritivos detectados con las técnicas de caracterización

Producto	Analitos	
	IR	HPLC
Leche	- Lactosa - Ácido ascórbico - Vitaminas del grupo B	- Yodo - Fosfolípidos - Riboflavina - Glicomacropéptidos
Leche en polvo	- Lactosa - Ácido ascórbico - Vitaminas del grupo B	- Riboflavina
Queso	- Sólidos totales - Grasa - Proteína - Sal y cloruros	- Riboflavina - Proteínas
Yogurt	- Sólidos totales - Grasa - Proteína - Sal y cloruros	- Riboflavina - Aminoácidos esenciales
Helado	- Sólidos totales - Grasa - Proteína - Sal y cloruros	- Fructooligosacáridos - Prolina - Leucina - Lisina - Vitamina C

Fuente: Hernández (2022)

En la tabla 8 se resume de forma general lo establecido en las tablas 6 y 7, que es el potencial de aplicación que tienen las herramientas de caracterización en parámetros de análisis en productos lácteos, como la composición nutricional, la inocuidad y la calidad de estos alimentos. La información de esta tabla está basada en la cantidad de información

encontrada para cada caso, por lo que un potencial de aplicación alto corresponde a la evidencia de la variedad de aplicaciones de dicha herramienta en cada área, siendo que el HPLC presentó, según la información estudiada para este trabajo, un alto potencial de aplicación en las tres áreas, mientras que el IR se caracterizó por tener un bajo potencial de aplicación en cuando a la inocuidad de la leche y sus derivados pero un alto potencial en el análisis de compuestos químicos (nutrientes) así como en el control de calidad de estos alimentos; por último, la AA solo presentó potencial de aplicación en el área de inocuidad, debido a su capacidad para determinar la presencia de metales pesados en productos lácteo.

Tabla 8. Potencial de las herramientas de caracterización en diferentes parámetros relacionados con los alimentos

	IR	HPLC	AA	Pruebas Físico químicas
Calidad alimentaria	Alto	Alto	Bajo	Medio
Inocuidad	Bajo	Alto	Alto	Bajo
Composición nutricional	Alto	Alto	Bajo	Bajo

Fuente: Hernández (2022)

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- Las herramientas de caracterización permiten analizar diferentes etapas en la elaboración de productos lácteos, de esta forma se puede garantizar que la composición de estos alimentos este dentro de parámetros aceptables de calidad. El aporte positivo a la inocuidad alimentaria es indiscutible ya que, con HPLC, AA e IR se identifican compuestos tóxicos en lácteos, así como su concentración y posible incidencia en la salud. Además, permiten detectar y cuantificar la presencia de nutrientes en subproductos lácteos que podrían ser aprovechados en la elaboración o el enriquecimiento de otros productos procesados.
- Las herramientas de identificación y caracterización HPLC, IR y AA aportan en el conocimiento sobre la composición y concentración de ciertos compuestos en productos lácteos. El HPLC es el método más utilizado en la industria, permite determinar la presencia de varios compuestos orgánicos como fosfolípidos, histamina, melamina, entre otros. La IR emplea varios programas de procesamiento de datos, lo que hace muy fácil y rápido el procesamiento de muestras; mediante la IR es posible establecer las mejores condiciones para el tratamiento de los alimentos. Finalmente, la absorción atómica permite identificar la concentración de metales pesados en leche y sus derivados. Con la ayuda de estas herramientas también es posible medir la eficiencia de ciertos métodos que pueden ser aplicados con fines de innovación alimentaria o investigación.
- Las condiciones actuales sobre el manejo de HPLC, IR y AA en alimentos lácteos denotan la falta de control de calidad en la composición de estos productos. A pesar de la facilidad de la metodología en los ensayos a realizarse y la variedad de compuestos que pueden ser identificados, el desconocimiento de estas herramientas, así como el costo de la maquinaria, no permite que sea generalizado su empleo en los análisis de leche y derivados.

- Los avances de inocuidad alimentaria han confirmado que las herramientas de caracterización e identificación son de gran importancia para identificar adulteraciones y/o contaminaciones en productos lácteos, que no se pueden determinar con exactitud mediante ensayos fisicoquímicos. Debido a que las adulteraciones utilizadas son casi imperceptibles, es imprescindible aplicar métodos con mayor sensibilidad (HPLC, IR y AA), que resulten rentables económicamente y con capacidad para múltiples aplicaciones.

