



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO  
AMBIENTE**



**TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE RESIDUOS DE CIPROFLOXACINO  
EN AGUA POTABLE DESTINADA AL PROCESO DE ELABORACIÓN DE  
QUESO**

**PRESENTADA POR:**

**LYCET MARÍA CÁCERES BUSTINZA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

**PUNO, PERÚ**

**2024**

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE RESIDUOS  
DE CIPROFLOXACINO EN AGUA POTAB  
LE DESTINADA AL PROCESO DE ELABOR  
ACIÓN DE QUESO**

AUTOR

**LYCET MARÍA CÁCERES BUSTINZA**

RECUENTO DE PALABRAS

**30573 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**164813 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**143 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**36.7MB**

FECHA DE ENTREGA

**Oct 31, 2024 4:09 PM GMT-5**

FECHA DEL INFORME

**Oct 31, 2024 4:12 PM GMT-5**

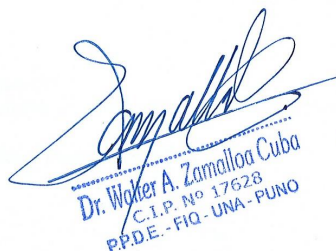
● **11% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 10% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 6% Base de datos de trabajos entregados
- 1% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)



Dr. Walter A. Zamalloa Cuba  
C.I.P. No 17628  
PP.D.E. - FIQ - UNA - PUNO



María Jared Luque Cayta  
S. ESTADÍSTICO E INFORMATIVO  
C.I.P. 116625

Resumen



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO**  
**AMBIENTE**

**TESIS**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE RESIDUOS DE CIPROFLOXACINO  
EN AGUA POTABLE DESTINADA AL PROCESO DE ELABORACIÓN DE  
QUESO**

**PRESENTADA POR:**

**LYCET MARÍA CÁCERES BUSTINZA**

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE:**

**DOCTOR EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**



APROBADA POR EL JURADO SIGUIENTE:

PRESIDENTE

  
.....  
Dr. NICANOR MIGUEL BRAVO CHOQUE

PRIMER MIEMBRO

  
.....  
D.Sc. LIDIA ENSUEÑO ROMERO IRURI

SEGUNDO MIEMBRO

  
.....  
D.Sc. FERNANDO BENIGNO SALAS URVIOLA

ASESOR DE TESIS

  
.....  
D.Sc. WALTER ALEJANDRO ZAMALLOA CUBA

Puno, 31 de enero de 2024.

**ÁREA:** Ciencias de la Ingeniería.

**TEMA:** Evaluación del efecto de residuos de ciprofloxacino en agua potable destinada al proceso de elaboración de queso.

**LÍNEA:** Recursos naturales y medio ambiente.



## DEDICATORIA

A Dios, en el cielo a mis abuelos Don Nicasio y Doña Balbina, mi madre Luz Sofia y mi pequeño Luis Fabricio.

*Lycet Maria Caceres Bustinza*



## AGRADECIMIENTOS

- A la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Altiplano, Doctorado en Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente.
- A mis asesores Dr. Franz Zirena Vilca y Dr. Walter Alejandro Zamalloa Cuba por su paciencia, orientación y aporte en el desarrollo de la presente investigación.
- Al Dr. Elías Escobedo Pacheco, director de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua por brindar y facilitar el acceso a los laboratorios de Tecnología de Productos Agroindustriales, Análisis de Productos Agroindustriales, Microbiología e Investigación, necesarios para el desarrollo de la parte experimental del presente trabajo de investigación.
- Al Dr. Franz Zirena Vilca, director del Grupo de Investigación en Contaminantes Orgánicos y Ambiente del IINDEP de la Universidad Nacional de Moquegua - Filial Ilo, por permitir realizar la cuantificación de los residuos de ciprofloxacino en las muestras de queso andino en el en el laboratorio de Contaminantes Orgánicos y Ambiente.

*Lycet Maria Caceres Bustinza*



## ÍNDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE GENERAL	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
ACRÓNIMOS	viii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	
1.1 Marco teórico	6
1.1.1 Queso	6
1.1.2 Antibióticos	13
1.1.3 Resistencia a antibióticos e implicancias en la salud pública	24
1.1.4 Análisis de fármacos por Cromatografía Liquididad HPLC	26
1.2 Antecedentes	28
1.2.1 Internacionales	28
1.2.2 Nacionales	33
1.2.3 Locales	34
<b>CAPÍTULO II</b>	
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	
2.1 Identificación del problema	35
2.2 Enunciados del problema	36
2.2.1 Problema general	36
2.2.2 Problemas específicos	36
2.3 Justificación	37
2.4 Objetivos	38
2.4.1 Objetivo general	38
2.4.2 Objetivos específicos	38
	iii



2.5	Hipótesis	38
2.5.1	Hipótesis general	38
2.5.2	Hipótesis específicas	39
<b>CAPÍTULO III</b>		
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>		
3.1	Lugar de estudio	40
3.2	Población	40
3.3	Muestra	40
3.4	Método de investigación	41
3.5	Descripción detallada de métodos por objetivos específicos	41
3.5.1	Metodología	41
3.5.2	Materiales, reactivos y equipos	50
3.5.3	Prueba estadística inferencia	53
<b>CAPÍTULO IV</b>		
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>		
4.1	Resultados	55
4.1.1	Evaluación del efecto de residuos de CFX en agua potable sobre el pH y % Acidez de queso andino a 1 y 25 días de maduración	55
4.1.2	Análisis del efecto de residuos de CFX en agua potable sobre el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteínas y color de queso andino a 1 y 25 días de maduración	58
4.1.3	Determinación de la cuantificación de la presencia (tasa residual) de CFX en queso andino a 25 días de maduración	68
4.2	Discusión	75
CONCLUSIONES		77
RECOMENDACIONES		78
BIBLIOGRAFÍA		79
ANEXOS		94



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
1. Composición de Leche y Derivados: Queso Andino	7
2. Clasificación de quesos típicos	8
3. Clasificación de antibióticos de acuerdo a su mecanismo de acción.	14
4. Clasificación de antibióticos de acuerdo a su estructura química.	15
5. Límites máximos de residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en los alimentos (Leche)	19
6. Valores de pH y % Acidez para queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable	56
7. Valores de % humedad, % cenizas, % grasa y % proteínas de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable	60
8. Efecto en el color L*, a* y b* de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable	66
9. Valores de parámetros de validación y curva de calibración del estándar de referencia ciprofloxacino	69
10. Valores de prevalencia de residuos de ciprofloxacino en queso andino a 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX inicial en agua potable	71



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
1. Efecto de ácido láctico a diferentes temperaturas de escaldado	10
2. Dilución de concentraciones de ciprofloxacino en agua	42
3. Diagrama de flujo de la elaboración de Queso Andino	45
4. a. Efecto del pH en queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable. b. Efecto del % Acidez en queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua	57
5. Efecto del % humedad, % cenizas, % grasa y % proteínas de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable	62
6. Efecto de los parámetros de color L*, a* y b* en queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable	67
7. Cromatograma para establecer la señal/ruido del estándar de referencia ciprofloxacino	70
8. Diagrama radial de la prevalencia de residuos de CFX en queso andino a 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX inicial en agua potable	73



## ÍNDICE DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
1. Matriz de consistencia	94
2. Control de calidad en la recepción de leche para elaboración de queso andino	96
3. Curva de calibración para el estándar de referencia ciprofloxacino	97
4. Análisis estadístico para la variable pH	98
5. Análisis estadístico para la variable % acidez	101
6. Análisis estadístico para la variable % humedad	104
7. Análisis estadístico para la variable % cenizas	106
8. Análisis estadístico para la variable % proteína	109
9. Análisis estadístico para la variable % grasa	112
10. Análisis estadístico para color L*, a* y b*	115
11. Análisis estadístico para la cuantificación de residuos de ciprofloxacino	121
12. Panel de imágenes del trabajo de investigación	123
13. Cromatogramas de queso andino con presencia de ciprofloxacino para muestras control	125
14. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a 40 $\eta\text{gL}^{-1}$	126
15. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a 400 $\eta\text{gL}^{-1}$	127
16. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a 1000 $\eta\text{gL}^{-1}$	128
17. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a 2000 $\eta\text{gL}^{-1}$	129
18. Ficha técnica de administración de ciprofloxacino en animales	130
19. Declaración jurada de autenticidad de tesis	131
20. Autorización para el depósito repositorio institucional	132



## ACRÓNIMOS

AOAC	:	Official Methods of Analysis
ARB	:	Resistencia a antibióticos
ARG	:	Bacterias resistentes a antibióticos
CIE	:	Comission Internationale de l'Éclairage
CFX	:	Ciprofloxacino
F	:	Flúor
mL	:	Mililitro
μL	:	Microlitro
mg	:	Miligramo
μg	:	Microgramo
ng	:	Nanogramo
°C	:	Grados centígrados
%	:	Porcentaje
HR	:	Humedad relativa
mAU	:	Señal de detección (cromatograma)
NTP	:	Normas técnicas peruanas
N	:	Normalidad
Rpm	:	Revoluciones por minuto
PCR	:	Reacción en cadena de la polimerasa
pK <sub>a</sub>	:	Constante de disociación ácida
ppb	:	Partes por billón
p/v	:	Relación peso volumen
UHPLC	:	Ultra High-Performance Liquid Chromatography

## RESUMEN


El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los residuos del antibiótico fluoroquinolona ciprofloxacina (CFX) presentes en el agua potable utilizada en el proceso de producción del queso andino madurado, sobre sus características físicoquímicas: pH, acidez, humedad, cenizas, grasa, proteína y color, así como cuantificar la presencia de CFX en el producto final. Se utilizó el método de cromatografía líquida de ultra alta resolución UHPLC-DAD. Se establecieron concentraciones de CFX de 40, 400, 1000 y 2000  $\eta\text{gL}^{-1}$  en la cuajada de sinéresis durante la etapa de escaldado. Los resultados muestran que los valores de pH (5,48-5,50), acidez (0,11-0,13 %), cantidad de proteína (28,05 %) y variación del color ( $L^*=82,65$  y  $b^*=25,84$ ) están condicionados ( $p<0,05$ ) por la presencia de CFX durante el proceso de maduración del queso. Además, el contenido en grasa (27,10 %) disminuye en función de la concentración. Se detectaron niveles de 4,54 - 6,27  $\eta\text{g}$  de CFX/g en quesos andinos ( $p<0,05$ ) para todas las concentraciones durante el proceso de maduración, con una tasa de retención de hasta el 15,68 %. Esta retención se debe a la solubilidad, alta afinidad a proteínas y característica lipofílica del CFX, así como a la susceptibilidad de los componentes de la leche a la adsorción de sustancias extrañas que entran en contacto y quedan atrapadas en su estructura, lo que puede convertir al queso madurado en un medio de contaminación para antibióticos como el CFX, representando un peligro latente para la salud pública debido a la resistencia bacteriana a los antibióticos.

**Palabras clave:** Agua, antibióticos, ciprofloxacino, contaminación, resistencia, salud pública.

## ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effect of residues of the fluoroquinolone antibiotic ciprofloxacin (CFX) present in the drinking water used in the production process of matured Andean cheese, on its physicochemical characteristics such as pH, acidity, moisture, ash, fat, protein and color, as well as to quantify the presence of CFX in the final product. The UHPLC-DAD ultra-high-performance liquid chromatography method was used. CFX concentrations of 40, 400, 1000 and 2000  $\mu\text{g/L}$  were established in the syneresis curd during the blanching stage. Results show that values of pH (5.48-5.50), acidity (0.11-0.13 %), protein amount (28.05 %) and color variation ( $L^*=82.65$  and  $b^*=25.84$ ) are conditioned ( $p<0.05$ ) by CFX presence during cheese ripening process. Additionally, the fat content (27.10 %) decreases as a function of concentration. Levels of 4.54 - 6.27  $\mu\text{g}$  of CFX/g were detected in Andean cheeses ( $p<0.05$ ) for all concentrations during the ripening process, with a retention rate of up to 15.68 %. This retention is due to solubility, high affinity to proteins and lipophilic characteristic of CFX, as well as to the susceptibility of milk components to adsorption of foreign substances that come into contact and are trapped in its structure, which can turn ripened cheese into a contamination medium for antibiotics such as CFX, representing a latent danger to public health due to antibiotics bacterial resistance.

**Keywords:** Antibiotics, ciprofloxacin, contamination, public health, resistance, water.



WENCESLAO T. MEDINA ESPINOZA  
Ing. Industrias Alimentarias Reg. CIP. 39643  
Doctor en Ciencias de la Ingeniería

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años el uso de antibióticos en medicina ha crecido sustancialmente, primordialmente en países en vías de desarrollo, donde se han observado mayores incrementos absolutos en el uso de cefalosporinas, penicilinas de amplio espectro y fluoroquinolonas (Van Boeckel et al., 2014). Los antibióticos se utilizan ampliamente en la producción ganadera para diferentes fines como el tratamiento de enfermedades, prevención y mejorar la eficiencia alimentaria (promotores de crecimiento) (Rama et al., 2017). Es así que para Bacanlı y Başaran (2019) informan que el 80 % de los animales que participan en la producción de alimentos, están siendo tratados con medicamentos veterinarios en un momento determinado durante toda su vida. Más que el propio antibiótico, el principal problema en relación con el incremento de prevalencia de resistencia a los antibióticos es el empleo de los mismos en condiciones inadecuadas, siguiendo pautas de administración completamente incorrectas (OMS, 2020). Por otro lado, se debe destacar que la sensibilidad de los microorganismos patógenos es muy variable, esta depende de las cepas y de la naturaleza del antibiótico (Villegas A., 2012). Por lo tanto, se define como agente antimicrobiano la sustancia producida por microorganismos o sintetizada químicamente, que en bajas concentraciones es capaz de inhibir e incluso destruir microorganismos sin producir efectos tóxicos en el huésped (Lorenzo P. et al., 2008). Por lo que los residuos de antibióticos en alimentos de origen animal debido al incumplimiento de las instrucciones de uso (dosis y periodo de espera) combinada con las malas prácticas de producción ganadera, están presentes en leche, huevos y carne, generando inconvenientes en la seguridad alimentaria de los consumidores (Tadesse y Tadesse, 2017).

En la industria lechera y derivados puede suponer un grave problema y amenaza a la salud pública. Alimentos contaminados con antibióticos, incluso a niveles bajos, podría ser un reservorio de bacterias resistentes a estos compuestos, por tanto, es una causa del desarrollo de antimicrobianos de resistencia, con efectos tóxicos que desencadenan una reacción alérgica en individuos ya sensibilizados a los antibióticos, hoy en día es un motivo de gran preocupación en los seres humanos en todo el mundo (Giraldo et al., 2017; OMS, 2020; Novés et al., 2015; Marshall y Levy, 2011). Los quesos son más fácilmente digeridos por lo cual muchas veces son mejor aceptados que la leche. Contienen entre 10 y 30 % de proteínas, con un alto valor biológico por su composición en aminoácidos muy importante a nivel nutricional, la presencia de antibióticos en leche

o sus derivados tiene implicancias negativas para los consumidores, industriales y ganaderos (Villegas A., 2012). Por lo tanto, la producción y algunos criterios de calidad de los productos lácteos, incluidas las características sensoriales y estructurales, pueden verse afectados negativamente por los residuos de antibióticos en la leche. Además, dependiendo de las propiedades químicas de la molécula, es posible que el fármaco no se degrade ni se pierda durante el proceso de fabricación de dichos productos (Silva et al., 2020).

Para quesos madurados en particular, la presencia de residuos de antibióticos puede causar: nula o lenta fermentación láctica, mal desuerado de la cuajada, hinchamiento precoz del queso al favorecer por ejemplo el crecimiento de la flora coliforme, al ser inhibido el crecimiento ácido láctico (Gbylik-Sikorska et al., 2021). Dado que la maduración de quesos conlleva a cambios bioquímicos, en estos intervienen principalmente las proteínas, grasas y carbohidratos de la cuajada. En efecto en muchos quesos quedan intactos dos tercios de la proteína, como lo hace la mayor parte de la grasa, aunque parte de esta última fracción es transformada en ácidos grasos y otros compuestos lipídicos, que al final imparten sabor y aroma al queso (Scott R. et al., 2010). Estos fármacos podrían retenerse en la cuajada de la leche en mayor o menor medida, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de estas sustancias y su capacidad para interactuar con la grasa y/o proteína como fracción de la matriz (Giraldo et al., 2017). Es así que, el proceso de acidificación durante la maduración se ve afectada por la presencia de antibióticos como eritromicina, amoxicilina, bencilpenicilina, cloxacilina, ciprofloxacina, enrofloxacin y oxitetraciclina, requiriendo tiempo adicional para alcanzar el pH final del queso madurado, esto sugiere que la actividad de los cultivos iniciadores estuvo fuertemente inhibida por la presencia de estos antibióticos. (Quintanilla et al., 2019)

Los antibióticos en general y las fluoroquinolonas como el ciprofloxacino en particular son una valiosa clase de antibacterianos sintéticos ampliamente utilizados en el tratamiento de enfermedades infecciosas tanto en humanos como en animales. Hasta hace poco se pensaba que la resistencia bacteriana a las fluoroquinolonas se desarrollaba muy lentamente. Hoy en día existen múltiples estudios que revelan la alarmante aparición de resistencias bacterianas y el alto riesgo de que queden terapéuticamente inútiles. La aparición de este fenómeno proviene del uso imprudente en terapia, la presencia de residuos y sus metabolitos en alimentos de origen animal y también en aguas residuales,

compost y desechos domésticos, que terminan en el suelo y en las fuentes de agua (Rusu et al., 2015).

La proliferación, prevalencia y persistencia de bacterias resistentes a los antibióticos y genes resistentes a los antimicrobianos en medios acuáticos como el agua potable tratada y no tratada, presentan un problema de salud pública cuando transfieren resistencia a los antibióticos a patógenos humanos, debido al uso excesivo e inadecuado uso de antibióticos humanos y veterinarios, lo cual representa un problema de preocupación mundial (González J. et al., 2019). Cabe destacar que muchos investigadores han demostrado la eliminación incompleta de los fármacos durante el proceso de tratamiento en las plantas de agua residual, por lo que son consideradas como las principales vías de entrada de estos fármacos al ecosistema acuático (Zhang et al., 2013). La contaminación con antibióticos genera varios efectos nocivos en el cuerpo humano a bajas concentraciones (Bouki et al., 2013), pueden interferir en la microbiota intestinal humana y causar alteraciones y sobre todo causa resistencia a fármacos ya que la administración a corto plazo puede permitir que las poblaciones de bacterias resistentes se establezcan y persistan en el cuerpo humano durante años (Jakobsson et al., 2010), los niños son los más vulnerables a los antibióticos que los adultos (Bailey et al., 2014).

En efecto, la cadena alimentaria ha sido reconocida como una de las rutas principales de transmisión de bacterias resistentes a antimicrobianos, desde los animales hasta el hombre, por lo que en esta investigación se presentan evidencias que existen vínculo entre el uso de antibióticos en la cadena de producción de alimentos y la aparición de resistencia en los microorganismos patógenos o no más comunes, en tal sentido el estudio realizado sobre la contaminación cruzada para la elaboración de queso andino, enfoca de manera científica y asevera lo antes mencionado.

Esta investigación se desarrolló en 4 capítulos, donde se detalla un modelo teórico conceptual de comportamiento de las variables de estudio y variables de respuesta según los objetivos planteados, así se analizó, evaluó e interpretó los resultados obtenidos mediante la contrastación de hipótesis. Se elabora considerando los aspectos siguientes: el problema de investigación y su importancia, indicando el área, línea y tema de investigación de los programas de la Escuela de Posgrado; el propósito de investigación y los métodos.

## CAPÍTULO I

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1 Marco teórico

##### 1.1.1 Queso

El queso es el resultado del drenaje (de líquido) tras la coagulación de la leche, nata, leche desnatada o parcialmente desnatada, grasa de la leche o una combinación de dichos ingredientes, este puede ser blando, semiduro, duro y extra duro, madurado (cambios bioquímicos y físicos) o no madurado (Scott R. et al., 2010; Codex Alimentario, 2011).

El queso andino, es un queso semiduro madurado, de pasta lavada, prensado y salado en salmuera. tiene una textura blanda y mantecosa, de color blanco amarillento, sin ojos, de corteza delgada y firme pero no dura. Tiempo de maduración no menor de 15 días, por lo general se le da hasta 50 días de maduración para obtener un mejor producto final (Trujillo, 2020).

Como su nombre lo indica, se elabora a lo largo de la cordillera de los Andes. Se diferencia de una región a otra en la intensidad del sabor y el aroma, y en las variaciones ligeras de color debido a la composición de la leche que proviene de vacas alimentadas con pastos naturales y alfalfa. Se trabaja con leche entera proveniente de ganado criollo o cruzado con Brown Swiss, que es la raza que mejor se ha adaptado a las zonas altoandinas. Es un queso madurado entre 25 a 30 días, con una corteza lisa y brillante y pasta cerrada de color crema a amarillento conforme transcurre la maduración, su sabor, aroma son intensos y es de salado suave (Castañeda R. et al., 2012).

La composición en macro y micronutrientes del queso andino se presenta a continuación en la Tabla 1.

#### A. Clasificación de quesos

La clasificación de quesos se presenta a continuación en la Tabla 2, considerando diferentes aspectos.

**Tabla 1***Composición de Leche y Derivados: Queso Andino*

Nutriente	Queso Andino	Queso tipo Paria
Energía (kcal)	375	298
Agua (g)	42	4,9
Proteínas (g)	22,6	19,2
Grasa total (g)	31,4	24,5
Carbohidratos totales (g)	0,6	0
Fibra (g)	0	0
Cenizas (g)	3,5	7,4
Calcio (mg)	736	629
Fósforo (mg)	0	0
Zinc (mg)	4,43	3,99
Hierro (mg)	0,12	0,08
Vitamina A (ug)	555	433
Tiamina (mg)	0	0
Riboflavina (mg)	0	0
Niacina (mg)	0	0
Vitamina C (mg)	0	0
Sodio (mg)	608	2254
Potasio (mg)	66	45

*Nota.* Tabla de Composición de Alimentos, Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición (2017).

## **B. Cambios fisicoquímicos del queso en la maduración**

La maduración de queso conduce a cambios en sus propiedades físicas, de apariencia, sensorial debido a la combinación de factores que junto a los microorganismos son agentes importantes. Bioquímicamente la degradación simultánea o sucesiva de compuestos en el proceso de maduración está dada por la fermentación de la lactosa, la hidrólisis de las proteínas y la degradación de la materia grasa, estas transformaciones no cesan en un estadio primario dado que los productos formados pueden a su vez ser transformados y dar lugar a la formación de nuevos compuestos, los cuales también pueden ser retrasformados por otros sistemas enzimáticos (Villegas A., 2012).

**Tabla 2***Clasificación de quesos típicos*

Tipo	Especificaciones
Según el tipo de leche	Vaca, Cabra, Oveja, Búfala
Según el tiempo de maduración	Frescos o madurados
Según la consistencia	Pasta blanda, Pasta semidura y Pasta dura
Según el contenido de materia grasa del extracto seco	Extra graso o doble crema (no menor del 60 %) Graso (45 - 59.9 %) Semigraso (25 - 44.9 %) Magros (10 – 24,9 %) Descremados (menor al 10%)
Según el contenido de humedad	Baja humedad o pasta dura (hasta 35,9 %) Mediana humedad o pasta semidura (36 – 45,9 %) Alta humedad o pasta blanda (46 – 54,9 %) Muy alta humedad o pasta muy blanda (menor a 55 %)
Según el tipo de tecnología empleada	Pasta lavada y Pasta no cocida o cocida
Según la presencia de hongos	Con ojos o sin ellos, En superficie, En el interior
Según el tipo de coagulación	Acida o láctica, Enzimática o dulce

*Nota.* Roberto Castañeda et al.( 2012).

**B.1 pH y Acidez**

Los cambios físicos, químicos y biológicos que ocurren en la leche hasta que el queso este totalmente maduro, se deben al pH del líquido o su cuajada. El delicado equilibrio físico entre los constituyentes de la leche, debido a la ionización de componentes, la captación de protones y la dispersión de sales y proteínas entre fases, determina una capacidad tampón frente al cambio de pH. Este equilibrio acido-base de la leche, suero o cuajada, es un parámetro útil para la elaboración de queso. Esta capacidad tampón dentro de un margen de pH 4,5-6,7 que comúnmente se

da durante la elaboración de queso, se debe a proteínas, fosfatos, citratos y carbohidratos (Scott R., et al., 2010).

La medida de la acidez expresada en porcentaje de ácido láctico equivalente, es arbitraria porque no todo el ácido titulado es láctico. Las proteínas los ácidos grasos, así como fosfatos, citratos carbonatos, sulfatos de calcio y magnesio, también están implicados, además el dióxido de carbono disuelto como carbonatos supone el 0,02 % de la acidez, puesto que la leche llega a contener casi el 4 % en volumen de dióxido de carbono disuelto; la difusión de suero con agua caliente en el proceso de escaldado de la cuajada, produce diferencias en la presión osmótica entre el suero y la cuajada, esto contribuye a eliminar la lactosa, se reduce la capacidad de tampón como el nivel real del ácido láctico, enmascarando así la velocidad de formación de ácido medida (Scott R. et al., 2010). El proceso de lavado de cuajada como parte de la prolongación de la sinéresis, permite eliminar sólidos, especialmente lactosa que se hace que disminuya la producción de acidez confiriéndole un aroma y sabor más suave y dulce al queso (Castañeda R. et al., 2012).

El control de la acidez desarrollada depende en parte de la velocidad de escaldado y de las temperaturas, como se muestra en la Figura 1.

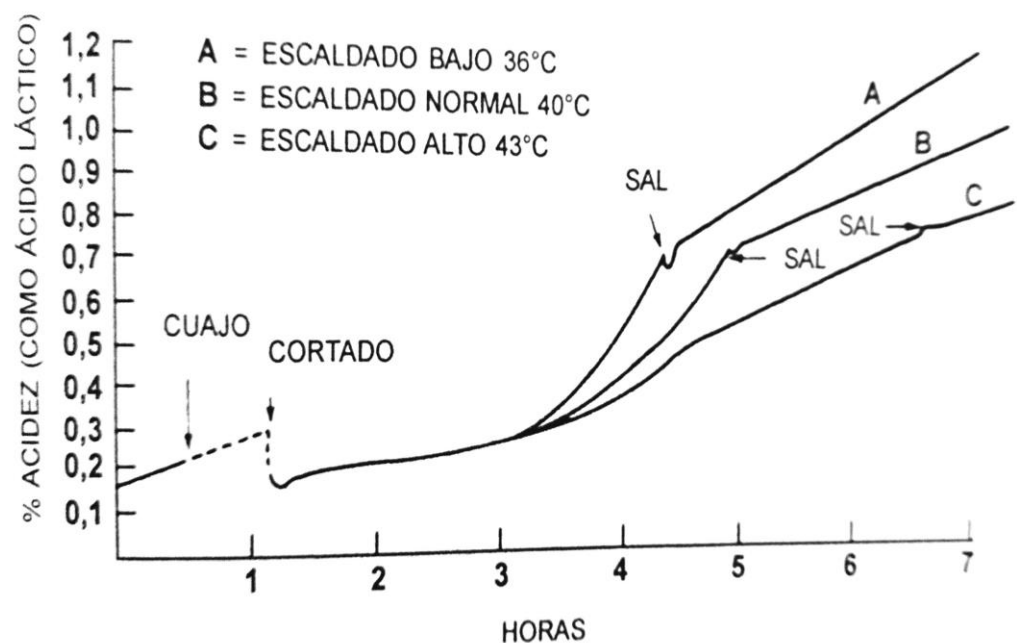
## **B.2 Humedad**

El agua en el queso se encuentra en diferentes estados: a) unida a la estructura de un componente de la cuajada, como por ejemplo de la proteína, b) débilmente mantenida por lábiles fuerzas en contacto con las partículas de la cuajada, por ejemplo, humedad higroscópica, c) humedad con libertad de movimiento dentro de la cuajada, que actúa como portadora de solutos. Estos estados de humedad de la cuajada están en equilibrio, por lo que el panorama cambia cuando las reacciones que tienen lugar en la cuajada liberan más agua unida. Lo mismo en el agua libre, el volumen de esta controla la concentración de solutos, estos pueden afectar al metabolismo bacteriano al ejercer un efecto osmótico sobre los constituyentes celulares. Por ello el crecimiento bacteriano es más

prolífico en las cuajadas ricas en humedad que en las cuajadas de escasa humedad y la velocidad de maduración es más rápida en los quesos de alta humedad. Por el contrario, la evaporación de humedad de la corteza de la cuajada acumula solutos en la parte cortical, incluidas las sales cálcicas, cambio que puede ser favorable al reducir la actividad bacteriana en la superficie del queso (Scott R. et al., 2010).

### Figura 1

*Efecto de ácido láctico a diferentes temperaturas de escaldado*



*Nota.* Villegas de Gante Abraham (2012)

### B.3 Proteólisis

Consiste en la degradación parcial de las proteínas en productos más simples y solubles. La gran variedad de agentes proteolíticos susceptibles de intervenir y la multiplicidad de vía metabólicas que el proceso degradativo explica la diversidad de productos generados en la maduración: proteasas, péptidos, amino ácidos, aminas, amoniaco, sulfuro de hidrógeno, ácidos volátiles aldehídos, cetonas, etc. Existe una estrecha relación entre la elasticidad del queso y la cantidad de caseína presente, esto es explicable si se considera que los productos de la degradación de la caseína ya no pueden contribuir a mantener la estructura elástica de la matriz proteica (Villegas A., 2012).

La proteólisis no está considerada como una desnaturalización, por lo que está constituida por la fragmentación de los enlaces polipeptídicos, el rompimiento de enlaces covalentes de la proteína es irreversible. En la naturaleza la desactivación de proteínas llamada recambio tiene por objeto la renovación de las moléculas con actividad biológica o para controlar la concentración enzimática en algún sistema lo cual se logra precisamente a través de una degradación proteolítica. El recambio también evita la preservación de posibles errores de transcripción en la síntesis de proteínas (Badui Dergal, 2006).

#### **B.4 Lipolisis**

Los productos de la degradación de la materia grasa (ácidos grasos libres, metilcetonas y ésteres) desempeñan una función primordial en el aroma; a medida que la maduración progresa el aroma y sabor del queso cambian, dependiendo de la temperatura de maduración y duración del almacenamiento (Villegas A., 2012). La hidrólisis de la grasa en quesos libera ácidos grasos volátiles como ácido butírico, caproico, caprílico y cáprico, siendo responsables del aroma y textura del queso madurado (Castañeda R. et al., 2012).

El grado de acidez de la grasa láctea, es una medida del grado de lipólisis. Un sabor rancio es perceptible a partir de alrededor de un grado de acidez de 1,4 mM/100g grasa. Normalmente en la leche cruda no se produce ninguna hidrólisis espontánea, aunque algunas leches individuales tiendan a ello. La leche puede contener junto con la lipoproteína lipasa también otras de origen microbiano como las psicrotrofas, las cuales no inactivan completamente incluso tras un tratamiento de ultrapasteurización. Las reacciones de autooxidación pueden producir defectos de sabor en el almacenamiento, en tanto mayor contenido de grasa sea mayor y van desde sabor a sebo hasta pastoso, metálico, aceitoso o a pescado (Schlimme y Buchheim 2002).

## B.5 Minerales

Se encuentran presentes en estado de iones o de sales no disociadas, la composición de minerales está estrechamente asociada con el contenido de proteínas. Los principales son el potasio, calcio, sodio, magnesio, fosfato, citrato y los cloruros. Por un lado se encuentran disueltos y por otro en estado coloidal asociados a las caseínas en el centro de las micelas, la fracción salina coloidal representa el 65 % del calcio, el 50 %, el 60 % del magnesio y el 8 % de citrato; entre este equilibrio de formas solubles y coloidales (el fosfato y el citrato, están en mono, di y trifosfatos) y entre las formas ionizadas y no disociadas (Na, K, Cl), puede modificarse por la acción de la temperatura, pH, concentración salina y otros (Villegas A., 2012).

## B.6 Color

El color de los alimentos es un atributo sensorial que a menudo se pasa por alto y que en realidad puede cambiar la percepción del sabor de los consumidores (Wadhvani y McMahon, 2012). Por ser un atributo sensorial importante de los productos lácteos, de tal forma que es afectado por factores como la dieta del animal, depende del tipo y composición de la leche, aditivos alimentarios, las tecnologías de fabricación, la actividad natural de la microflora de la leche, las técnicas de maduración durante la fabricación, variedad de queso, entre otros. (Lukinac et al., 2018).

Los principales instrumentos para medir convencionalmente el color en quesos son mediante colorímetro y los espectrofotómetros (Minz y Saini, 2021). La medición de color se informa en el sistema colorimétrico CIE  $L^*a^*b^*$ . Las coordenadas colorimétricas  $L^*$  (luminosidad, 0 % a 100 % de oscuro a luminoso),  $a^*$  (-60 a 60, de verde a rojo) y  $b^*$  (-60 a 60, de azul a amarillo), del queso (Ávila et al., 2017).

La medición del color permite detectar ciertas anomalías o defectos que pueden tener los alimentos, así esta medida se utiliza habitualmente en el control de calidad y el desarrollo de productos para evaluar el color de la cuajada y el queso. Cabe mencionar que el color del

queso varía de blanco a naranja (León et al., 2006). Sin embargo, para Rohm y Jaros (1996) el tiempo de maduración puede disminuir valores como la luminosidad ( $L^*$ ) y el aumento de la cromaticidad ( $a^*$  y  $b^*$ ) o viceversa.

La colorimetría se utiliza para explicar cómo se pueden medir y especificar los colores de forma científica, así el color puede expresarse en atributos subjetivos (respuesta del observador) y objetivos (medidos por instrumentos), por lo que hay tres atributos psicológicos para la descripción de color: tono, luminosidad y cromaticidad. (Lukinac et al., 2018)

La tendencia actual de los consumidores es la evidente preocupación por la salud, características de bienestar y la seguridad alimentaria, de tal forma que el color de un producto juega un papel notable en la selección de un alimento, es así que los productos lácteos en general están relacionados con la apariencia (Milovanovic et al., 2021).

### 1.1.2 Antibióticos

Los antibióticos son compuestos químicos producidos por microorganismos que destruyen (bactericidas) o inhiben el crecimiento de otros microorganismos (bacteriostáticos); pueden ser de amplio espectro, activos contra una amplia gama de microorganismos, o tener efecto activo contra un grupo específico, siendo capaces de interferir con un proceso metabólico específico de esos microorganismos. Actualmente son obtenidos mediante síntesis química (compuestos antimicrobianos sintéticos) o por modificación de algunas de las características químicas del núcleo básico de un antibiótico producido por un macroorganismo (compuestos antimicrobianos semisintéticos) para mejorar sus propiedades farmacocinéticas, su espectro de actividad o para disminuir su toxicidad (Lorenzo P. et al., 2008).

Los antibióticos se han considerado como contaminantes ambientales emergentes bajo la categoría de Fármacos y productos de cuidado personal. Además de los riesgos potenciales relacionados con la salud humana, los residuos de antibióticos que contienen leche pueden representar una preocupación

tecnológica para el procesamiento de productos lácteos (Zhao et al., 2021; Silva et al., 2020).

## A. Clasificación de antibióticos

### A.1 Según el efecto de su acción

Los antibióticos se clasifican de acuerdo al efecto de su acción (Tabla 3), en bacteriostáticos cuando bloquean el desarrollo y la multiplicación de las bacterias, pero no las lisan, por lo que al retirar el antimicrobiano se revierte su efecto, y bactericidas que provocan la muerte bacteriana haciendo el proceso irreversible. Cabe mencionar que esta clasificación varía según la existencia de algunos factores como el tipo de germen, el crecimiento celular, la concentración del antibiótico, el tiempo de contacto o las características del medio (Benito M., 2006).

**Tabla 3**

*Clasificación de antibióticos de acuerdo a su mecanismo de acción*

Bacteriostáticos	Bactericidas
Tetraciclinas	$\beta$ -Lactámicos
Sulfamidas	Aminoglucósidos
Macrólidos	Quinolonas
Lincosamidas	Rifampicina
Anfenicoles	Glucopéptidos

*Nota.* Benito M. (2006).

### A.2 Según su mecanismo de acción

En general, los antibióticos actúan:

- Previene la síntesis de compuestos de la pared celular bacteriana (penicilinas)
- Dañando la membrana citoplasmática bacteriana.
- Interfiriendo con la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos (Evaggelopoulou y Samanidou, 2013).

**Tabla 4**

*Clasificación de antibióticos de acuerdo a su estructura química*

Clase Antibiótico	Estructura	Ejemplos
Quinolonas		Norfloxacina Sarafloxacina Ciprofloxacina
Tetraciclinas		Doxiciclina Tetraciclina
Sulfonamidas		Sulfametoxazol Sulfadimetoxina
$\beta$ -lactámicos		Amoxicilina Ampicilina
Macrólidos		Azitromicina Claritromicina
Aminoglucósidos		Gentamicina Neomicina
Trimetoprim		

*Nota.* Vosough y Mashhadiabbas, (2013).

### **A.3 Por su estructura química**

Esta clasificación es la más utilizada en la literatura científica; los miembros de un mismo grupo tienen estructuras similares, actúan por mecanismos similares y tienen un comportamiento similar en el medio ambiente (Seifrtová et al., 2009). De acuerdo a esta clasificación, existen más de 10 clases de antibióticos, seis de ellas son las más importantes tanto en medicina humana como en medicina veterinaria (Tabla 4) (Vosough y Mashhadiabbas, 2013).

### **B. Fluoroquinolona: Ciprofloxacino**

El grupo de las quinolonas, se clasifica en 3 generaciones. La primera comprende a las quinolonas originales como el ácido nalidíxico, ácido oxolínico, ácido pipemídico y cinoxacino; la segunda generación son las fluoroquinolonas como norfloxacino, cirpofloxacino, enrofloxacino, danofloxacino, difloxacino y marbofloxacino; y la tercera generación incluye el orbifloxacino, levofloxacino, esparfloxacino, moxifloxacino, grepafloxacino y gatifloxacino, entre otros, la segunda y tercera generación aumentaron su biodisponibilidad oral, actividad antibacteriana a Gram negativos y Gram positivos y distribución sistémica (Martínez et al., 2006).

Es así que este fármaco (CFX), fluoroquinolona con actividad antibacteriana de amplio espectro, que incluye cepas Gram-positivas y Gram-negativas (Van Doorslaer et al., 2014). Las propiedades fisicoquímicas únicas del flúor, la electronegatividad y la estabilidad del enlace C=F no solo mejoran la actividad biológica del CFX, también lo convierten en un compuesto altamente recalcitrante (O'hagan, 2008). Actualmente el CFX es la fluoroquinolona más prescrita en el mundo, seguida de la ofloxacina y la levofloxacina (Rusu et al., 2015).

Los residuos de fluoroquinolonas pueden pasar fácilmente al medio terrestre mediante la aplicación de estiércol con antibióticos y se transportan fácilmente a los medios acuáticos a través de las descargas de aguas residuales y escorrentía agrícola (Feng et al., 2019), Es así que esta

familia de compuestos constituye un grupo de microcontaminantes ambientales emergentes que han despertado la preocupación pública por sus efectos ecotoxicológicos y su potencial para promover la resistencia en poblaciones microbianas (Redgrave et al., 2014).