RECOMENDACIONES

Aplicar diferentes estrategias metodológicas para socializar las utilidades de las herramientas de caracterización analizadas, como elaboración de guías prácticas actualizadas sobre temas modernos, diseño y exposición de proyectos universitarios, cursos prácticos y dinámicos de precio accesible y evaluaciones constantes y actualizadas sobre dichos temas para verificar la actualización de conocimientos.

Desarrollar y aplicar una encuesta sobre el potencial que tiene la espectroscopia infrarroja, la cromatografía líquida de alta resolución, la espectroscopia de absorción atómica y otras técnicas de caracterización en los lácteos y otros alimentos, para evaluar el nivel de conocimiento actual de las personas involucradas con este tipo de herramientas en su profesión, con el fin de determinar un punto de partida para medir el avance que se pueda realizar en futuras capacitaciones o socializaciones del tema.

Analizar el uso de otras herramientas de caracterización en la industria láctea como la microscopia electrónica de barrido, que además de detectar componentes, permite conocer la morfología y distribución de los compuestos e identificar la presencia de péptidos en las partículas o la espectroscopia de fluorescencia sincrónica, que es una técnica rápida y no destructiva que permite controlar los tiempos de coagulación y gelificación del queso

BIBLIOGRAFÍA

- Arango, O., Castillo, M., & Osorio, O. (2012). CONTROL EN LINEA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO MEDIANTE SENSORES DE FIBRA ÓPTICA. *Vitae*, 19(1), 2012. <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914003.pdf>
- Artica, L. (2014). Métodos para el análisis fisicoquímico de la leche y derivados lácteos LUIS ARTICA MALLQUI 2ª Edición: Año 2014 Editorial @ Libros y editoriales, TEIA. In 2014 (2nd ed.). Libros y editoriales, TEIA. Ltd. <https://luisartica.files.wordpress.com/2011/11/metodos-de-analisis-de-leche-2014.pdf>
- Ávila, J., & Jaén, K. (2022). *Análisis de marketing referente al consumo de productos lácteos en la zona urbana de la ciudad de cuenca durante la pandemia covid 19 en el 2020*.
- Ayala, J., & Romero, H. (2013). Presencia de metales pesados (arsénico y mercurio) en leche de vaca al sur de Ecuador. *La Granja*, 17(1), 36. <https://doi.org/10.17163/lgr.n17.2013.03>
- Bahamonde, R. A., & Jiménez, D. C. (2015). *Estudio de la adulteración de leche cruda con suero de quesería, mediante Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia (UPLC)*. Universidad Central del Ecuador.
- Behrmann, A. G., López, J. G., & Álvarez, M. M. (2021). Etiquetado nutricional y perfil de aminoácidos en lácteos chilenos altos en proteína: nueva alternativa para la salud y el deporte. *Nutrición Hospitalaria*, 38(5), 1075–1081.
- Beltrán, C. (2017). *SO “EXTRA-LABEL” DE ANTIBIÓTICOS MACRÓLIDOS EN GANADO CAPRINO LECHERO. DETECCIÓN DE RESIDUOS EN LA LECHE Y EL QUESO DE CABRA [UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA]*. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/75966/>
- Briceño, M. (2012). *Avances en el empleo de la espectrometría de absorción atómica con atomización electrotérmica: especiación no cromatográfica*. Universidad de Murcia.
- Bueno, C., Campas, O. N., Díaz, A. S., Izaguirre, E. I., Verdugo, W., Estrada, M. I., Sánchez, D. I., & López, J. (2009). CUANTIFICACIÓN DE RIBOFLAVINA (VITAMINA B2) EN PRODUCTOS LÁCTEOS POR HPLC. *Revista Chilena de Nutrición*, 36(2), 136–142. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182009000200005>
- Cárdenas Quintana, H., Gómez Bravo, C., & Pretell, E. A. (2003). Contenido de yodo en leche de vacuno procedente de la Sierra y Costa del Perú. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53(4), 408–412.
- Castón, J. (2017). *HIGIENE, INSPECCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE*.
- Castro, M. (2015). *Caracterización y funcionalidad de los fosfo- y esfingolípidos de la membrana del glóbulo graso lácteo para su aplicación como ingredientes bioactivos en derivados lácteos funcionales*. Universidad Autónoma de Madrid.