Las fluoroquinolonas o quinolonas fluoradas son un grupo de antimicrobianos sintéticos de amplio espectro, cuyo “blanco” es la síntesis del ADN. Se han utilizado ampliamente para el tratamiento de infecciones intra y extrahospitalarias, convirtiéndose en un recurso de suma importancia para países en vías de desarrollo debido a la gran disponibilidad de genéricos que reducen drásticamente el costo del tratamiento. Su efectividad se debe a su alta biodisponibilidad, nivel de seguridad y forma de administración que puede ser tanto enteral como parenteral (Pallecchi et al., 2012). Sin embargo, se han usado indiscriminadamente en el campo de la agricultura y en el procesamiento de alimentos, lo que hace que el incremento de resistencia a quinolonas sea un problema cada vez más frecuente asociado a la constante exposición de diversos microorganismos (Strahilevitz et al., 2009).

La estructura de las moléculas de quinolonas contiene grupos carboxílicos los cuales confieren la característica ácida a estos compuestos; además, la segunda generación las Fluoroquinolonas tienen un grupo amino en el anillo heterocíclico llamado piperacínico. Los valores referenciados de pKa para las quinolonas ácidas están entre 6,0-6,9, por lo que en condiciones ácidas están en su forma neutra. Mientras que en el caso de las quinolonas piperacínicas, los valores encontrados son entre 5,5-6,3 y 7,6-8,5 para pka1 y pka2, respectivamente. Su forma intermedia es un zwitterión; a condiciones ácidas se encuentran en su forma catiónica mientras que a condiciones básicas tanto las quinolonas ácidas como las piperacínicas se encuentran en forma aniónica (Seifrtová et al., 2009).

El blanco específico de las quinolonas es interferir en la síntesis del ADN, conduciendo a muerte celular bacteriana mediante la fragmentación cromosómica. Penetran la pared celular a través de porinas,

inhibiendo directamente la replicación bacteriana al interactuar con dos enzimas; ADN girasa (proteína tetramérica compuesta por dos pares de subunidades A y B, codificadas por los genes GyrA y GyrB) (Aldred et al., 2013) y topoisomerasa IV (proteína tetramérica compuesta por dos pares de subunidades A y B, codificados por los genes ParC y ParE), las cuales son necesarias para realizar el superenrollamiento del ADN. Específicamente, ADN girasa es el blanco primario en bacterias gramnegativas, mientras que topoisomerasa IV lo es en bacterias grampositivas. Algunas quinolonas con espectro de actividad y potencia mejorada, parecen tener como blanco ambas enzimas (Blondeau, 2004; Leyva y Leyva, 2008).

El CFX es uno de los antibióticos clínicos que se usan para enfermedades infecciosas, como infecciones del tracto urinario, infecciones gastrointestinales, infecciones del tracto respiratorio (neumonía), infecciones cutáneas e infecciones de tejidos blandos, debido a la baja resistencia cruzada, rápida y actividad bacteriana o bacteriostática de amplio espectro (Thai et al., 2023; Tasci et al., 2021). El uso de este antibiótico es elevado debido su bajo costo, de hecho, el mal uso de CFX puede aumentar la aparición de patógenos zoonóticos resistentes a CFX en animales junto a algunas enfermedades indeseables y efectos secundarios como reacciones tóxicas y alergias, trastornos de la flora intestinal en humanos a lo largo de la cadena alimentaria (Rudnicki et al., 2019).

### **C. Antibióticos en Leche y Quesos**

Las pautas del Codex Alimentario consideran que el estatus sanitario en términos de inocuidad para alimentos de origen pecuario (carne, leche y sus derivados) asocian riesgos a la presencia de residuos de medicamentos veterinarios, plaguicidas, hormonas, toxinas, aditivos y metales pesados. No obstante, se considera que cualquier sustancia no añadida intencionalmente al alimento, que está presente como resultado de la producción, fabricación, elaboración, preparación, tratamiento,

envasado, empaquetado, transporte o almacenamiento como resultado de contaminación (Codex Alimentario, 2011; .Máttar et al., 2009).

**Tabla 5**

*Límites máximos de residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en los alimentos (Leche)*

Especie	Tejido	LMR	
		(µg/kg)	(µg/L)
Albendazol	Leche	100	
Amoxicilina	Leche	4	
Bencilpenicilina	Leche		4
Ceptiofur	Leche		100
Ciflutrín	Leche		40
Cihalotrin	Leche	30	
Cipermetrina	Leche	100	
Clenbuterol	Leche	0,05	
Clortetraciclina	Leche		100
Colistín	Leche	50	
Deltametrin	Leche	30	
Dexametasona	Leche	0,3	
Dihidroestreptomicina	Leche	200	
Diminazina	Leche		150
Doramectin	Leche	15	
Eprinomectin	Leche	20	
Espectinomomicina	Leche		200
Espiramicina	Leche		200
Febantel/Fenbendazol /Oxfendazol	Leche		100
Gentamicina	Leche		200
Imidocarb	Leche	50	
Isometamidio	Leche	100	
Ivermectina	Leche	10	
Lincomicina	Leche	150	
Monensina	Leche	2	
Neomicina	Leche	1500	
Sulfadimidina	Leche	25	
Tiabendazol	Leche		100
Tilosina	Leche	100	
Triclorfón	Leche	50	

*Nota.* CODEX-LMR-RGR (2021).

Los antibióticos se utilizan ampliamente en la producción ganadera para diferentes fines como el tratamiento de enfermedades, la

prevención y para mejorar la eficiencia alimentaria (promotores del crecimiento) el 80 % de los animales que participan en la producción de alimentos están siendo tratados con medicamentos veterinarios en un momento determinado o durante toda su vida. Como consecuencia directa, el uso de antibióticos en animales puede dejar residuos de estos compuestos en alimentos como la leche, huevos y carne (Chiesa et al., 2020).

La presencia de antibióticos en leche o sus derivados tiene implicancias negativas para los consumidores, industriales y ganaderos. Para los consumidores si bien la concentración de residuos es muy baja como para provocar efectos tóxicos, si podría desencadenar una reacción alérgica en individuos ya sensibilizados a los antibióticos (Villegas ,2012). Por lo tanto, la producción y algunos criterios de calidad de los productos lácteos, incluidas las características sensoriales y estructurales, pueden verse afectados negativamente por los residuos de antibióticos en la leche. Además, dependiendo de las propiedades químicas de la molécula, es posible que el fármaco no se degrade ni se pierda durante el proceso de fabricación de dichos productos (Silva et al., 2020).

Algunos sugieren que el contenido de genes de resistencia a los antibióticos de la leche cruda sin procesar, puede tener un impacto en el desarrollo de la resistencia a los antimicrobianos patógenos de los humanos (Tóth et al. 2020), Por lo que la causa más común es el tratamiento de mastitis clínica en vacas lecheras, incumpliendo el tiempo de espera, limpieza inadecuada de las instalaciones de ordeño y equipo utilizado contaminado para administrar medicamentos (García et al., 2019).

Por otro lado, la industria quesera es responsable de tres principales tipos de efluentes: suero de queso (resultante de la producción de queso), segundo suero de queso (resultante de la producción de requesón) y el agua de lavado de equipos, tuberías, almacenamiento y tanques que generan aguas residuales contaminadas (Carvalho et al., 2013). Además, se utiliza en la fabricación de alimentos para consumo

humano, alimentación animal y aplicaciones agrícolas, entre otros usos. Por lo tanto, la presencia de residuos de antibióticos en el suero podría tener implicaciones negativas para la seguridad humana, animal y ambiental. Estos fármacos podrían retenerse en la cuajada de la leche en mayor o menor medida, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de estas sustancias y su capacidad para interactuar con la grasa y/o proteína como fracción de la matriz (Giraldo et al., 2017). Por su parte (Nogueira et al., 2020), muestra que el tratamiento térmico de la leche no afecta la degradación (debido a su lipofilia) de residuos de monensina (fármaco utilizado en el tratamiento de coccidiosis en vacas) en queso Mina Fescal, tampoco afecta el proceso de fermentación y las características fisicoquímicas no se vieron alteradas, por lo que este fármaco no representa una barrera tecnológica para la producción de este tipo de queso.

#### **D. Antibióticos en agua potable**

Una de las características importantes es cuando su contenido es bajo en sales, limpia, pura y fresca y de sabor agradable, que no contenga contaminantes químicos ya sea en su estado natural o tratada. El agua tratada para consumo humano aflora espontáneamente o por medio de limpieza especial, sujeta a rigurosas técnicas sanitarias como realizar tratamientos físico-químicos tales como la decantación, la filtración, la ozonización, la ionización, etc. aunque estos modifiquen la composición química inicial del agua y además por estar declaradas de utilidad pública deben estar libres de microorganismos patógenos. Otra característica de las aguas tratadas son su valor higiénico, dada la gran pureza es que se empleen para evitar enfermedades e infecciones de origen hídrico, por el consumo de agua contaminada, como ocurre en las epidemias infectivas intestinales, tísicas y paratíficas. A toda agua tratada destinada al consumo humano, debe hacerse un análisis cualitativo y cuantitativo; el agua en su estado natural, contiene en disolución gases, sales, polvos diversos en suspensión, bacterias y microbios. Debido a ello, su consumo inadecuado puede ocasionar la propagación de graves enfermedades; como el cólera, diarreas, tifoidea e intoxicaciones vía microbiana, por esta razón es

conveniente que el agua natural antes de ser consumida siga un proceso de tratamiento, para poder ser consumida directamente o para la preparación de alimentos (Jouravlev y United Nations, 2004).

La presencia de antibióticos se ha demostrado en el agua superficial, profunda, suelo y sedimento; en aguas residuales municipales e inclusive en el agua potable (Zhang et al., 2013). Estos compuestos no necesitan estar constantemente en el ambiente para causar efectos negativos, puesto que sus altas tasas de transformación/eliminación se pueden compensar por su continua entrada al ambiente, por lo que se les considera como contaminantes "pseudopersistentes" (Herrera-Herrera et al., 2013).

Los antibióticos son liberados al ambiente acuático por diferentes vías: después de la administración, generalmente son parcialmente absorbidos por el cuerpo humano y excretados sin cambio como compuesto principal, o transformados como metabolitos a través de la vía urinaria y heces. Estos residuos de antibióticos son posteriormente descargados dentro de plantas tratadoras de aguas residuales municipales, los hospitales también contribuyen de manera importante a la contaminación del ambiente acuático. Cabe destacar que muchos investigadores han demostrado la eliminación incompleta de los fármacos durante el proceso de tratamiento en las plantas de agua residual, por lo que son consideradas como las principales vías de entrada de estos fármacos al ecosistema acuático, Con respecto al ambiente acuático, los contaminantes emergentes están presentes en el rango de  $\text{ngL}^{-1}$  a  $\mu\text{gL}^{-1}$ . La baja concentración y la gran diversidad complican los procedimientos para su detección y cuantificación (Zhang et al., 2013). La transferencia de bacterias resistentes a antibióticos (ARB) y genes de resistencia a antibióticos (ARG) de los embalses de las fuentes de agua potable ocurre a través de los procesos impulsados hidrológicamente, incluida la escorrentía, filtración, lixiviados y recarga de aguas subterráneas; además los procesos avanzados de tratamiento de agua, como la ozonización, coagulación y oxidación avanzada, pueden reducir la resistencia a antibióticos en agua potable cuando se utilizan en combinación, esto en

comparación con los métodos convencionales (Sanganyado y Gwenzi, 2019).

Otra forma de contribuir a la contaminación ambiental, además de la excreción metabólica, es la eliminación por el desagüe de medicamentos caducos o no utilizados. Por otro lado, los antibióticos administrados para tratar infecciones del tracto digestivo y urinario de animales son pobremente metabolizadas y permanecen en su forma activa durante su paso a través del intestino, en consecuencia, son excretadas al suelo vía heces y orina. Las evacuaciones son usadas como estiércol y aplicadas a los campos agrícolas como fertilizantes (Herrera-Herrera et al., 2013). Los compuestos no metabolizados, o sus metabolitos biológicamente activos presentes en el estiércol, pueden moverse desde los campos hacia las aguas profundas y eventualmente entrar a las aguas superficiales, tales como ríos y lagos, y afectar a los organismos acuáticos (Seifrtová et al., 2009).

Para Li Feng et al. (2020) el nivel de contaminación en cinco fuentes urbanas de agua potable a gran escala de Chonging del río Yangtze con antibióticos como metformina, eritromicina, roxitromicina, tilosina, lincomicina, cloranfenicol y florfenicol en concentraciones de 13,9 – 76,6  $\eta\text{L}^{-1}$  y un promedio de 46,4  $\eta\text{L}^{-1}$ . Por su parte (Xu et al., 2021) indica que la presencia de tetraciclinas como uno de los antibióticos más utilizados, estos son excretados en forma activa y se liberan al ambiente a través de la orina y las heces humanas y de animales, provoca efectos adversos a medios acuáticos destinados a agua potable.

Por otra parte, Yihan Chen et al. (2020) reportan la presencia de CFX como antibiótico dominante en agua potable (depósito de Fenshuba, China) en una concentración de 195 - 569  $\eta\text{L}^{-1}$  y en agua intersticial 47,1 – 333  $\eta\text{L}^{-1}$ , siendo condicional el factor estacional que consiste en la condición hidrológica (lluvia, temperatura del agua y tiempo de retención hidráulica), además reporta presencia de oxitetraciclina en sedimento, siendo responsable las lluvias y las partículas exógenas derivadas de los suelos que habrían usado abonos durante la temporada de siembra en primavera. Así Vilca et al. (2021) detectaron CFX en ambientes acuáticos y

sus concentraciones fueron  $6,5 \text{ mgL}^{-1}$  en un ecosistema de agua dulce, en agua potable presenta concentraciones de  $201,0 \pm 91,1 \text{ ngL}^{-1}$  en la estación seca y  $301,7 \pm 125,1 \text{ ngL}^{-1}$  en la temporada de lluvias.

### 1.1.3 Resistencia a antibióticos e implicancias en la salud pública

La resistencia antimicrobiana es actualmente reconocida como una de las mayores amenazas para la salud humana en el siglo XXI. Constituye una de las causas más importantes de muerte. Se aproxima que 27,000 millones de infecciones al año son debidas a infecciones resistentes. Asimismo, éstas se asocian a una mayor mortalidad, coste de tratamiento y duración de las estancias en el hospital (ECDC, 2016). La resistencia a antibióticos conduce a un aumento de la virulencia, patogenicidad, brotes de infecciones bacterianas, transmisión, morbilidad y mortalidad; por ejemplo, el consumo de agua potable contaminada con bacterias y genes con resistencia a antimicrobianos puede contribuir al desarrollo de la resistencia de antibióticos en humanos (Sanganyado y Gwenzi, 2019).

Los mecanismos de resistencia consisten fundamentalmente en la producción de enzimas bacterianas que inactivan los antibióticos o en la aparición de modificaciones que impiden la llegada del fármaco al punto diana; es así que una cepa bacteriana puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o varios antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos por diversas especies bacterianas (González J. et al., 2019).

Las cepas resistentes a los antibióticos más conocidas son las salmonelas resistentes a los antibióticos, los campilobacter resistentes a los macrólidos o fluoroquinolonas, los enterococos resistentes a los glucopéptidos o estreptogramina y la *Escherichia coli* resistente a múltiples antibióticos (Tempini et al., 2018). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) recopila y examina los datos en los informes oficiales sobre la resistencia a los antibióticos de los miembros de la UE. Las cefalosporinas, macrólidos, polimixinas y quinolonas se encuentran en la lista de antibióticos de importancia crítica, lo que sugiere que su incidencia en la leche ser monitoreado (ESFA, 2022).

Algunas mejoras de actividad biológica, amplio espectro y propiedades farmacocinéticas aportadas por algunas modificaciones en mecanismos de resistencia de fluoroquinolonas o quinolonas fluoradas del ácido nalidíxico (primera generación), convirtieron a la segunda generación de quinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, etc.) en fármacos de primera línea frente a numerosas infecciones, por lo que propiciaron una amplia difusión de su uso, originándose a aparición de resistencia tanto en microorganismos Gram negativos especialmente en *P. aeruginosa* o *E. Coli* y microorganismos Gram Positivos como *S. aureus* (Vickers et al., 2007).

La exposición de los seres humanos a antibióticos se considera un problema de salud pública, esta exposición a cantidades bajas pero constantes podría provocar alergias, disbacteriosis, efectos tóxicos y sobre todo crear resistencia a los antibióticos (OMS, 2020; ESFA, 2022), cancerígenos, teratogénicos y reducir el rendimiento reproductivo (Tadesse y Tadesse, 2017). Además, la presencia de antibióticos en leche puede provocar alteración en la flora bacteriana intestinal (microbiota), desarrollo de microorganismos patógenos y la reducción de la síntesis de vitaminas (Khachatryan et al., 2006; Adaska et al., 2006).

De acuerdo con los organismos internacionales de referencia, la leche y sus derivados pertenecen al grupo de alimentos de mayor riesgo en salud pública, no solo por tratarse de un alimento básico y, por lo tanto, de amplio consumo, sino por su susceptibilidad para transmitir enfermedades debido a la presencia de microorganismo y contaminantes como medicamentos veterinarios, hormonas, plaguicidas y antibióticos (FAO, 2023).

La administración de dosis bajas en antibióticos durante largo tiempo, crea las condiciones ideales para la inducción o al menos para la selección, de resistencia, lo que constituye el principal argumento de los defensores de la prohibición de loa antibióticos promotores del crecimiento. Los niveles de residuos dentro de los LMR no tienen efectos adversos para la salud si los seres humanos los ingieren a diario durante toda su vida, pero el uso de antimicrobianos en la producción ganadera y su función en el desarrollo de resistencia a los

antimicrobianos representan un problema de salud pública (El-Sharoud et al., 2018).

Desde el punto de vista de la seguridad las concentraciones de residuos remanentes en la leche, influyen en el proceso de elaboración y maduración de quesos, estos pueden conducir a una inhibición parcial o completa de bacterias ácido lácticas de los cultivos indicadores y su contribución a la flora intestinal, lo que impacta directamente en el aspecto tecnológico y por ende económico de la industria láctea, lo que conlleva nuevamente al estudio obligatorio de la resistencia a los antibióticos estableciendo buenas prácticas y una correcta gestión del uso en animales (Chiesa et al., 2020). Dado que el problema de los residuos antimicrobianos en la leche, es mayor en los países en desarrollo, debido al control limitado sobre el uso de medicamentos en la ganadería y la falta de recursos para realizar estos análisis (Gbylik-Sikorska et al., 2021) y animales (García et al., 2019).

La buena calidad de leche, no debe contener sustancias nocivas ni tóxicas; sin embargo, el uso extra etiqueta, tratamiento de infecciones, tiempo de espera insuficiente y la falta de registros de medicamentos utilizados, causan efectos adversos para la salud pública, siendo motivo de investigación actual e imperativa la resistencia e hipersensibilidad en la leche y la amenaza que representa si supera los límites regulatorios aceptables de antibióticos (Riediker et al., 2004). Es por ello que, para salvaguardar la salud humana, la organización mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Agricultura y Alimentos (FAO) han establecido estándares para la ingesta diaria aceptable y Límites máximos de residuos (LMR) (Kebede et al., 2014).

#### **1.1.4 Análisis de fármacos por Cromatografía Líquida HPLC**

La cromatografía es una técnica de separación basada en la distribución de los componentes de una mezcla entre un fluido (fase móvil) y un adsorbente (fase estacionaria). La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido depositado en un sólido inerte. La cromatografía líquida de alta eficiencia es una de las principales técnicas utilizadas en un análisis de compuesto no volátil y/o térmicamente inestables (Lanças, 2013).

La cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS), en particular la espectrometría de masas en tándem de triple cuadrupolo (QqQ), se ha convertido en la técnica más popular para el cribado y la confirmación de residuos veterinarios en matrices biológicas como la leche o los productos lácteos debido a su elevada sensibilidad y selectividad. La determinación de una gran cantidad de fármacos con diferentes propiedades (recuperación) del método. físicoquímicas requiere procedimientos de extracción y limpieza no específicos. En general, las combinaciones de disolventes orgánicos y acuosos, principalmente acetonitrilo con agua o con diferentes tipos de tampones, se utilizan comúnmente para la extracción de residuos veterinarios de los alimentos (Igalada et al., 2022).

Entre estas técnicas, predomina la LC porque los analitos son compuestos polares, no volátiles y térmicamente inestables y no requieren derivatización. La LC se puede acoplar con diferentes detectores, como ultravioleta (UV), matriz de diodos (DAD), detector de fluorescencia (FLD), espectrómetro de masas (MS) y espectrometría de masas en tándem (MS/MS). Sin embargo, se requiere un detector de alta sensibilidad, como MS/MS, ya que los antibióticos suelen encontrarse en bajas concentraciones (Chiesa et al., 2020).

En el uso de antibióticos en las lecherías artesanales y la presencia de residuos a lo largo de la cadena de producción de queso de leche cruda mediante pruebas comerciales (Charm KIS y Eclipse Farm3G) y UHPLC-QqQ-MS/MS y LCQqQ-MS/MS. Se reveló que las pruebas comerciales detectaron niveles de antibióticos cercanos al LOD en el 12,5 % de las muestras, principalmente en leche cruda y suero, con un 10,0 % de resultados positivos, específicamente en quesos frescos y madurados, lo que indica que los antibióticos se concentran durante la elaboración del queso. Cromatográficamente, se identificaron varios antibióticos en las heces de animales sanos, predominando la clortetraciclina ( $15,7 \pm 34,5 \mu\text{g/kg}$ ) y la sulfametazina ( $7,69 \pm 16,5 \mu\text{g/kg}$ ). Sin embargo, solo se identificó tilosina en la leche cruda ( $3,28 \pm 7,44 \mu\text{g/kg}$ ) y el suero ( $2,91 \pm 6,55 \mu\text{g/kg}$ ) (Santamarina-García et al., 2024).

El Límite de cuantificación (LOQ), se define como la concentración más baja que podría determinarse con exactitud y precisión aceptables. La linealidad

se determina utilizando una calibración de matriz emparejada, añadiendo extractos en blanco a diferentes concentraciones y cada solución estándar se inyectó tres veces.(Tasci et al., 2021).

Igualada et al. (2022) desarrollaron una metodología UHPLC–HRMS como herramienta adecuada para la detección de antibióticos en leche, queso fresco y suero. El método multiclase se desarrolló para la determinación simultánea de 36 sustancias de diferentes grupos de antibióticos ( $\beta$ -lactámicos, lincosamidas, macrólidos, quinolonas, sulfonamidas y tetraciclinas) y la cuantificación se realizó utilizando curvas de calibración emparejadas con la matriz corregidas por los correspondientes estándares internos. También se calcularon el efecto de la matriz y los porcentajes de recuperación antes de la selección del estándar interno. Tras comparar distintos procedimientos de preparación de muestras, se seleccionó una extracción rápida y sencilla con tampón de acetato a pH 5,2 y acetonitrilo (20/80, v/v), seguida de un sorbente a granel de extracción en fase sólida dispersiva (dSPE) C18. L.

## 1.2 Antecedentes

### 1.2.1 Internacionales

Giraldo et al. (2017) estudiaron la actividad antimicrobiana en el suero de queso como indicador de la transferencia de antibióticos de la leche de cabra. Sugieren que la fabricación de queso elaborado con leche de cabra que contiene antibióticos muestra como resultado presencia de residuos de fármacos en el queso y suero, lo que podría comprometer la utilización de este subproducto y afectar potencialmente la seguridad del consumidor. Indica que tasa de transferencia de antibióticos pertenecientes a macrólidos y sulfonamidas es muy variable. Además de las propiedades fisicoquímicas de los antibióticos, otros factores como la composición de la leche y los pasos en el proceso de elaboración del queso, también pueden afectar la retención de cuajada / pérdida de suero de estas sustancias.

Chiesa et al. (2020) en su análisis de residuos de antibióticos en la leche cruda de bovino, su impacto en la seguridad alimentaria y en los cultivos iniciadores de la leche en el proceso de elaboración del queso. Analizaron la

producción de queso para investigar la incidencia y concentración de residuos. Desde el punto de vista de la seguridad, las concentraciones de residuos detectados, en particular limitados como la lincomicina por debajo de su límite máximo de residuo (LMR), confirman los rasgos de baja seguridad de las muestras de leche cruda en la investigación, ya que la lincomicina estaba presente en un rango de concentración de 0,77 a 54,74 ppb.

Cabizza et al. (2017) muestran ensayos de la transferencia de oxitetraciclina de leche ovina enriquecida al suero y queso, considerando los límites máximos de residuos, el fin de la evaluación es para estudiar la distribución de venta libre de ambos derivados lácteos, además evaluar el efecto en la composición. El análisis se realizó mediante cromatografía de masas en tándem, no se observaron efectos significativos en los componentes, pero si se recuperó oxitetraciclina en quesos de 1 día hasta un 61 %, con una reducción del 17 % durante la maduración.

Vandera et al. (2019) mencionan los cambios ecológicos importantes dentro de las bacterias del ácido láctico no iniciadoras dominantes en el queso Graviera griego maduro y su afectación por el tipo de cultivo iniciador. Los miembros de la *E. faecium* predominó en los quesos maduros a partir de leches termizadas de oveja / cabra. Debido a que la termización de la leche cruda fue seleccionada para la fermentación de lactosa *Enterococcus spp.*, los supervivientes tienen una gran capacidad de crecimiento durante el cuajado de la leche de queso termizado, la cocción de la cuajada y la fermentación a temperaturas de 34 a 48 °C.

Roca et al. (2011) evaluaron el efecto de los tratamientos térmicos sobre la estabilidad de los  $\beta$ -lactámicos en la leche. Al aplicar un modelo cinético de primer orden y los Armodels pararhenius, es posible desarrollar residuos de antibióticos predictivos en explicar la degradación térmica de los  $\beta$ -lactámicos, estos antibióticos de leche. La degradación tiene vidas medias. Las cefalosporinas disminuyen con el aumento de la temperatura, más inestabilidad al calor presentan vidas medias más cortas que las penicilinas.

Gbylik-Sikorska et al. (2021) analizan la transferencia de uno de los antibióticos más utilizados en vacas lecheras, la cloxacilina, de la leche cruda a

una amplia gama de productos lácteos como yogur, kéfir, cuajada de leche, nata, queso cuajo, suero, mantequilla, suero de leche. Los resultados obtenidos mostraron que el tratamiento de la leche en la mayoría de los casos no resulta en una reducción significativa de los residuos de cloxacilina. El factor de concentración más alto se observó en el suero en polvo (10,0) y la leche en polvo (5,0). Las cantidades más bajas de cloxacilina, que oscilan entre el 7 y el 20 %, se transfirieron a la crema, la mantequilla, el queso cuajo y el suero de leche; la tasa de retención más alta se observó para el suero ( $85 \pm 4$  %). En la mayoría de los casos, la degradación fue de aproximadamente el 20 %, lo que indica que los consumidores aún pueden estar expuestos a residuos de cloxacilina. La transferencia a los productos lácteos estuvo asociada de diversas formas, dependiendo esencialmente del contenido de grasa de la matriz.

Quintanilla et al. (2018) indican que los residuos de antibióticos macrólidos en leche y quesos a partir de leche de cabra. El uso indebido de estos fármacos en cabras lecheras puede provocar residuos en el suministro de leche si no se toman las medidas adecuadas. El tiempo de espera mínimo legalmente establecido de siete días parece adecuado para garantizar la seguridad de la leche tras la administración intramuscular de eritromicina y tilosina, sin efectos negativos no afectan a la cabra ni las propiedades de la leche cruda tampoco la calidad del queso curado obtenido.

Rodriguez et al. (2017) mencionan que residuos de monensina (MON) en la producción de queso Minas Frescal: estabilidad, efectos sobre la fermentación y características fisicoquímicas del queso. Este estudio mostró por primera vez los posibles impactos de la presencia de residuos de MON durante el procesamiento de queso. El tratamiento térmico de la leche no afecta la degradación del fármaco, que se concentra en el queso, debido a su lipofilia. Por tanto, el proceso de elaboración del queso no elimina los residuos de fármacos procedentes de la materia prima. La presencia de residuos de MON en la leche en las concentraciones estudiadas no afectó el comportamiento de fermentación durante la elaboración del queso Minas Frescal ni las características fisicoquímicas del producto final.

Alnakip et al. (2019) indican la caracterización molecular y tipificación de la resistencia a la meticilina (MR) de *Stafilococo spp.* aislado de leche cruda y quesos en el noroeste de España. Los hallazgos aclararon el posible papel de la leche cruda en la contribución a la transmisión de meticilina *S. aureus* que tiene resistencia a múltiples fármacos en el medio ambiente circundante. Por lo tanto, se debe realizar un seguimiento continuo del desarrollo de meticilina en bacterias que puedan tener un impacto en la salud humana y animal.

Quintanilla et al. (2021) evaluaron el tratamiento con enrofloxacin en cabras lecheras: Residuos de antibiótico en leche e impacto de los residuos en el proceso tecnológico y las características del queso curado. El proceso de elaboración del queso no se ve alterado en modo alguno por este antibiótico; por lo tanto, pasará desapercibido en la línea de producción. En general, con la única excepción de algunos compuestos volátiles específicos, la presencia de este antibiótico en el queso apenas modifica las características de composición, textura y color, en comparación con los quesos elaborados con leche sin antibióticos.

Tasci et al. (2021) determinaron los antibióticos y sus metabolitos en la leche por el método de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem. El objetivo de este estudio fue investigar la presencia de residuos de antibióticos y metabolitos en las muestras de calostro, leche cruda de vaca, leche cruda de cabra y leche tratada a temperatura ultra alta mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem. Las curvas de calibración para todos los compuestos estudiados mostraron buenos coeficientes de correlación lineal ( $r^2 \geq 0,999$ ). Las tasas de recuperación fueron 73,33-87,78 %, también el límite de detección y el límite de los valores de cuantificación fueron 0,68-3,16  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y 2,24-10,43  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente. Se detectaron residuos de antibióticos como tetraciclina, 4-epitetraciclina, 4-epioxitetraciclina, 4-epiclorotetraciclina y ciprofloxacina en 72 (55,38 %) de 130 muestras de leche.

Li et al. (2020) detectaron un total de 283 genes de resistencia a los antibióticos (ARG) y 12 elementos genéticos móviles (MGE) en el agua mediante un análisis de PCR cuantitativo de alto rendimiento. Los residuos de antibióticos y la abundancia absoluta de ARG y MGE totales en el flujo de entrada del embalse se redujeron significativamente cuando el agua del río pasó a través de los

procesos de purificación ecológica en el embalse. Los antibióticos en este sistema fluvial-reservorio solo plantearon riesgos limitados para el ecosistema acuático y la salud humana.

L. Feng et al. (2020) informan sobre la distribución y evaluación de riesgos para la salud humana de residuos de antibióticos en fuentes de agua potable a gran escala en la zona de Chongqing del río Yangtze. Los resultados demostraron que se detectaron ocho antibióticos de tres categorías en total, que incluyen sulfonamida metformina (SMX), sulfonamida metformina (SMZ), eritromicina (ERM), roxitromicina (ROM), tilosina (TYL), lincomicina (LIN), cloranfenicol (CAP) y Florfenicol (FF). La concentración de masa de residuos de antibióticos en fi Cinco fuentes urbanas de agua potable oscilaron entre 13,9 y 76,6  $\eta\text{gL}^{-1}$ , con un promedio de 46,4  $\eta\text{gL}^{-1}$ , y en cuatro municipios las fuentes de agua potable oscilaron entre 20,6 y 188,1  $\eta\text{gL}^{-1}$ , con un promedio de 88,45  $\eta\text{gL}^{-1}$ .

Kumari y Kumar (2020) evaluaron el riesgo para la salud humana de los antibióticos en mezclas binarias para agua potable terminada. Se realizó un análisis de incertidumbre basado en simulación de Monte Carlo para reducir la incertidumbre en la evaluación de riesgos. Se llevaron a cabo estudios de evaluación de riesgos para la salud humana utilizando la ingesta diaria aceptable (IDA) para exposiciones de antibióticos individuales considerando el punto de partida (POD) y los factores de incertidumbre (UF). Los valores de IDA estimados se utilizaron para estimar las concentraciones previstas sin efecto (PNEC), en las que no se prevén efectos adversos para la salud humana o por debajo de ellos.

Mompelat et al. (2009) estudiaron la ocurrencia y destino de productos y subproductos farmacéuticos, desde el recurso hasta el agua potable. A través de esta revisión, parece que el riesgo farmacéutico debe considerarse incluso en el agua potable donde las concentraciones son muy bajas. Además, hay una falta de investigación para la caracterización, ocurrencia y destino de subproductos (metabolitos y productos de transformación) en todos los tipos de agua y especialmente en el agua potable.

Sanganyado y Gwenzi (2019) presentaron un estudio sobre la resistencia a los antibióticos en los sistemas de agua potable: presencia, eliminación y riesgos para la salud humana, consideran que, en los últimos años, ha habido un interés

creciente en la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos (ARB) y genes resistentes a los antibióticos (ARG) en el agua potable tratada y no tratada. Los ARB y ARG plantean un problema de salud pública cuando transfieren resistencia a los antibióticos (AR) a patógenos humanos. En esta revisión, examinamos críticamente la ocurrencia de AR en agua subterránea, agua superficial y agua distribuida tratada. Esto ofreció una nueva perspectiva sobre la amenaza para la salud humana que representa la AR en el agua potable y ayudó a diseñar una estrategia para monitorear la AR de manera efectiva. Utilizando los datos existentes sobre la eliminación de ARB y ARG en plantas de tratamiento de agua potable, la presencia y proliferación de AR en los sistemas de distribución de agua potable y los mecanismos y vías de transferencia de AR en las plantas de tratamiento de agua potable.

Javed Ansari et al. (2022) estudiaron los enfoques emergentes de biodetección óptica y electroquímica para residuos de ciprofloxacino en muestras de alimentos y ambiente, para superar los problemas asociados con la detección convencional de CFX debido al alto potencial de este fármaco en la seguridad y calidad de los alimentos y el agua. Generalmente se emplearon técnicas convencionales como una poderosa plataforma de detección; sin embargo, estos requieren una preparación de la muestra muy costosa y de técnicos capacitados. Así, es muy deseable la promoción de dispositivos de detección sensibles y selectivos hacia la detección cuantitativa de ciprofloxacino en diversas matrices.

Czyrski A. (2022) reporta la determinación espectrofotométrica de la lipofilicidad y las constantes de disociación de CFX y levofloxacina, obteniendo los coeficientes de partición aparente más altos se observan en el pH que es más cercano a neutro, la concentración más alta de las especies neutras, es decir, la forma zwitteriónica y la forma no cargada, se observa a un pH de 6,0 a 7,0 cerca al punto isoeléctrico de ambos compuestos. Se calculó el verdadero coeficiente de partición que fue 0,701 para levofloxacina y 0,509 para CFX.

### 1.2.2 Nacionales

Villaseñor-Basulto et al. (2016) revisaron estudios sobre la remoción de CFX presente en aguas sintéticas empleando *Moringa oleifera* como Coagulante Natural y utilizaron diversas clases de contaminantes orgánicos emergentes más

relevantes (retardantes de llama bromados, cloroalcanos, pesticidas polares, compuestos perfluorados, productos de cuidado personal, fármacos y los metabolitos y/o productos de degradación de las sustancias anteriores), su origen, los usos a que se destinan, sus características fisicoquímicas, el destino que sufren en el ambiente, los niveles detectados, las técnicas que se utilizan para su análisis y posible remoción, además de las áreas en las que se tiene menor conocimiento y que por tanto, requieren una investigación más urgente.

### 1.2.3 Locales

Vilca et al. (2021) estudiaron el impacto de los antibióticos en el agua potable, los tejidos de las truchas y el ecosistema acuático del lago. Se monitorizaron nueve antibióticos: tetraciclinas, sulfonamidas y fluoroquinolonas. Las muestras de agua potable de la ciudad de Puno recolectadas en puntos de muestreo con el lago Titicaca como fuente de agua potable, alcanzaron un promedio de 188,1 y 222,2  $\text{ngL}^{-1}$  de CFX en temporadas seca y lluviosa respectivamente. Complementariamente, en tejidos de trucha alcanzó 7,8  $\mu\text{g/kg}$  en oxitetraciclina 8,7  $\mu\text{g/kg}$  en sulfatizol, 4,2  $\mu\text{g/kg}$  en ciprofloxacina y 3.6  $\mu\text{g/kg}$  en sarafloxacina.

## CAPÍTULO II

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 2.1 Identificación del problema

Se conoce que, en el proceso de elaboración, el tiempo necesario para la producción de queso con leche que contiene cantidades admisibles de eritromicina y oxitetraciclina aumenta; la cinética de acidificación de los quesos durante la producción de queso se ve considerablemente afectada por la presencia de estos antibióticos, requiriendo tiempo adicional para alcanzar el pH final (Quintanilla et al., 2018). La lincomicina demuestra un efecto negativo sobre la actividad de las bacterias del ácido láctico en términos de recuento de bacterias, pH y acidez durante la simulación de fabricación de queso (Chiesa et al., 2020). Por otro lado, se ha observado que, durante la elaboración de quesos con leche contaminada con eritromicina y oxitetraciclina, la actividad de los cultivos iniciadores es inhibida por la presencia de estos antibióticos, dando lugar a una menor tasa de acidificación que en los quesos de control, especialmente para la eritromicina, que también aumenta el tiempo de calentamiento y agitación antes del drenaje y moldeado de la cuajada (Quintanilla et al., 2019).

Es por ello, que los residuos de antimicrobianos pueden conducir a una inhibición parcial o completa de la producción de ácido por los cultivos iniciadores, ocasionando un impacto tecnológico y económico en la industria láctea (Chiesa et al., 2020). Existe evidencia de que el procesamiento de quesos, no tienen la capacidad de eliminar residuos de antibióticos independientemente de la forma de almacenamiento del producto final (Gbylik-Sikorska et al., 2021). Por otro lado, se menciona que el tratamiento térmico de la leche no afecta la degradación del fármaco, que se concentra en el queso, debido a su lipofilia. Por tanto, este proceso no elimina los residuos de fármacos procedentes de la materia prima (Rodrigues et al., 2020); se evidencio una retención de antibióticos en quesos que oscila entre el 7 y 20 % (Gbylik-Sikorska et al., 2021).

En ese sentido, el estudio de la incidencia de residuos de antibióticos en el sector lácteo sigue siendo obligatorio, esto con el fin de prevenir la difusión de la resistencia a los antibióticos también a lo largo de toda la cadena alimentaria estableciendo buenas prácticas también para una correcta gestión del uso de antibióticos en animales (Chiesa et al., 2020).

En la industria láctea, el uso de materia prima inocua es importante por lo que se garantiza la calidad del producto. Sin embargo, agentes intervinientes en el proceso de transformación podrían afectar la calidad del producto; al respecto, se sabe que en la producción de queso, en la etapa de lavado de la cuajada se requiere hacer uso de agua potable, la cual podría estar contaminada con residuos de antibióticos (Qiao et al., 2018); esta presencia no solamente contamina este recurso, si no que con su sola presencia provoca el incremento de resistencia bacteriana (Qiao et al., 2018); se ha reportado la presencia de CFX en agua potable en concentraciones de hasta  $384,47 \text{ ngL}^{-1}$  (Vilca et al., 2021), es así que considerando la intervención de agua contaminada en la producción de quesos y su prevalencia en el producto final aún no ha sido descrito, es por ello que el presente trabajo se evaluó el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable usada en el proceso de elaboración de quesos sobre los parámetros y características fisicoquímicas del queso andino.