- Chávez, J., Osorio, F., Altamirano, E., Raymundo, C., & Dominguez, F. (2019). Lean production management model for SME waste reduction in the processed food sector in Peru. *Advances in Intelligent Systems and Computing*, 971, 53–62. https://doi.org/10.1007/978-3-030-20494-5_5
- CIL ECUADOR. (2021, December 9). *El sector lácteo ecuatoriano se reactiva con miras positivas para el 2022*. <https://www.cil-ecuador.org/post/el-sector-lácteo-ecuadoriano-se-reactiva-con-miras-positivas-para-el-2022>
- Crespo, S. I. (2016). “Efecto de la temperatura de cuajado de la leche sobre el rendimiento quesero, la composición química y la valoración sensorial de quesos frescos de cabra” (Vol. 1, Issue 1).
- Corzo, A. (2019). Técnicas de análisis en química orgánica - Cromatografía. In UNSE. <https://fcf.unse.edu.ar/archivos/series-didacticas/SD-44-Cromatografia-CORZO.pdf>
- Cruz, E., Miño, G., Bastidas, F., & Cruz, M. (2021). Situational Analysis of the Production of Milk and Cheese in Several Productive Sectors of Ecuador and Its Quality Under Ecuadorian NTE INEN Regulations. *ESPOCH Congresses: The Ecuadorian Journal of S.T.E.A.M.*, 1246–1277–1246–1277. <https://doi.org/10.18502/ESPOCH.V1I5.9563>
- Cuevas Mantecón, S. (2017). *Optimización de las condiciones de derivatización en la determinación de histamina mediante HPLC con detección fluorimétrica*.
- de la Cueva, F., Naranjo, A., Puga, B., & Aragón, E. (2021). PRESENCIA DE METALES PESADOS EN LECHE CRUDA BOVINA DE MACHACHI, ECUADOR. *La Granja*, 33(1), 2021. <https://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.02>
- De Fuentes, M., Bosch, C., & Sánchez, F. (2018). Aplicación de la Espectroscopia del Infrarrojo Medio en Química Analítica de Procesos. *Bol. Soc. Quimica*, 2(3). <http://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V2/N3/1-Fuentes Navarta.pdf>
- Díaz Zamora, R. (2017). *Ventajas y desventajas del análisis por ICP-MS de metales pesados en muestras biológicas*.
- Escobar, A., Faure, R., Sosa, D., Ponce, P., & Vega, S. (2010). MELAMINA. UN PROBLEMA POTENCIAL PARA LA SALUD ANIMAL Y HUMANA COMO ADULTERANTE EN LOS ALIMENTOS CON ÉNFASIS EN LA LECHE. *Salud Anim*, 32(1), 1–10.
- Fallon, A., Booth, R., & Bell, L. (1987). Applications of HPLC in Biochemistry. *Methods of Biochemical Analysis, Volume 3*, 3(4), 1–337.
- FAO. (2014). *Producción y productos lácteos: Economía*.
- Faria, J., Allara, M., Arenas, L., & Márquez, E. (2000). Extracción y cuantificación de penicilina G en leche cruda por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) - Document - Gale OneFile: Informe Académico. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, 10(3). <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA498676005&sid=googleScholar&v=2.1>