## 2.2 Enunciados del problema

### 2.2.1 Problema general

- ¿Cuál será el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino presentes en agua potable usada en el proceso de fabricación de queso andino sobre las características fisicoquímicas de este producto?

### 2.2.2 Problemas específicos

- ¿Cuál será el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable en cuatro concentraciones (40, 400, 1000,  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ ), sobre el pH y la acidez de queso andino?
- ¿En qué medida afecta la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable en cuatro concentraciones (40, 400, 1000,  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ ) en la intervención de la etapa de lavado (escaldado) de la cuajada sobre el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color de queso andino?
- ¿La intervención de agua potable en cuatro concentraciones de residuos de ciprofloxacino (40, 400, 1000,  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ ) en la etapa de escaldado de la cuajada determinará la presencia de este contaminante en queso andino?

## 2.3 Justificación

Productos ingeridos con presencia de antibióticos podrían provocar niveles que indiquen una toxicidad de tipo crónico, transformando estos productos en peligrosos e inadecuados para la salud pública siendo un problema constante, esto a la vez puede provocar su prohibición para el consumo humano, ya que por más bajas que sean las concentraciones se podrían agravar a mayor consumo (Villegas A., 2012). No obstante, es necesario un sistema de análisis que nos permita conocer estos niveles de toxicidad.

La fuente predominante de contaminación de la leche con antibióticos está representada por la administración directa, pero también puede ocurrir durante el ordeño cuando la superficie interna de una parte de la máquina de ordeño se enjuaga después de ordeñar una leche de vaca tratada antes que una no tratada (Kebede et al., 2014). Así mismo los agentes contaminadores llegan a través del suelo, forraje, agua, los otros animales y también por los utensilios de ordeño y tanques de transporte o almacenamiento mal lavados. También la leche pasteurizada puede verse contaminada por la exposición al aire o equipos contaminados (Carrillo L. y Audisio C., 2007). Siendo así que los residuos de antibióticos en leche son muy difíciles de eliminar, tanto así que requiere de aditivos químicos, para su neutralización, generando con ellos otra clase de contaminación, aun hirviendo o sometiendo a un proceso de ebullición, los residuos no pierden su actividad (Wu et al., 2007). Cabe mencionar que el tratamiento térmico de la leche no afecta la degradación del fármaco, que se concentra en el queso, debido a su lipofilia. Por tanto, el proceso de elaboración del queso no elimina los residuos de fármacos procedentes de la materia prima. (Rodrigues et al., 2020). El proceso realizado a baja temperatura (63 °C) pasteurización prolongada (30 min) no registra efectos significativos sobre los residuos de antibióticos en la leche (Roca et al., 2011).

Considerando que en la actualidad no se registra muchos reportes de investigación de contaminación cruzada en el proceso de queso en general y el particular en la etapa de lavado de cuajada, por lo que el agua que se utiliza para la elaboración de quesos en la zona rural es proveniente de lagos, ríos y otras fuentes subterráneas. Gran parte de esta agua debe ser tratada para eliminar bacterias y otras impurezas peligrosas. Después de este tratamiento el agua no se encuentra totalmente pura, ya que todavía contiene pequeñas cantidades de sales y microorganismo que el cloro no puede eliminar (Vilca et

al., 2021). El riesgo de contaminación con bacterias constituye un riesgo importante para la salud de los consumidores (Nyokabi et al., 2021).

Por otro lado, sigue siendo obligatorio el estudio de la incidencia de residuos de antibióticos en el sector lácteo con el fin de prevenir la difusión de la resistencia a los antibióticos también a lo largo de toda la cadena alimentaria estableciendo buenas prácticas también para una correcta gestión del uso de antibióticos en animales (Chiesa et al., 2020). La administración de antibióticos en vacas lecheras requiere un tiempo adecuado de uso para proceso y garantizar la seguridad alimentaria (Quintanilla et al., 2018).

## 2.4 Objetivos

### 2.4.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino de agua potable utilizada en el proceso de fabricación de queso andino.

### 2.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable para cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) sobre el pH y acidez de queso andino.
- Analizar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable para cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) en el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color de queso andino.
- Determinar la presencia de residuos de ciprofloxacino en queso andino elaborado a cuatro concentraciones de contaminante (40, 400, 1000, 2000  $\mu\text{gL}^{-1}$ ) en la etapa de escaldado de la cuajada.

## 2.5 Hipótesis

### 2.5.1 Hipótesis general

- La presencia de residuos de ciprofloxacino presentes en agua utilizada en el proceso de fabricación de queso afecta negativamente las características fisicoquímicas de este producto.

### 2.5.2 Hipótesis específicas

- El contenido de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000  $\eta\text{gL}^{-1}$ ) determinará el comportamiento del pH y acidez del queso andino.
- La presencia de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000  $\eta\text{gL}^{-1}$ ), afectará al contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color del queso andino.
- El contenido de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000  $\eta\text{gL}^{-1}$ ) utilizada en la etapa de escaldado de cuajada mostrará prevalencia de residuos de ciprofloxacino en el producto final (queso andino).

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se desarrolló entre octubre 2022 y mayo 2023 considerando las pruebas experimentales preliminares y finales. La elaboración de muestras se elaboró en el Laboratorio de Tecnología de Alimentos y los análisis fisicoquímicos se desarrollaron en el Laboratorio de Análisis de Productos Agroindustriales, ambos son parte de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua - filial Moquegua. . La cuantificación del contaminante se desarrolló en el Laboratorio de Contaminantes Orgánicos y Ambiente (GICOA) del IINDEP de la Universidad Nacional de Moquegua - filial Ilo.

#### 3.2 Población

En la presente investigación se estableció como población a las muestras de queso madurado andino con 5 diferentes concentraciones (1 tratamiento control y 4 concentraciones de contaminante), elaboradas a nivel laboratorio, teniendo un total de 5 grupos, considerando que cada uno de estos grupos tuvieron diferente valor como fuente de información para el análisis de resultados.

La población estadística se determinó por:

$$N=N_1+ N_2+ N_3 +N_4+N_5 \quad (1)$$

Donde:

- N : Tamaño de la población estadística
- $N_n$  : Muestras del grupo n

Reemplazando en la ecuación (1), se tiene:

$$N=5+5+5+5+5$$

$$N=25$$

#### 3.3 Muestra

Las muestras fueron establecidas mediante un proceso de muestreo probabilístico estratificado con submuestreo aleatorio simple. La estratificación se dio en 5 grupos y se consideró la variable concentración de contaminante (1 tratamiento control y 4

concentraciones de contaminante). La aleatorización fue de 3 tratamientos para cada estrato, tenido un total de 15 muestras, los datos nos permitieron establecer la relación entre las variables de estudio y respuesta de la presente investigación.

La muestra estadística se determinó por:

$$n=n_1+n_2+n_3+n_4+n_5 \quad (2)$$

Donde:

- $n$  : Tamaño de la muestra total
- $n_i$  : Muestras aleatorizada estrato  $n_i$

Reemplazando en la ecuación (2), se tiene:

$$n=3+3+3+3+3$$

$$n=15$$

### 3.4 Método de investigación

El trabajo de investigación es de tipo cuantitativa experimental, el nivel es explicativo, orientado a la causalidad entre las variables dependientes e independientes para su adecuado análisis y explicación de fenómenos, lo que significó que el investigador es claro en que los efectos observados de este experimento se deben a la causa.

### 3.5 Descripción detallada de métodos por objetivos específicos

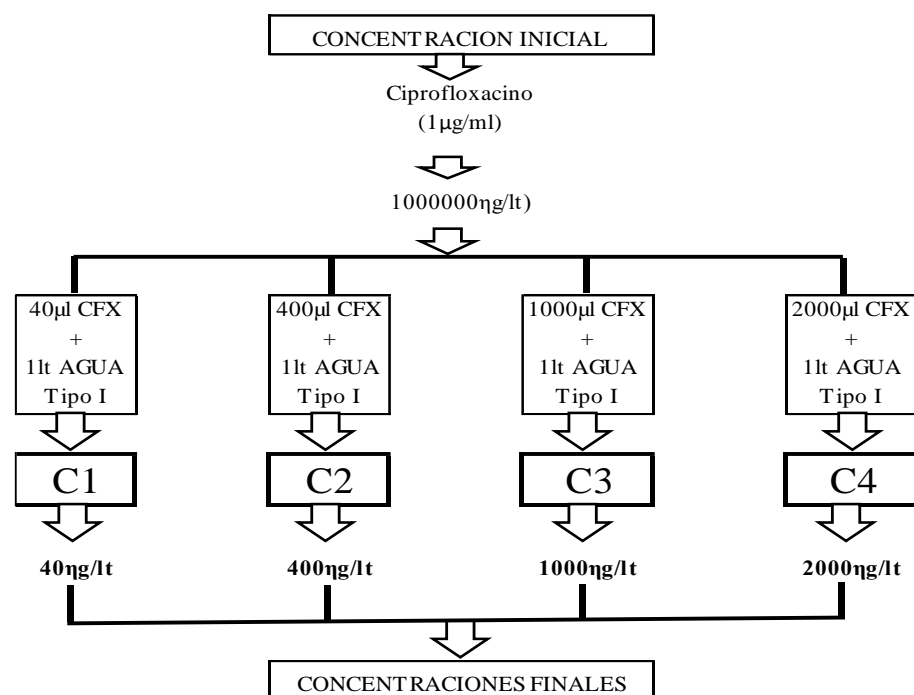
#### 3.5.1 Metodología

##### A. Preparación de concentraciones de agua contaminada

Se realizó mediante dilución de antibiótico-ciprofloxacino en 4 concentraciones establecidas para la presente investigación, según se detalla en la Figura 2.

**Figura 2**

*Dilución de concentraciones de ciprofloxacino en agua*



## B. Elaboración de Queso Andino

### B.1 Descripción del procedimiento

*Recepción:* Se realizó para controlar los parámetros fisicoquímicos de temperatura, densidad, porcentaje de acidez y pH, por lo que afectan considerablemente en el proceso de elaboración.

*Pasteurización:* Se realizó una pasteurización baja, con el fin de reducir los microorganismos patógenos que se encuentran en la leche cruda, el tipo de pasteurización fue lenta a 65 °C durante 30 minutos, con el fin de conservar las vitaminas, minerales y proteínas.

*Enfriado:* Se realizó rápidamente bajando la temperatura de la leche a 38 °C. A estas condiciones se adicionó primero cloruro de calcio al 20 % y luego nitrato de potasio como conservante al 15 %. Se agitó y se dejó en reposo hasta la siguiente etapa.

*Pre-maduración:* A una temperatura de 36 °C se realizó la adición de cultivo láctico con bacterias exclusivas para queso andino, *Lactococcus*

*lactis* y *Lactococcus cremoris* (Bacterias liofilizadas SACCO), se agito y deajo en reposo 30 minutos.

*Coagulación:* Se realizó mediante coagulación enzimática, quimosina y pepsina (Cuajo en polvo CAGLIFICIO CLERICI) a temperatura de 36 °C. Se agitó y reposo durante 30 minutos.

*Corte:* Se realizó vertical y horizontalmente con una lira, el tamaño de grano para quesos madurados y de tipo andino es de 1 cm por 1 cm, para esta etapa considerar uniformidad en los granos, se dejó reposar por 5 minutos antes de la siguiente etapa.

*Agitación 1:* Se realizó en forma suave al inicio y en el mismo sentido, por 15 minutos. Se deajo reposar.

*Desuerado 1:* Se retiro el 30 % de suero del volumen del recipiente.

*Escaldado o Calentamiento:* Se adicionó agua Tipo I a 70 °C al 15 % (para el tratamiento control y agua con diferentes concentraciones de ciprofloxacino), hasta que la cuajada llegué a una temperatura de 40 °C. Con el propósito de que los gránulos de cuajada se compriman y eliminen mayor cantidad de suero, lo que resulta en una cuajada más compacta, siendo necesario este proceso para lograr que el queso tenga la firmeza deseada.

*Agitación 2:* Se realizo vigorosamente, con el propósito de lavar los granos de cuajada durante 25 minutos. Se dejó reposar por 5 minutos.

*Desuerado 2:* Se retiró todo el suero y agua del lavado hasta el nivel de la cuajada.

*Salado:* Se adicionó sal al 3 %. Se dejó en reposo por 5 minutos.

*Pre-prensado:* Se realizó para compactar los granos en el mismo recipiente durante 15 minutos.

*Moldeado:* Se traslado toda la cuajada en el molde con tapa.



*Prensado:* Se realizó en la prensa mecánica durante 20 minutos, se volteó a los 30 minutos, repitiendo esta operación por 2 veces.

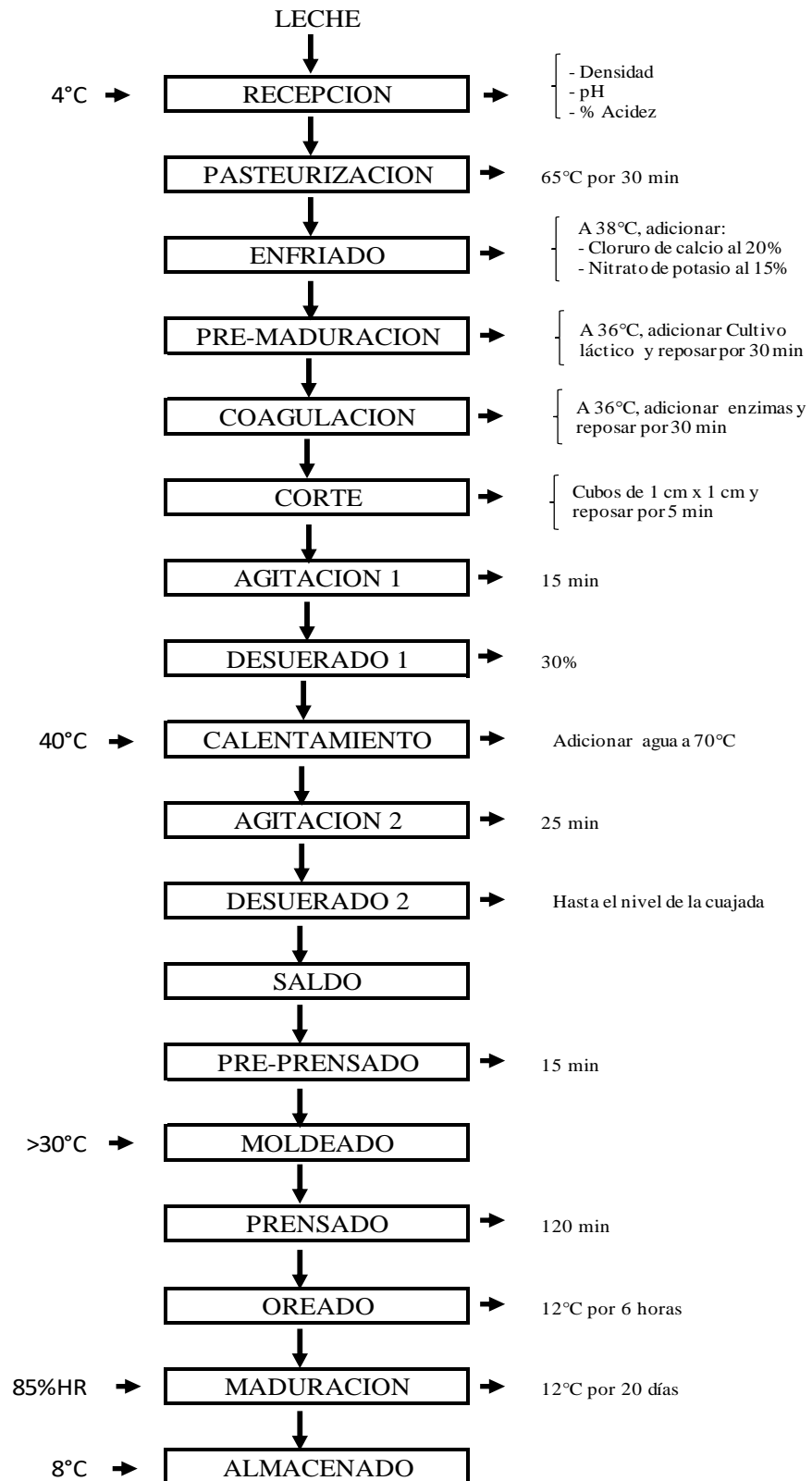
*Oreado:* Se realizó después de desmoldar y durante 6 horas a temperatura de 12 °C.

*Maduración:* Se realizó en una cámara de maduración acondicionada a humedad relativa de 85 % y temperatura de 12 °C durante 25 días. A temperaturas más altas se da el desarrollo más intenso de microorganismos y a temperaturas más bajas la maduración es más lenta, la humedad relativa evita fuertes pérdidas de peso por evaporación de agua.

*Almacenamiento:* Se realizó en refrigeración a 8 °C para el análisis fisicoquímico y para la cuantificación de CFX por cromatografía, se almacenaron a -20 °C.

**Figura 3**

*Diagrama de flujo de la elaboración de Queso Andino*



## **C. Metodología para la evaluación de la presencia de ciprofloxacino en agua potable sobre el pH y acidez de queso andino**

### **C.1 Determinación de pH**

Para la determinación de pH se toma como referencia el procedimiento de la AOAC 981.12 (2000), la medida por lectura directa del valor en un potenciómetro (Thermo Scientific Orion Versa Star, USA), tomando como referencia a previamente calibrado con tres puntos de referencia (Buffer de calibración pH 10, 7 y 4), para esto se mezcló 10 g de queso andino triturado en mortero de porcelana y 100 ml de agua tipo I, se agitó vigorosamente, se midió la temperatura a 25 °C y se introdujo el electrodo para su medición.

### **C.2 Determinación de Acidez**

Para la determinación de acidez titulable se toma como referencia el procedimiento establecido por A.O.A.C. (2000), se pesó 10 g de queso andino triturado en mortero de porcelana y se añadió agua tipo I hasta un volumen de 105 ml, se agito vigorosamente en un baño termostático a 40 °C, se filtró con papel filtro Whatman en embudo bunsen , se tomó una alícuota de 10 ml y se añadió 0.1 ml de indicador fenolftaleína, previamente se enrasa la bureta a 50 ml con una solución de hidróxido de sodio 0,1 N, se tituló hasta alcanzar el viraje hasta rosa tenue en la solución muestra. El porcentaje de acidez se calculó por la multiplicación del volumen de gasto del NaOH, Normalidad del mismo y los Miliequivalentes del ácido predominante del queso (ácido láctico) entre el volumen de la muestra. El resultado se expresa en porcentaje de ácido láctico (% ácido láctico).

## **D. Metodología para el análisis de la presencia de ciprofloxacino en agua potable sobre el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteínas y color de queso andino**

### **D.1 Determinación de Humedad**

Se realizó de acuerdo a la ISO 5534 / IDF 4 (2004), establecida en la NTP 202.19 (2010), que contempla el método gravimétrico de la estufa, para el procedimiento se pesó 3 g de queso andino picado en cubos de tamaño uniforme en una placa Petri previamente tarada y se colocó en la estufa (MMM Group LSIS-B2VC55/D170606) a 105 °C durante un tiempo de 4 horas hasta alcanzar peso constante, una vez obtenida la estabilidad se transfirieron las placas Petri a una campana desecadora para pesar, la prueba se realizó por triplicado para cada tratamiento a 1 y 25 días de maduración. Se tabuló la diferencia de pesos y los resultados se expresaron en porcentaje de humedad (% de Humedad).

### **D.2 Determinación de Cenizas**

Para determinar cenizas se toma referencia de la A.O.A.C. (2000), se pesó 2 g de muestra seca en un crisol completamente seco, se incinera la muestra en una cocinilla para la eliminación de compuestos orgánicos, posteriormente se llevó a la mufla (Mufla Thermo Concept KL05/12 – TC005) a 600 °C por un tiempo de 5 horas para su calcinación, pasado este tiempo retirar los crisoles a una campana desecadora para que enfríe y se estabilice por un tiempo de 30 minutos, proceder a registrar los pesos. Los resultados se expresan por la diferencia de pesos y se expresan en porcentaje de cenizas (% de cenizas).

### **D.3 Determinación de Proteínas**

Para determinar proteínas se toma como referencia a la A.O.A.C. (2000), mediante el método micro kjeldahl 12.1.07. Digestión: se pesa 0,5 g de muestra y 1 g de catalizador en un tubo de digestión, se adicionó 10 ml de ácido sulfúrico concentrado y se coloca en el digestor Kjeldahl (D.Q.O. 4000639, Scrubber 4001611 y BR-1612 4001612 P-SELECTA, España), se digiere a 420 °C por 2 horas hasta alcanzar un color verde

esmeralda, se dejó enfriar para la neutralización con 12 ml de NaOH al 45 % y 10 ml de agua destilada, esta solución debe adicionarse lentamente y bajo la llave de agua. Destilación: se destila la solución neutralizada a 80 °C en el destilador (PRO-NITRO A 4002430, P-SELECCTA, España), el destilado debe estar con una solución de ácido bórico e indicadores (rojo de metilo y verde de bromocresol). Titulación: se realizó con ácido clorhídrico 0,05 N hasta que vire a rojo. Para el cálculo se toma el volumen gasto de la titulación con HCL, normalidad de este y los miliequivalentes del nitrógeno todo esto sobre el peso de la muestra, es así que se obtiene el porcentaje de nitrógeno el cual se multiplica por el factor 6,38 para leche y quesos (CODEX, 2011), obteniendo y expresando el resultado en porcentaje de proteínas (% de proteínas).

#### **D.4 Determinación de Grasa**

Para determinar grasa se toma como referencia a la A.O.A.C. (2000), mediante el método de soxhlet 31.4.02, se pesó 4 g de muestra envolviéndose en papel filtro Whatman y se colocó en un cartucho de extracción, se añadió 125 ml de hexano al balón soxhlet hasta que una parte del mismo sea sifonada hacia el balón y se montó el equipo. Se dejó hervir durante 4 horas, se retiró el balón y se enfrió llevándolo a rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania) para evaporar el solvente remanente en el balón a 60 °C durante 20 minutos, enfriar en una campana de desecación y pesar. Para el cálculo se consideró la diferencia de peso entre la muestra inicial y se expresó en porcentaje de grasa (% de grasa).

#### **D.5 Determinación de Color**

Para la medición del color se tomó como referencia la metodología propuesta por (Wadhvani y McMahon, 2012) en la cual se midió el color de queso y su influencia y percepción en los consumidores, con algunas modificaciones. El color del queso se midió usando un colorímetro portátil KONICA MINOLTA (COLOR READER CR -20, COD. 2001259, Japón). La estandarización del color se realizó utilizando placas de color blanco y negro (estándar). La medición del color se realizó de acuerdo a la Comisión Internacional de la l'Eclairage (CIE, 1978). Para todos los

tratamientos se utilizaron tres parámetros de color, el valor  $L^*$  es un indicador de luminosidad (el grado de luminosidad del negro al blanco), el valor de  $a^*$  es indicador de verde (-) y rojo (+), mientras que el valor de  $b^*$  da una indicación de azul (-) y amarillo (+). La preparación de la muestra se llevó a cabo de la siguiente manera: Los quesos fueron en forma cilíndrica y se cortaron en porciones triangulares, las medidas del color se realizaron en la superficie de la parte interna de cada porción. Las medidas se realizaron por triplicado a 1 día y un tiempo de maduración de 25 días.

## **E. Metodología para determinar residuos de antibiótico ciprofloxacino (cuantificación) en queso andino mediante UHPLC-DAD**

### **E.1 Curva de calibración**

Diferentes concentraciones de CFX fueron previamente trabajadas a partir de la solución madre. Se pesó 5 mg de CFX, 2,5 ml de Hidróxido de sodio 0,1 M y se aforó en una fiola de 5 ml con agua grado HPLC. A partir de la solución madre se realizaron diluciones seriadas desde un rango de 0,005 – 0,2  $\mu\text{g/mL}$  para cada punto se obtuvo el área (mAU) que corresponde a la concentración de analito, el rango establecido cubre las concentraciones de analito en las muestras a cuantificar en la presente investigación. La curva de calibración se realizó mediante regresión lineal. Esta determinación se realizó utilizando la metodología propuesta por Igualada et al. (2022), la cual validó un método UHPLC-HRMS para el análisis de antibióticos en leche, queso fresco y lactosuero, con algunas modificaciones.

### **E.2 Preparación y extracción de muestras**

Primero, se preparó una solución tampón de acetato de sodio 0,2 mol/L a pH 5,2, diluyendo 1,3608 g de acetato de sodio 3-hidratado con agua de grado HPLC incorporándose a una fiola de 50 ml, se ajustó el pH con ácido acético. Se utilizó el tampón acetato como disolvente de extracción en función de números de analitos detectados en la extracción en fase sólida antes del análisis cromatográfico.

Se pesó 5 g de queso, se desintegró utilizando un mortero de ágata durante 2 minutos, se incorporó a un tubo de ensayo de 50 ml. A continuación, se añadieron 2 ml de solución tampón de acetato de sodio y 10 ml de acetonitrilo. La mezcla se homogenizó a fondo utilizando un agitador vortex durante 10 minutos y luego se centrifugó a 5000 rpm durante 10 minutos a 15 °C. Se llevó a cabo la transferencia del sobrenadante a otro tubo de centrifuga cónica de 50 ml que contenía 0,5 g de adsorbente de sílice (C18) y nuevamente se centrifugó a las mismas condiciones. Los extractos finales se filtraron a través de un filtro de jeringa de 0,22  $\mu\text{m}$  y se inyectaron en viales color ámbar de 1,5 mL. Posteriormente, se tomaron 2  $\mu\text{L}$  de cada muestra fue inyectada en un cromatógrafo líquido de ultra alta performance (Agilent 1290 Infinity II, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD).

### **E.3 Parámetros y condiciones de trabajo en UHPLC-DAD**

Las condiciones del sistema para la separación de compuestos se realizaron a través de una columna analítica de fase reversa InfinityLab (Agilent, USA) Poroshell 120 EC-C18 (2,1 mm  $\times$  150 mm  $\times$  1,9  $\mu\text{m}$ ) a 40 °C. La fase móvil estuvo conformada por agua tipo I con 0,1 % de ácido fórmico (A) y acetonitrilo con 0,1 % ácido fórmico (B), utilizando una elución en gradiente: 0 min 95 % A – 5 % B, 15 min 60 % A – 40 % B y 18 min 95 % A – 5 % B a un flujo de 0,350 mL/min. Finalmente, los residuos de CFX fueron identificados y cuantificados en un tiempo de 12 minutos y a una longitud de onda  $\lambda$ : 280 nm.

#### **3.5.2 Materiales, reactivos y equipos**

##### **A. Materiales**

- Balón Soxhlet de 250 ml
- Botellas ámbar 250 mL
- Buretas de 50 mL
- Cartuchos SPE C18
- Celda de 100 mL para ASE 150
- Cinta de Foil de aluminio



- Desecadores de vidrio
- Embudo bunsen
- Embudos de vidrio plano
- Espátulas de acero inoxidable POLY
- Film transparente
- Filtros de celulosa para ASE 150
- Filtros de jeringa 0,22  $\mu\text{m}$
- Fiolas (5, 10, 25, 100, 250, 500 y 1000 mL)
- Jeringas de 3 mL
- Lactómetro Quevenne a 15 °C (15-40 unidades por encima de 1000  $\text{Kg}/\text{m}^3$ )
- Mantas calefactoras
- Micropipetas (20 – 200  $\mu\text{L}$ , 100 – 1000  $\mu\text{L}$  y 1 – 5 mL)
- Moldes de queso PVC de 500 g
- Mortero ágata
- Mortero de porcelana
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Papel filtro Whatman
- Papel secante
- Pinzas para crisoles
- Pipetas (5 y 10 mL)
- Piseta (500 mL)
- Placas Petri de vidrio
- Probetas (100 y 500 mL)
- Probetas de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Puntas de pipetas 10, 200 y 1000  $\mu\text{L}$
- Soporte universal
- Termohigrómetro (ISOLAB)
- Termómetro de mercurio (BOECO, Germany)
- Tubos de ensayo con base cónica (50 mL)
- Tubos de polipropileno para centrifuga (50 mL)

- Vasos de precipitados de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Viales ámbar (1,5 mL)

#### **B. Insumos y Reactivos**

- Acetonitrilo
- Ácido bórico al 4 % (p/v)
- Acido clorhidrico 0,05 N
- Ácido clorhídrico concentrado (37 %)
- Ácido fórmico ( $\geq 98$  %)
- Ácido Sulfúrico concentrado
- Agua destilada
- Agua tipo I
- Bacterias lácticas SACCO (*Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*)
- Buffer de calibración con pH 10, pH 7 y pH 4
- Catalizador sulfato de cobre y sulfato de potasio
- Ciprofloxacino en solución  $0.1 \mu\text{gL}^{-1}$
- Cloruro de calcio
- Cloruro de sodio
- Cuajo CAGLIFICIO CLERICI (Quimosina)
- Etanol (99,5 %)
- Gel de sílice (silicato sódico)
- Hidróxido de sodio 0,1 N
- Hidróxido de Sodio 0,1 N
- Hidróxido de sodio al 40 % (p/V)
- Hipoclorito de sodio
- Indicador rojo de metilo y verde de bromocresol
- Indicador fenolftaleína
- Metanol grado HPLC
- Nitrato de potasio
- Timol solido

### C. Equipos

- Balanza analítica (ENTRIS224-1S, Sartorius Lab Instruments GmbH & Co, KG, Goettingen, Alemania)
- Balanza semimicro (EX225/AD, OHAUS, USA)
- Baño termostático (LWB-122D, ISOLAB)
- Centrifuga (Pro-analyt.C2004, Centurion Scientific Ltd, UK)
- Cocina a gas (Surge – 3 hornillas)
- Colorímetro KONICA MINOLTA (COLOR READER CR -20, COD. 2001259, Japón)
- Congeladora (modelo Rh25h5613sg, Samsung)
- Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Performance (UHPLC) 1290 Infinity II (Agilent, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos 1290 Infinity II (Agilent, USA)
- Destilador de Agua (GFL – S/M – 1901377)
- Destilador kjeldal automático (PRO-NITRO A 4002430, P-SELECCTA, España)
- Digestor acoplado a Bloque digestor (D.Q.O. 4000639), Scrubber (4001611) y BR-1612 4001612) P-SELECTA, España)
- Equipo de extracción Soxhlet
- Estufa (MMM Group LSIS-B2VC55/D170606)
- Incubadora (EFE Clave-M300)
- Mufla (Thermo Concept KL05/12 – TC005)
- pH-metro sobremesa (Thermo Scientific Orion Versa Star, United States)
- Prensa Mecánica de acero inoxidable
- Purificador de Agua (Thermo Cientific – Micropure / 41665790)
- Rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania)
- Sistema de extracción en fase solida

#### 3.5.3 Prueba estadística inferencial

Cada una de las variables independientes y dependientes se analizaron de manera individual mediante un Diseño Completo al Azar (DCA), en el Software



IBM SPSS Statistics V27. Para el análisis adecuado se consideró los supuestos de normalidad de datos y homogeneidad de varianza, mediante las pruebas de Shapiro-Wilk ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) y Leneve ( $p\text{-valor} > 0,05$ ) respectivamente. Luego, se realizó el análisis de varianza ANOVA para determinar la influencia de las variables de respuesta considerando un  $p\text{-valor} < 0,05$ , con una posterior prueba de contrastación Tukey y Games Howell. Para establecer la diferencia de las variables en el periodo de maduración de 1 a 25 días, se realizó la prueba T-Student para muestras pareadas (considerando de igual forma los supuestos antes mencionados).

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 Resultados

##### 4.1.1 Evaluación del efecto de residuos de CFX en agua potable sobre el pH y % Acidez de queso andino a 1 y 25 días de maduración

Para pH, los valores obtenidos a un día varían entre 5,46 a 5,52 y para 25 días varían de 5,40 a 5,50 (Tabla 6), en ambos casos el comportamiento de las concentraciones (C1, C2, C3 y C4) aumenta en relación al control. El valor de pH incrementa hasta el 1,09 % a mayor concentración de CFX (C4) ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 4) para 1 día y hasta 1,85 % a concentraciones de CFX (C3 y C4) ( $p < 0,05$ ) a 25 días, lo que indica que en ambos casos el contenido de hidrogeniones presente en la muestra disminuye, bajando la acidez del queso andino; sin embargo, ocurre lo contrario en la comparación respecto al tiempo. Estos valores disminuyen a 25 días de maduración para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ), lo cual es típico en el proceso de fermentación para quesos madurados debido a la acumulación de ácido láctico, con valores de pH de 5,35 a 5,45, este comportamiento se visualiza en la Figura 4a.

El contenido de acidez expresada en % de ácido láctico, los valores obtenidos para 1 día varían entre 0,08 a 0,11 g de ácido láctico/100 g de queso andino y para 25 días varían de 0,11 a 0,15 g de ácido láctico/100 g de queso andino (Tabla 6), en ambos casos el comportamiento de las concentraciones (C1, C2, C3 y C4) en relación al control decrecen. La variación del control con la concentración mayor de CFX (C4) ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 5), disminuye hasta el 27,27 %, para 1 día y en la variación del control con las concentraciones menores de CFX (C1, C2, C3 y C) ( $p < 0,05$ ), el valor disminuye hasta 26,67 % para 25 días. Para la acidez con relación al periodo de maduración los valores aumentan para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ). El incremento de acidez y disminución de los valores de pH obedecen a la presencia de bacterias lácticas iniciadoras en la elaboración de queso andino en el proceso de fermentación y al proceso natural de proteólisis, que a medida

incrementa la acidez conduce a la fragmentación de las micelas (moléculas de proteína), lo que permite la disminución del pH. Dado que para quesos madurados el contenido de acidez oscila entre 0,12-0,16 g de ácido láctico/100 g de muestra, este comportamiento se visualiza en la Figura 4b.

**Tabla 6**

*Valores de pH y % Acidez para queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable*

N°	CFX Agua $\eta\text{gL}^{-1}$	1 DÍA		25 DÍAS	
		pH	% Acidez	pH	% Acidez
Control	0	5,46 <sup>a,A</sup> ± 0,04	0,11 <sup>b,A</sup> ± 0,01	5,40 <sup>a,B</sup> ± 0,02	0,15 <sup>b,B</sup> ± 0,01
C1	40	5,47 <sup>a,A</sup> ± 0,01	0,10 <sup>a,A</sup> ± 0,01	5,42 <sup>a,B</sup> ± 0,02	0,11 <sup>a,B</sup> ± 0,01
C2	400	5,48 <sup>a,A</sup> ± 0,03	0,10 <sup>a,A</sup> ± 0,01	5,43 <sup>a,B</sup> ± 0,01	0,11 <sup>a,B</sup> ± 0,02
C3	1000	5,51 <sup>a,A</sup> ± 0,01	0,09 <sup>a,A</sup> ± 0,01	5,48 <sup>b,B</sup> ± 0,01	0,12 <sup>a,B</sup> ± 0,01
C4	2000	5,52 <sup>b,A</sup> ± 0,02	0,08 <sup>a,A</sup> ± 0,01	5,50 <sup>b,B</sup> ± 0,02	0,13 <sup>a,B</sup> ± 0,02

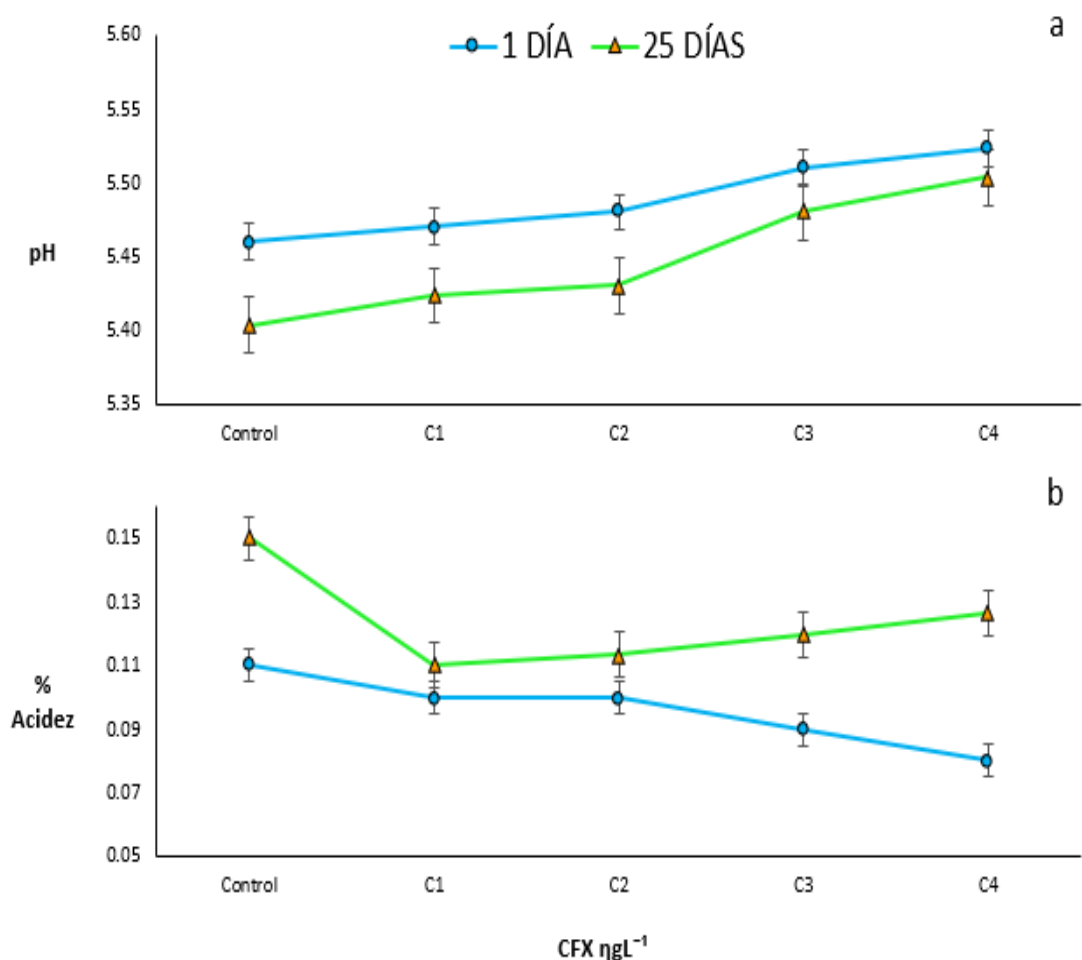
*Nota.* La tabla presenta el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las concentraciones de ciprofloxacino en agua y el control; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre el periodo de maduración.

El uso de agua contaminada a diferentes concentraciones (C1, C2, C3 y C4) de CFX no repercute en el proceso de elaboración de queso andino con respecto a las variables de pH y % de acidez; sin embargo, se precisó el análisis de estas variables para queso andino a 1 y 25 días de maduración para establecer diferencias relacionadas en el tiempo con relación a la contaminación cruzada por agua en diferentes concentraciones de CFX, no obstante para Scott R. et al. (2010) la difusión de suero con agua caliente en el proceso de escaldado de la cuajada produce diferencias en la presión osmótica entre el suero y la cuajada, esto contribuye a eliminar la lactosa, se reduce la capacidad de tampón como el nivel real del ácido láctico, enmascarando así la velocidad de formación de ácido láctico medida. Si bien no se tiene reportes del comportamiento de estos parámetros en quesos madurados a diferentes concentraciones, ni tampoco mediante contaminación cruzada por agua con presencia de CFX; sin embargo, se reporta

investigaciones con presencia de antibióticos suministrados desde la leche. Es así que para Quintanilla et al. (2019) la presencia de diversos antibióticos entre ellos CFX en queso maduro de cabra tipo Tronchon, muestra una tendencia de disminución de pH en los 30 primeros días, permaneciendo invariable hasta el final del periodo de maduración (60 días).