&it=r&linkaccess=abs&issn=07982259&p=IFME&sw=w&userGroupName=anon~8603a276

- Fernández, L. (2004). *Especiación de iodo en leche mediante HPLC-ICP-MS / Documentos - Universidade de Santiago de Compostela*. Universidad de Santiago de Compostela.
- Ferreiro Portas, T. (2016). *Estudio del contenido de fosfolípidos en leche y productos lácteos*.
- Fontecha, J. (2010). LA GRASA LÁCTEA COMO FUENTE DE INGREDIENTES BIOACTIVOS. *Sialaleche*.
- Fontecha, L. M. R. A. and M. V. C. and M. A. V.-T. and P. C.-G. and F. H. and M. J. and F. J. (2010). *Lípidos bioactivos en productos lácteos*. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo.
- Fuentes, H. R., Alejo, E. S., Sánchez, M. R., Contreras, J. A. V., Askar, K. A., Turanzas, G. M., & Ortíz, J. C. R. (2005). Metales pesados en leche cruda de bovino. *RESPYN Revista Salud Pública y Nutrición*, 6(4).
- Gaitán, D. A. (2006). *DURACIÓN DEL EFECTO INHIBITORIO DE LA ADMINISTRACIÓN DE CINC SOBRE LA ABSORCIÓN DE HIERRO*. Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos.
- Galindo, L., Valbuena, E., & Rojas, E. (2006). Estandarización de la detección del Glicomacropéptido Por Page-SDS como índice de Adulteración de Leche. *Maracaibo*, 16(3).
- Gallegos, W., Vega, M., & Noriega, P. (2012). Espectroscopía de absorción atómica con llama y su aplicación para la determinación de plomo y control de productos cosméticos. *La Granja*, 15(1), 19–29.
- GARCÍA DE MARINA BAYO, A., & Yusa Marco, D. J. (2016). HPLC instrumental. *Colección Manual de Referencia*.
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2013). *Determinación del contenido en grasa de la leche por el método Gerber*.
- García, M. (2012). *Caracterización de bacterias productoras de histamina en queso*. Universidad de Oviedo.
- García, M. (2013). *Situación nutricional de yodo en niños de entre 3 y 14 años: variables individuales, familiares, dietéticas, analíticas y ecográficas*. Universidad Autónoma de Madrid.
- Garrido Rubio, C. (2017). *Determinación analítica de melamina en muestras de leche*.
- Giunta, I. (2009). Soberanía alimentaria entre derechos del buen vivir y políticas agrarias en Ecuador. *Red Internacional de Estudios Sobre Sociedad, Naturaleza y Desarrollo*, 38(1), 109–122.
- Glaves, A., Gómez, J., & Monsalves, M. (2021). Etiquetado nutricional y perfil de aminoácidos en lácteos chilenos altos en proteína: nueva alternativa para la salud y el deporte. *Nutrición Hospitalaria*, 38(5), 1075–1081. <https://doi.org/10.20960/NH.03632>

- Gómez, E., Martínez, E., & Rivas, J. (2016). La seguridad y soberanía alimentaria. *Rev. Iberoam. Bioecon. Cambio Clim.*, 2(1), 315–324. <https://doi.org/10.5377/RIBCC.V2I1.5702>
- González, C., & Ramírez, J. (2018). Desarrollo y validación de un método para la cuantificación de fructooligosacáridos en un helado prebiótico. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 6(8), 109–116.
- Hernández, G., García, R., Quintáns, J., Sánchez, Y., Cardona, M., & Vivar, A. (2019). DETERMINACIÓN DE HISTAMINA EN QUESOS POR HPLC. *La Alimentación Latinoamericana*, 1(340), 56–60.
- Hernández, R., García, A., Jordán, M., Sánchez, Y., Cardona, M., & Vivar, A. (2019). DETERMINACIÓN DE HISTAMINA EN QUESOS POR HPLC.
- Hoyos, X., & Aguilar, P. (2021). Estudio de Mercado N° SCPM-IGT-INAC-002-2019 “Sector Lácteo” Versión pública. *Superintendencia de Control Del Poder de Mercado*.
- Huamán, M. (2021). *Determinación de los residuos de triclabendazol en leche de vacas procedentes de dos centros de crianza de ganado destinadas a la producción de derivados lácteos en el departamento de Cajamarca, mediante HPLC-DAD*. Universidad Peruana Cayetano Heredia.
- Izquierdo, P., Allara, M., Torres, G., Garcia, A., Barboza, Y., & Piñero, M. (2003). Histamina en quesos madurados: Manchego, parmesano y de año. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 13(6).
- Jaramillo, C. (2021). *Desarrollo de un suplemento nutricional a partir de lactosuero para deportistas adultos*. Universidad Técnica del Norte: .
- Landaeta, R. (2021). *LA ALIMENTACION NUTRITIVA COMO ELEMENTO FUNDAMENTAL EN LA ALIMENTACIÓN ESCOLAR EN LA M/J CLEMENTE RODRÍGUEZ PÉREZ*. Universidad del Valle del Momboy.
- López, A. M. (2017). *Caracterización de compuestos bioactivos en productos y subproductos vegetales mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas*.
- López, E., & Rodríguez, D. (2018). Cuantificación por absorción atómica de Cu, Fe y Zn en alcohol destilado y agua. *Cuadernos de Investigación UNED*, 10(2), 387–396. <https://doi.org/10.22458/URJ.V10I2.1998>
- Medina, P., & Lozano, J. (2016). Separación de aminoácidos contenidos en una muestra de yogurt por cromatografía en capa fina. *Recuperado de https://S3.Amazonaws.Com/Academia.Edu/Documents/45538328/SEPARACION_DE_AMINOACIDOS_CONTENIDOS_EN_UNA_MUESTRA_DE_YOGURT_POR_CROMATOGRAFIA_EN_CAPA_FINA.Pdf*.
- Méndez, B., & Leyva, M. (2018). *Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos del humedal alto andino Collotacocha – Canray –Recuay- Ancash y sus efectos en la actividad ganadera, período 2017*. UNIVERSIDAD NACIONAL “SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO.”