#### Figura 4

*a. Efecto del pH en queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable. b. Efecto del % Acidez en queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua*



Para Orwa et al. (2017) la presencia de residuos de antibióticos en leche previene la fermentación de bacterias del ácido láctico durante la elaboración de productos lácteos como yogurt, queso y mantequilla, perjudicando la calidad de

los productos y generando pérdidas económicas a los productores. Esta información es confirmada por Quintanilla et al. (2018) quienes precisan que a pH de 6,4-6,5 en queso maduro en presencia de antibióticos macrólidos como la eritromicina y espiramicina se inhiben las bacterias iniciadoras a las 24 horas de haber sido suministrados los fármacos en la leche de cabra, impidiendo que los quesos alcancen un pH de 5,3 requerido para que su proceso de maduración concluya. Lo mismo para oxitetraciclina (Quintanilla et al., 2019).

Por otro lado Cabizza et al. (2017) indica que un aumento en el tiempo de acidificación para alcanzar el pH final del queso, representa un riesgo para la salud del consumidor, ya que la baja actividad del cultivo iniciador podría resultar favorable para bacterias indeseables como coliformes. Esto a su vez retrasa la coagulación ácida y causa la reducción de pH en el proceso de elaboración de quesos a partir de leche de oveja y cabra (Berruga et al., 2016). Para eritromicina reduce hasta el 50 % la actividad de *Streptococcus spp.* de productos lácteos como yogurt, crema agria, leche fermentada y queso, además de los cultivos iniciadores comerciales (Katla et al., 2001). No obstante, para Chiesa et al. (2020) la influencia de los residuos de lincomisina (10, 20 y 40 ppb) en leche bovina, demostró un efecto negativo sobre la actividad de las bacterias del ácido láctico con consecuencia directa en la elaboración de queso durante la acidificación en el proceso de maduración.

#### **4.1.2 Análisis del efecto de residuos de CFX en agua potable sobre el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteínas y color de queso andino a 1 y 25 días de maduración**

##### **A. Contenido de humedad y cenizas**

Para la humedad presente en queso andino los valores obtenidos para 1 día varían entre 48,62 % a 49,57 % y para 25 días varían de 39,52 % a 40,39 % (Tabla 7), en ambos casos la comparación del control en relación a todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) no presentan diferencias significativas (ANEXO 6). En referencia al periodo de maduración el contenido de humedad disminuye para 25 días de maduración, para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ). Para el contenido de cenizas los valores

obtenidos para 1 día varían entre 6,24 % a 6,86 % y para 25 días varían de 3,15 % a 3,65 % (Tabla 7), en ambos casos la comparación del control en relación a todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) no presentan diferencias significativas (ANEXO 7). Con respecto al periodo de maduración el contenido de cenizas disminuye para 25 días de maduración, para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C) ( $p < 0,05$ ), mencionada diferencia se observa en la Figura 5.

El uso de agua contaminada a diferentes concentraciones (C1, C2, C3 y C4) de CFX no repercute en el proceso de elaboración de queso andino con respecto al contenido de humedad y cenizas; sin embargo, se precisó el análisis de estas variables para queso andino a 1 y 25 días de maduración para efectos comparativos. Es así, que según Quintanilla et al. (2019) la contaminación de leche con antibióticos, no es significativa por lo que no afecta las características fisicoquímicas de los quesos recién elaborados (a 24 horas), pero si el tiempo de maduración presentó un efecto significativo sobre todos los parámetros fisicoquímicos de queso madurado a partir de leche de cabra. No obstante la pérdida de humedad en el proceso de maduración es un proceso particular, se reafirma a la presencia de cloruro de calcio en el proceso de sinéresis, ya que este ayuda a la reducción del tiempo de cuajado, facilitando la coagulación y produce una cuajada más firme y compacta, sosteniendo la manipulación de la cuajada en la etapa de agitación como indica Castañeda R. et al. (2012), además la mayor parte de la humedad y la lactosa se eliminan durante la sinéresis; sin embargo, cantidades menores permanecen en procesos consecutivos como el drenaje, salazón, moldeado, prensado y evaporación como parte del proceso de maduración (Everard et al., 2007).

Para Cabizza et al. (2017), el contenido de humedad de queso de oveja con presencia de antibióticos como la oxitetraciclina es mayor al del control, este comportamiento está asociado al proceso de acidificación más lenta por presencia de este fármaco; Quintanilla et al. (2019) asocian directamente el contenido de humedad a la afectación por la eliminación

de la mayor parte en la fracción acuosa de la leche durante el proceso de fabricación.

**Tabla 7**

*Valores de % humedad, % cenizas, % grasa y % proteínas de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable*

N°	CFX Agua $\eta\text{gL}^{-1}$	1 DÍA			
		% Humedad	% Cenizas	% Proteínas	% Grasa
		Control	0	48,90 <sup>a,A</sup> ± 0,71	6,30 <sup>a,A</sup> ± 0,16
C1	40	49,50 <sup>a,A</sup> ± 0,34	6,86 <sup>a,A</sup> ± 0,28	17,92 <sup>a,A</sup> ± 0,30	21,37 <sup>a,A</sup> ± 0,48
C2	400	49,57 <sup>a,A</sup> ± 0,51	6,24 <sup>a,A</sup> ± 0,33	18,04 <sup>a,A</sup> ± 1,06	20,82 <sup>a,A</sup> ± 0,45
C3	1000	48,62 <sup>a,A</sup> ± 0,43	6,31 <sup>a,A</sup> ± 0,25	19,51 <sup>a,A</sup> ± 0,93	21,66 <sup>a,A</sup> ± 0,67
C4	2000	49,12 <sup>a,A</sup> ± 0,08	6,57 <sup>a,A</sup> ± 0,38	20,46 <sup>b,A</sup> ± 0,99	22,04 <sup>a,A</sup> ± 0,53
25 DÍAS					
Control	0	39,52 <sup>a,B</sup> ± 0,76	3,15 <sup>a,B</sup> ± 0,08	22,35 <sup>a,B</sup> ± 0,47	30,33 <sup>b,B</sup> ± 0,82
C1	40	40,12 <sup>a,B</sup> ± 0,27	3,65 <sup>a,B</sup> ± 0,35	23,05 <sup>a,B</sup> ± 0,82	27,10 <sup>a,B</sup> ± 0,22
C2	400	40,39 <sup>a,B</sup> ± 0,39	3,56 <sup>a,B</sup> ± 0,38	23,28 <sup>a,B</sup> ± 1,08	27,30 <sup>a,B</sup> ± 0,81
C3	1000	39,64 <sup>a,B</sup> ± 0,61	3,15 <sup>a,B</sup> ± 0,13	25,31 <sup>b,B</sup> ± 0,52	28,56 <sup>a,B</sup> ± 0,52
C4	2000	40,24 <sup>a,B</sup> ± 0,13	3,28 <sup>a,B</sup> ± 0,19	28,05 <sup>c,B</sup> ± 0,79	29,10 <sup>b,B</sup> ± 1,15

*Nota.* La tabla presenta el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las concentraciones de ciprofloxacino en agua y el control; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación del periodo de maduración en diferentes días

El contenido de minerales para queso andino se concentra debido al proceso de maduración a 25 días, esta diferencia se atribuye en su mayoría a la descalcificación del queso durante las etapas de fabricación y maduración, la acidificación de leche y pasta influye considerablemente

en el contenido de calcio y fosfatos, en consecuencia, la cantidad de sales disminuye (Villegas A., 2012), lo que indica que pH de 5,1-5,5 ocasiona que parte del calcio y del fosfato coloidal, y de las caseínas abandonen las micelas y migren hacia el plasma, lo cual ocasiona un acortamiento de las submicelas que es proporcional a la desorción de agua, repercutiendo en las propiedades de masa del queso en la maduración (Scott R., Wilbey R. y Robinson R., 2010).

## **B. Proteínas y Grasas**

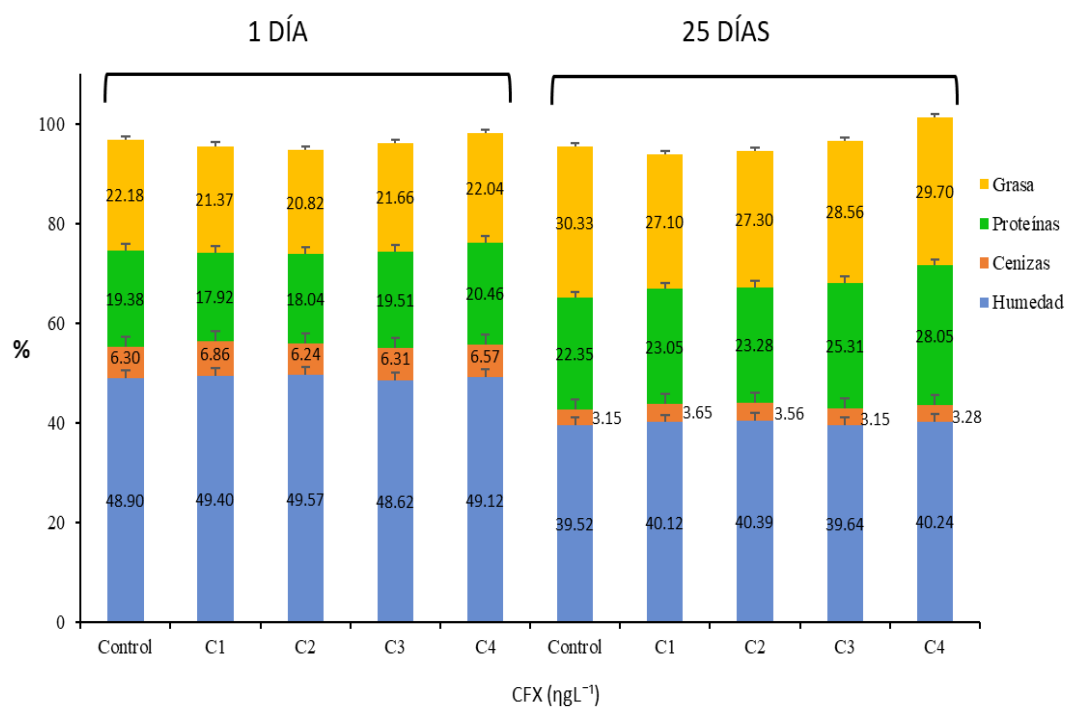
Para el % de proteínas, los valores obtenidos para 1 día varían entre 17,92 % a 20,46 % y para 25 días varían de 22,35 % a 28,05 % (Tabla 7), para ambos tiempos el contenido de proteína aumenta en las concentraciones de CPX (C1, C2, C3 y C4) en relación al control. Esta diferencia del control con la concentración mayor de CFX (C4) ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 8), aumenta hasta el 5,57 % a 1 día, en la variación del control con las concentraciones de CFX (C3 y C4) ( $p < 0,05$ ), el valor aumenta hasta 25,50 % (C4) en 25 días de maduración. Comparando en relación al periodo de maduración para contenido de proteína, los valores aumentan en el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ). La concentración en el contenido de proteínas es propia de la etapa de maduración de queso semiduro, debido mayormente a la evaporación de agua, los valores reportados son similares al 22,6 % establecido en las Tablas Peruanas de Composición de Alimentos (Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición, 2017). Esta diferencia se visualiza en la Figura 5.

En el % de grasa, los valores obtenidos para 1 día varían entre 20,82 % a 22,18 % y para 25 días varían de 27,10 % a 30,33 % (Tabla 7), para ambos tiempos el contenido de grasa disminuye en las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) en relación al control. La diferencia del control con las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) no presentan diferencia significativa (ANEXO 9) a 1 día; sin embargo, la variación del control ( $p < 0,05$ ) con las concentraciones de CFX (C1, C2 y C3) ( $p < 0,05$ ) reduce hasta 10,65 % (C1) a 25 días de maduración. En el

contraste en relación al periodo de maduración para contenido de grasa, los valores aumentan para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ), debido a la lipólisis como predominante e importante en la maduración de quesos, los valores reportados en esta investigación son similares al contenido de grasa total de 31,4 % establecido en las Tablas Peruanas de Composición de Alimentos (Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición, 2017). Esta diferencia se visualiza en la Figura 5.

### Figura 5

*Efecto del % humedad, % cenizas, % grasa y % proteínas de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable*



El agua contaminada a diferentes concentraciones (C1, C2, C3 y C4) de CFX utilizada en el escalado de la cuajada, no repercute en el proceso de elaboración de queso andino con respecto al contenido de proteínas y grasas; sin embargo, se precisó el análisis de estas variables para queso andino a 1 y 25 días de maduración para efectos comparativos. En el caso de las proteínas para Scott R. et al. (2010) las mayoritarias y predominantes en quesos son las  $\alpha$ - y  $\beta$ -caseínas, estas son degradadas por

enzimas presentes en el cuajo residual, proteasas naturales de la leche y/o proteasas de las bacterias del cultivo iniciador, actividad que es esencial para la producción de sabor y aroma del queso maduro. De tal manera que el aumento en el porcentaje de proteínas, indica una proteólisis progresiva (Buffa et al., 2001). Esta diferencia del contenido de proteínas entre el control y mayor concentración de CFX (C4) a 1 día y las dos mayores concentraciones de CFX (C3 y C4) a 25 días se relaciona a la afinidad de las proteínas con los fármacos en general y proteólisis prematura por la desintegración de las micelas de caseína (molécula proteica) a pH bajo, teniendo mayor superficie de exposición de las proteínas y adhesión para las moléculas de antibiótico (Quintanilla et al., (2019). Del mismo modo la detección de residuos de antibióticos macrólidos como la tilosina durante un proceso de maduración de 60 días, podría estar relacionada con la menor actividad proteolítica en los quesos que contienen menor fracciones de aminoácidos, muestran una baja capacidad de unión a proteínas debido a su bajo grado de ionización (Quintanilla et al., 2018).

En el caso de la diferencia del contenido de grasa entre la referencia y concentraciones de CFX (C1, C2 y C3), está dada por la clase cuantitativa más importante de lípidos del queso son los triglicéridos, sobre los que actúan las lipasas dando diglicéridos y monoglicéridos y finalmente ácidos grasos libres en el proceso de lipólisis; sin embargo, muchas bacterias son incapaces de degradar triglicéridos forma que el nivel de ácidos grasos libres en queso se mantiene bajo (Scott R. et al., 2010), dado que estas bacterias podrían ser inhibidas por la quimosina CFX. Dada esta interacción con estructuras relacionadas a los lípidos, como membranas celulares, también están altamente relacionadas con su lipofilia, esta a su vez es una propiedad fisicoquímica importante, junto a la ionización y solubilidad, determinan el proceso de absorción, metabolismo y excreción de los antibióticos, por lo tanto una mayor solubilidad de lípidos en fase acuosa refleja la afinidad del compuesto por la fase lipídica y una mayor lipofilia da como resultado un largo tiempo de retención en los tejidos (Ciura et al., 2019), por tanto la naturaleza lipofílica de estos compuestos, explica fundamentalmente la

capacidad de las quinolonas para retenerse en la fracción grasa de la leche y por tanto del queso (Giraldo et al., 2017). Para Quintanilla et al. (2019) la permanencia de estos fármacos como quinolonas y oxitetraciclina (medicamentos lipofílicos), demuestra la evidencia que las sustancias no polares tienden a ser retenidas en la cuajada del queso. O de lo contrario, se espera que las sustancias hidrófobas se concentren en la cuajada si la leche contiene residuos de este fármaco (Silva et al., 2020) .

Al ser el queso andino un producto fermentado caracterizado por la concentración de grasas, proteínas y la presencia de cloruro de calcio permite obtener una cuajada más firme y compacta, facilitando la agitación en la etapa de lavado mejorando el rendimiento al retener mayor cantidad de grasa (Castañeda R. et al., 2012), en quesos de leche de cabra con presencia de amoxicilina, bencilpenicilina, cloxacilina, eritromicina, ciprofloxacino, enrofloxacino y oxitetraciclina, las concentraciones de polipéptidos provenientes de la proteólisis y los triglicéridos provenientes de la lipólisis, estos aumentan a lo largo del periodo de maduración hasta 60 días para algunos tipos de queso madurados; sin embargo, no se reporta diferencia significativa con las pruebas control para cada antibiótico (Quintanilla et al., 2019).

### C. Color ( $L^*a^*b^*$ )

Para el análisis de color en queso andino, se registraron en el espacio de color CIELab, el parámetro  $L^*$  de Luminosidad y coordenadas de cromaticidad, parámetro  $a^*$  (enrojecimiento/verdoso) y parámetro  $b^*$  (amarillez/azul). Los valores obtenidos para 1 día en el parámetro  $L^*$  88,99 a 89,97, parámetro  $b^*$  varia de 1,29 a 1,36 y parámetro  $a^*$  varia de 12,48 a 13,05, en todos los parámetros no se muestra diferencia significativa entre la referencia y las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) (Tabla 8); a 25 días el parámetro  $L^*$  varía de 81,46 a 82,65, se aprecia una tendencia ascendente, es decir el incremento en la de concentración de CFX en queso andino, aumenta el valor de luminosidad con una diferencia de hasta 1,46 % del control ( $p < 0,05$ ) con respecto a la mayor concentración de CFX (C4) ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 10), de igual forma

para el parámetro  $b^*$  varía de 24,01 a 25,84 con una diferencia de hasta 7,62 % (C4) entre el control ( $p < 0,05$ ) y las mayores concentraciones de CFX (C3 y C4) ( $p < 0,05$ ) y el parámetro  $a^*$  indica que los valores están en el espacio rojo, pero no representa diferencia significativa. Para establecer la diferencia entre el periodo de maduración de 1 a 25 días, los valores de  $L^*$  disminuyen para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ), para  $a^*$  y  $b^*$  los valores aumentan para el control ( $p < 0,05$ ) y todas las concentraciones de CFX (C1, C2, C3 y C4) ( $p < 0,05$ ) (Tabla 8). En tal sentido, los valores de color para queso andino son similares a los reportados por Milovanovic et al. (2021) y Ávila et al., (2017) para queso semiduro y Nedomová et al. (2017) para quesos madurados aceitados. Este contraste se visualiza en la Figura 6.

Es evidente el incremento de la luminosidad en la misma tendencia de la concentración de CFX (Figura 6), esta variación podría estar asociada a la proteólisis por la desintegración de micelas de caseína en el tratamiento térmico según Anema (2017), esta información la confirma Milovanovic et al. (2021) estableciendo que, debido a la pasteurización, se dispersa la proteína desnaturalizada, así como los glóbulos de grasa de la leche y suero, conduciendo al incremento de luminosidad, es importante mencionar que Nedomová et al. (2017) denota la formación de partes más oscuras al borde del queso por efecto de la maduración y evaporación de agua de la superficie, lo cual altera el valor de luminosidad. Por otro lado, para Lukinac et al. (2018) a mayor humedad, mejor es la formación de una matriz proteica homogénea y más compacta, incrementando el valor de luminosidad.

Por su parte Quintanilla et al. (2019) reporta el incremento de luminosidad para quesos madurados provenientes de leche de cabra con presencia de ciprofloxacino, siendo  $L=88,7$  a 30 días de maduración. Esta diferencia podría estar asociada al tipo de leche (cabra vs vaca) y a la utilización de bacterias iniciadoras para cada tipo de queso madurado, por tanto Milovanovic et al. (2021) refiere que, para los productos con presencia de fermentos, la opacidad que presentan está relacionada con la proporción de caseína y su nivel de agregación, pueden ser potencialmente

responsable de la difusión de la luz en la muestra interfiriéndola, así establece que, a mayores valores de luminosidad, mayor será la opacidad.