- Méndez, L. (2020). *Manual de prácticas de Análisis de Alimentos*.
- Mendez, R. (2018). *Biodisponibilidad de metales pesados en sedimentos del humedal alto andino Collotacocha – Canray –Recuay- Ancash y sus efectos en la actividad ganadera, período 2017*. UNIVERSIDAD NACIONAL “SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO.”
- Mendoza, Y., & Medina, C. (2013). *Determinación de plomo y cadmio por espectrofotometría de absorción atómica en leche cruda de bovino en establos lecheros del distrito de Chancay-Huaral, 2013*. Universidad WIENER.
- Miravalles, A. (2015). *ESTUDIO COMPARATIVO DE DIFERENTES PROCESOS DE AISLAMIENTO DE FOSFOLÍPIDOS Y ESFINGOLÍPIDOS LÁCTEOS Y SU POSTERIOR CARACTERIZACIÓN CROMATOGRÁFICA MEDIANTE HPLC-ELSD*.
- Moreno, M. (2012). Coagulación de la leche . Desarrollo de un dispositivo para el “ monitoreo ” online del proceso . Avances en la Argentina. *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*, 2(1), 11. <http://ria.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2012/08/By-Sbodio-castellano4.pdf>
- Novoa, C., Baylon, C., & Juménez, D. (1987). *GENERALIDADES SOBRE LA ELABORACIÓN DE DERIVADOS LÁCTEOS*. SENA.
- OMS. (2020). *Inocuidad de los alimentos*.
- Orts Tejero, Y. (2021). *Análisis de la leche mediante la espectroscopia de infrarrojos para estimar la presencia de mamitis en ganado caprino*. Universitat Politècnica de València.
- Pardo, M. (2001). *Aplicación de técnicas atómicas para la determinación de metales y especiación de arsénico en alimentos infantiles y aditivos alimentarios - Dialnet*. Universidad de Murcia.
- Pérez, A. (2021). *Caracterización de leches mediante ATR FT-IR combinado con técnicas quimiométricas*.
- Pérez, C. de la J. R., & García, M. A. (2012). La melamina como causa de intoxicación alimentaria. *REDUCA*, 4(15).
- Pérez, M. (2017). *Estudio de Aglomeración y Exudación en Queso tipo Parmesano Rallado, Elaborado en Planta Quesera*. Universidad Austral de Chile.
- Pérez, P. (2013). *EVALUACIÓN DE ARSÉNICO EN ORINA DE POBLADORES ADULTOS DEL DISTRITO DE ITE. TACNA 2012*. UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN-TACNA.
- Periago, J. (2013). *HIGIENE, INSPECCIÓN Y CONTROL DE CALIDAD DE LA LECHE* .
- Pilco, S. (2013). *Utilización de Pectina, Gelatina y Goma Xantana en el Manjar de Leche a Base de Lactosuero*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Pintor, M., & Totosaus, A. (2013). Functional properties of frozen dairy systems and their relation to ice cream texture: a review. *CienciaUAT*, 7(2), 55–61.

- Puñales, M. (2015). *Determinación de la presencia de melamina en leche uruguaya* [Tesis Doctoral]. Universidad de Buenos Aires.
- Quichiyao, F. (2014). *Determinación de Elementos Traza en productos lácteos en polvo, utilizados en el Programa de Alimentación del Ministerio de Salud del Gobierno de Chile*. Universidad Austral de Chile.
- Quintero, C. (2018). *EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE LA SALMUERA Y TIEMPO DE INMERSIÓN EN EL CONTENIDO DE CLORURO DE SODIO DEL QUESO MOZZARELLA COLANTA*. UNIVERSIDAD NACIONAL ABIERTA Y A DISTANCIA UNAD.
- Quintero González, C. C. (2018). *Evaluación del efecto de la temperatura, concentración de la salmuera y tiempo de inmersión en el contenido de cloruro de sodio en queso mozzarella*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD.
- Ramírez, A., Vega, S., Prado, G., & Gutiérrez, R. (2009). APLICACIÓN DE TRES MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETECCIÓN DE SUERO DE QUESERÍA EN LECHE UHT COMERCIALIZADA EN LA CIUDAD DE MÉXICO. *Interciencia*, 34(6), 406–412.
- Rendón, A., Morales, A., & Guillén, I. (2018). Vista de La industria 4.0 y la industria alimentaria. *Alimentaria & Solutions*, 1–17.
- Restrepo, M. (2006). *Cleaner Production in Food Industry Artículo de Revisión*. 1(1).
- Reyna, G. (2014). *Determinación de residuos de triclabendazol en leche fresca y queso mantecoso que se destina a consumo humano mediante HPLC en el distrito de Cajamarca, Perú - 2013*. Universidad Nacional de Cajamarca.
- Rios, C. (2019). *Come Comida Real* (PAIDOS IBE).
- Rodríguez, D., Cadavid, J., & Quijano, L. (2021). *DETECCIÓN DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN PRODUCCIÓN LECHERA MEDIANTE MÉTODOS CUANTITATIVOS Y CUALITATIVOS, EN HATOS DEL DEPARTAMENTO DEL (CAUCA)*. UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO.
- Rojas, E., Valbuena, E., Torres, G., Garcia, A., Piñero, M., & Galindo, L. M. (2009). Aislamiento y rendimiento del GMP mediante precipitación de lactosuero con ácido tricloroacético. *Unidad de Investigación Ciencia y Tecnología de Los Alimentos (UDICTA), Facultad de Ciencias Veterinarias*, 19(3).
- Rojas, M. (2012a). RECUPERACION DE LACTOSA Y PROTEINAS A PARTIR DEL SUERO DE QUESO DE LECHE DE VACA. *Journal Powder Technology*, 86, 85–93.
- Rojas, M. (2012b). RECUPERACION DE LACTOSA Y PROTEINAS A PARTIR DEL SUERO DE QUESO DE LECHE DE VACA. *Journal Powder Technology*, 86, 85–93.
- Sánchez, A., Vayas, T., Mayorga, F., & Freire, C. (2020). PRODUCCIÓN DE LECHE A NIVEL NACIONAL. *OBEST*, 1(1), 1–4.

- Sánchez, C., & Bustamante, A. (2014). *Diseño de modelos estandarizados de hidrólisis de lactosa como sustrato para fermentación láctica*. Diseño de modelos estandarizados de hidrólisis de lactosa como sustrato para fermentación lá.
- Sánchez, M. (2021). *Vitaminas del grupo B: funciones y alimentos en los que se encuentran*. <https://cuidateplus.marca.com/alimentacion/nutricion/2020/09/05/vitaminas-grupo-b-funciones-alimentos-encuentran-174677.html>
- Simón, E. (2008). *Los metales pesados en las aguas residuales*.
- Sombra, M. (2015). "Calidad de ricotta elaborada con diferentes proporciones de leche y suero." Universidad Nacional de La Plata.
- Suarez Ospina, D., & Morales Hernández, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas. *Lumieres - Repositorio Institucional Universidad de América*, 8(1), 1–8.
- Téllez, C. (2019). *aplicaciones de la espectroscopía infraroja en el análisis de Alimentos*. Universidad de Sevilla.
- Uscanga, L. F., Orozco, I. J., Vázquez, R., Aceves, G. R., Albrecht, R. E., Amieva, M., Bazaldua, L. A., Bernal, R., Camacho, M. E., Campos, J. A., Carmona, R. I., Castro, L. V., Coss, E., Cuevas, A. J., Escobedo, J. A., González, L. R., Huerta, F. M., Lozano, R., Martínez, S. E., ... Velázquez, M. C. (2019). Posición técnica sobre la leche y derivados lácteos en la salud y en la enfermedad del adulto de la Asociación Mexicana de Gastroenterología y la Asociación Mexicana de Gerontología y Geriátrica. *Revista de Gastroenterología de México*, 84(3), 357–371. <https://doi.org/10.1016/J.RGMX.2019.03.002>
- Vásquez, K. (2018). *Caracterización Fisicoquímica y Organoléptica de leche entera ultrapasteurizada (UHT) procesadas en las empresas lácteas establecidas en Nicaragua*. Laboratorio de Fisicoquímica de Lácteos Centroamericanos, Enero - Mayo 2017. [UNAN-MANAGUA]. <https://repositorio.unan.edu.ni/10759/1/99979.pdf>
- Vega, M., Ortega, R., Requejo, A., Navia, B., Perea, J., & Mena, M. (2001). Situación dietética y bioquímica en riboflavina de un colectivo de jóvenes de la Comunidad de Madrid. *Nutr Hosp*, 16(3), 92–96.