**Tabla 8**

*Efecto en el color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  de queso andino a 1 y 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable*

N° Trat.	CFX Agua $\mu\text{gL}^{-1}$	1 DÍA		
		$L^*$	$a^*$	$b^*$
Control	0	89,17 <sup>a,A</sup> ± 0,42	1,33 <sup>a,A</sup> ± 0,15	12,90 <sup>a,A</sup> ± 0,55
C1	40	88,97 <sup>a,A</sup> ± 0,77	1,36 <sup>a,A</sup> ± 0,09	12,73 <sup>a,A</sup> ± 0,84
C2	400	89,31 <sup>a,A</sup> ± 0,32	1,31 <sup>a,A</sup> ± 0,02	13,05 <sup>a,A</sup> ± 0,92
C3	1000	89,97 <sup>a,A</sup> ± 0,93	1,29 <sup>a,A</sup> ± 0,24	12,48 <sup>a,A</sup> ± 0,86
C4	2000	89,88 <sup>a,A</sup> ± 1,00	1,32 <sup>a,A</sup> ± 0,06	12,75 <sup>a,A</sup> ± 0,46
25 DÍAS				
Control	0	81,46 <sup>a,B</sup> ± 0,40	3,65 <sup>a,B</sup> ± 0,39	24,01 <sup>a,B</sup> ± 0,29
C1	40	81,58 <sup>a,B</sup> ± 0,25	3,78 <sup>a,B</sup> ± 0,18	24,91 <sup>a,B</sup> ± 0,78
C2	400	81,52 <sup>a,B</sup> ± 0,42	3,73 <sup>a,B</sup> ± 0,27	25,13 <sup>a,B</sup> ± 0,20
C3	1000	82,02 <sup>a,B</sup> ± 0,44	3,66 <sup>a,B</sup> ± 0,29	25,66 <sup>b,B</sup> ± 0,25
C4	2000	82,65 <sup>b,B</sup> ± 0,56	3,53 <sup>a,B</sup> ± 0,04	25,84 <sup>b,B</sup> ± 0,74

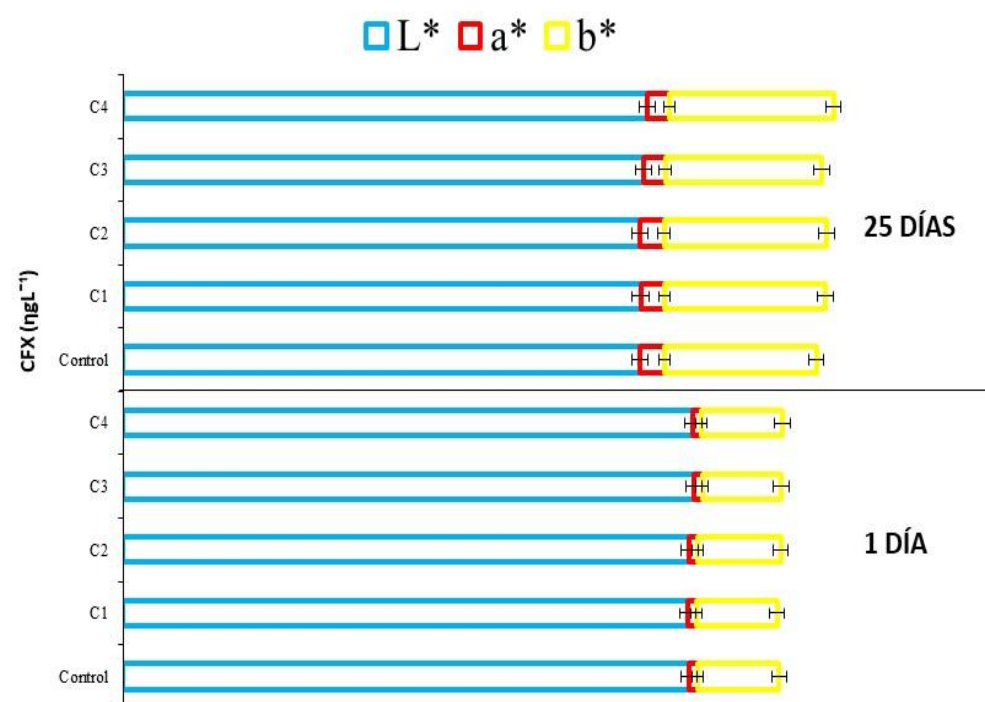
*Nota.* La tabla presenta el promedio ± la desviación estándar (n = 3). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre las concentraciones de ciprofloxacino en agua y el control; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre la variación del parámetro en diferentes días.

Los componentes enrojecidos ( $a^*$ ) y amarillento ( $b^*$ ) están influenciados por la concentración de pigmentos naturales desde la leche, como son los carotenoides (valor  $b^*$  más alto) (Milovanovic et al., 2021), independientemente si los animales que producen la leche se alimentan con pastos verdes o con alimentos secos (Wadhvani y McMahon, 2012).

Mientras que Everard et al. (2007) fundamentan que la cinética de la sinéresis en la fabricación de queso está asociada a la luz que dispersa el suero, siendo más amarillo a medida que avanza la sinéresis. Si bien el incremento en el parámetro  $b^*$  indica amarillez en el queso, con un valor de 13,1 para queso madurado a 30 días a partir de leche de cabra (Quintanilla et al., 2019), está por debajo de los valores encontrados en el presente estudio (24,66 el menor valor) lo cual indica que el queso andino a partir de leche de vaca es más amarillo, incide Milovanovic et al. (2021) que el incremento de este valor es posible a la translucidez de las muestras, es decir la luz que penetra en el queso, se dispersa parcialmente y se difunde en la superficie de la muestra.

### Figura 6

*Efecto de los parámetros de color  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  en queso andino a 1 y 25 días de maduración y diferentes concentraciones de antibiótico CFX en agua potable*



Si bien no se reporta el comportamiento del color en queso andino mediante contaminación cruzada con presencia de CFX en agua, estos incrementos en las concentraciones (C1, C2, C3 y C4) para los valores de los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  a 25 días de maduración, podrían asociarse a

factores como la composición de la leche, aditivos alimentarios, tecnología de fabricación, actividad natural de la microflora de la leche, técnica de maduración entre otros, según refiere Lukinac et al. (2018), así como también al aire y cavidades de los quesos los que reflejan longitudes de onda específicas, eclipsando la luz reflejada por estos componentes, dando como resultado diferencia de color (Milovanovic et al., 2021). Es preciso indicar que el color del queso andino analizado con diferencias estadísticas encontradas no es notable en la evaluación de calidad final ni percepción del consumidor, sin embargo Wadhvani y McMahon (2012) inciden que es importante que los quesos tengan el color esperado, porque los consumidores asocian ciertos colores a ciertos sabores. Además, representa el criterio más importante para la decisión de compra (Minz y Saini, 2021).

#### **4.1.3 Determinación de la cuantificación de la presencia (tasa residual) de CFX en queso andino a 25 días de maduración**

##### **A. Curva de Calibración y Validación**

En el presente estudio de linealidad, las curvas analíticas se realizaron con muestra blanco (estándar) con cinco niveles de concentraciones de CFX desde 0,005, 0,01, 0,04, 0,1 y 0,2  $\text{ngL}^{-1}$  para evaluación de prevalencia del agua con concentraciones iniciales de CFX de 40, 400, 1000 y 2000  $\text{ngL}^{-1}$  en muestras de queso, cada muestra de queso se evaluó por triplicado.

Los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) fueron determinados como la cantidad mínima detectable del antibiótico en la matriz en modo MRM con una relación señal– ruido (S/N). Los índices S/N fueron obtenidos utilizando el software Chem Station.

Los parámetros de validación del método, como la ecuación de regresión, coeficiente de correlación, se muestran en la Tabla 9. La linealidad del método en estudios analíticos se calcula de acuerdo con el cambio lineal de valores (área, altura, absorbancia) obtenidos a partir de diferentes concentraciones de analito (Tasci et al., 2021).

**Tabla 9**

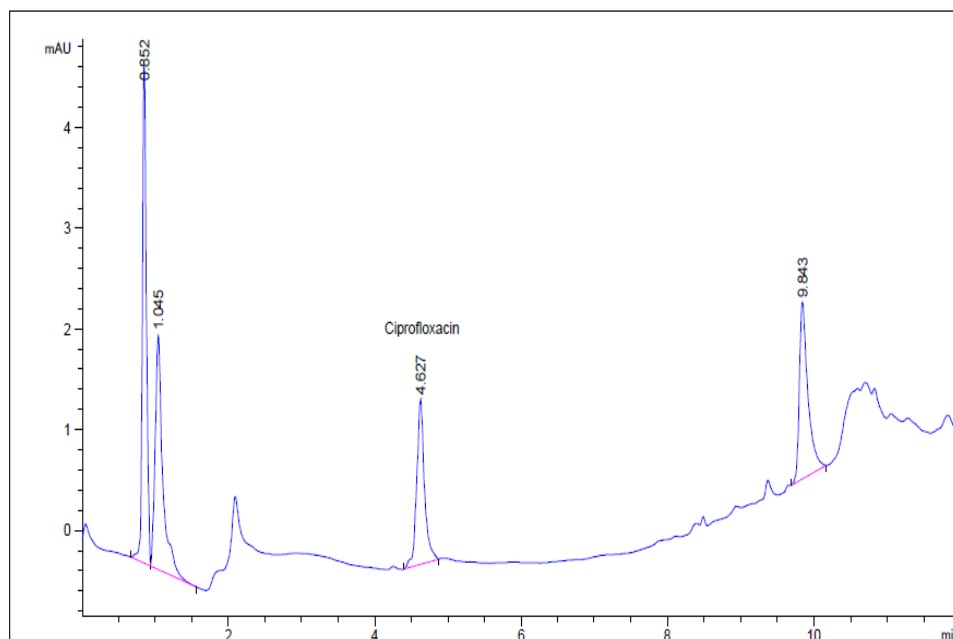
*Valores de parámetros de validación y curva de calibración del estándar de referencia ciprofloxacino*

PARAMETROS DE VALIDACION Y CURVA DE CALIBRACION	COMPUESTO Ciprofloxacino (CFX)
Pendiente	807,98
Intercepto	2,1668
$r^2$	0,998
Límite de Detección - LD ( $\eta$ /mL)	0,08 – 3,01
Límite de Cuantificación - LQ ( $\eta$ /mL)	0,25 – 9,94
Área (mAU*s)	12,09
Señal / ruido (S/N)	199,1
Tiempo (min)	4,627

La prevalencia de residuos de CFX en queso andino a 25 días de maduración, reportó valores de 4,54 a 6,27  $\eta$ g de CFX/g de queso entre todas las concentraciones de CFX en agua (C1, C2, C3 y C4), el orden de valores mayor a menor prevalencia es C1 (40  $\eta$ L<sup>-1</sup>), C3 (1000  $\eta$ L<sup>-1</sup>), C4 (2000  $\eta$ L<sup>-1</sup>) y C2 (400  $\eta$ L<sup>-1</sup>) (Tabla 10), la diferencia entre C1 y C2 es hasta el 27,59 %, dado que, si existe prevalencia de fármaco en todas las concentraciones, el contraste con la referencia resulta significativo ( $p < 0,05$ ) (ANEXO 11). En la Figura 8 se muestra el diagrama radial de prevalencia de CFX de queso andino a 25 días de maduración.

**Figura 7**

*Cromatograma para establecer señal/ruido del estándar de referencia ciprofloxacino*

**B. Cuantificación de Ciprofloxacino**

Para describir el reporte de resultados en la cuantificación del analito, es preciso mencionar que en la búsqueda de normas relacionadas al uso de agua potable destinada a la elaboración de productos alimenticios en general y derivados lácteos en particular que contenga residuos de fármacos, no se encontró información. A nivel nacional la NORMA TÉCNICA PERUANA NTP 202.193-2010: Leche y Productos Lácteos. Queso. Identificación, clasificación y requisitos, no informa sobre límites admisibles provenientes de medicamentos veterinarios, sin embargo, toma referencia a los establecidos por el Codex. A nivel internacional el CODEX ALIMENTARIUS-CODEX STAN 193-1995: Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos, refiere la contaminación por residuos de plaguicidas, toxinas microbianas, residuos de coadyudantes de la elaboración (aditivos alimentarios) y residuos de medicamentos veterinarios (Tabla 5), la información sugiere la contaminación en la leche y otros tejidos, más no en derivados lácteos como quesos, tampoco informa la presencia de quinolonas como CFX. Así mismo en el REGLAMENTO DE LA UNION EUROPEA N° 37/2010

sobre sustancias farmacológicamente activas y su clasificación. Límites Máximos de Residuos (LMR) en los productos alimenticios de origen animal, se registra el límite máximo permisible de fármacos en su composición de enrofloxacino, que considera la mezcla de enrofloxacino y su metabolito ciprofloxacino, proveniente de ganado, bovino, ovino o caprino, el límite máximo de residuo es de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , es así que este valor se consideró para la comparación de los resultados obtenidos en el presente estudio (Tabla 10), por lo tanto el rango de valores de prevalencia de CFX 4,54 – 6,27  $\eta\text{g}/\text{g}$  para queso andino a 25 días de maduración, estarían dentro del límite máximo de residuos.

**Tabla 10**

*Valores de prevalencia de residuos de ciprofloxacino en queso andino a 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX inicial en agua potable*

N° Trat	CFX Agua $\eta\text{g}/\text{L}^{-1}$	Área $\text{mAU}^*\text{s}$	CFX Queso $\eta\text{g}/\text{g}$	Tasa de Retención %
0	0	0	0	0
C1	40	2,53	6,27 <sup>a</sup> $\pm$ 1,61	15,68
C2	400	1,83	4,54 <sup>a</sup> $\pm$ 1,17	1,14
C3	1000	2,23	5,56 <sup>a</sup> $\pm$ 1,40	0,56
C4	2000	1,93	4,79 <sup>a</sup> $\pm$ 0,87	0,24

*Nota.* La tabla presenta valores de la media  $\pm$  la desviación estándar (n=3). Las letras del superíndice representan diferencia significativa ( $p < 0,05$ )

Para las tasas de retención, en la primera concentración (C1) de CFX en agua ( $40 \eta\text{g}/\text{L}^{-1}$ ), se obtiene  $6,27 \pm 1,61 \eta\text{g}/\text{g}$  de CFX en queso andino, lo cual representa una tasa de retención del 15,68 % (porcentaje de transferencia de antibiótico) (Tabla 10), siendo la mayor cantidad alcanzada de recuperación de fármaco. Para las concentraciones (C2 y C3) de CFX en agua 400,  $1000 \eta\text{g}/\text{L}^{-1}$ , se obtuvo  $4,54 \pm 1,17$  y  $5,56 \pm 1,40 \eta\text{g}/\text{g}$  de CFX en queso, con 1,14 % y 0,56 % de tasa de retención respectivamente. Y para la concentración (C4) de CFX en agua  $2000 \eta\text{g}/\text{L}^{-1}$ , se obtuvo  $4,79 \pm 0,87 \eta\text{g}/\text{g}$  de CFX en queso, con una tasa de retención

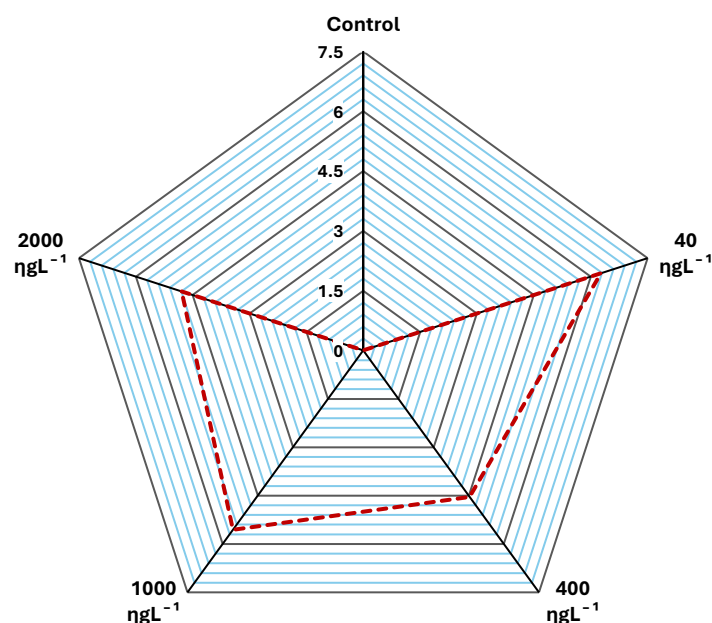
de 0,24 %, lo que representa la menor recuperación alcanzada, así podemos aseverar de acuerdo al estudio realizado que la tendencia es a mayor concentración de CFX en agua, menor es la recuperación de CFX en queso andino a 25 días de maduración proveniente de leche bovina, como se muestra en la Figura 8. Quintanilla et al. (2018) reporta que el antibiótico macrólido como la tilosina retiene entre 5-6 % del fármaco inicialmente suministrado a la leche de cabra para quesos madurados Tronchon. Por otro lado Tasci et al. (2021) en su estudio de antibióticos y sus metabolitos cuantificados mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas por tándem para leche bovina, reportan recuperaciones de hasta 87 %. Para quesos madurados provenientes de leche de cabra, la tasa de retención es mucho mayor para ciprofloxacino y oxitetraciclina (2,7 a 4,3 veces) hasta un periodo de maduración de 60 días, en comparación a  $\beta$ -lactámicos y eritromicina. (Quintanilla et al., 2019). Evidenciando la elevada susceptibilidad de estas sustancias a ser retenidas en la matriz queso. Se confirma esta información para quesos con presencia de enrofloxacino y ciprofloxacino al 51 % de tasa de retención con respecto a la concentración inicial a la leche de cabra a las 24 horas después de suministrado el fármaco (Quintanilla et al. 2021).

Es innegable la presencia de quinolonas de segunda generación como CFX en queso andino a 25 días de maduración, como resultado de una contaminación cruzada que ejerce el agua con presencia de CFX en el escaldado de cuajada que se realizó durante 20 minutos a 40 °C, puesto que en esta etapa se promueve la contracción de la matriz proteica, haciendo que la cuajada se retraiga y expulse suero, el aumento de la temperatura también acelera el metabolismo de las bacterias incluidas en la cuajada, cabe mencionar que la cuajada también se escalda y esta expelle humedad (Scott R. et al., 2010). Es así que el proceso sinéresis en su etapa final, se ve afectada por la composición y el pretratamiento de la leche, factores de coagulación, propiedades reológicas del gel al momento del corte, la superficie de la cuajada, presión externa y la temperatura de la cuajada (Wadhvani y McMahon, 2012), lo que permite que los

antibióticos puedan retenerse en la cuajada de leche en mayor o menor medida, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de estas sustancias y su capacidad para interactuar con la grasa y/o proteína (Giraldo et al., 2017).

### Figura 8

*Diagrama radial de la prevalencia de residuos de CFX en queso andino a 25 días de maduración y a diferentes concentraciones de antibiótico CFX inicial en agua potable*



Es importante señalar que la información relacionada a este tipo de contaminación cruzada de fármacos hacia productos lácteos como quesos, es prácticamente inexistente. Por lo que las investigaciones enfocadas para el contraste de resultados están orientada a la presencia de fármacos en la administración intramuscular al animal o la administración directa de antibióticos en leche destinada a la elaboración de quesos como menciona por ejemplo Botsoglou y Fletouris (2001) para el antibiótico enrofloxacin que se administra por vía intravenosa a vacas lecheras, el antibiótico CFX puede continuar detectándose en concentraciones más altas durante más tiempo, por otro lado Quintanilla et al. (2018), menciona que los

macrólidos como la tilosina, a las 24 horas de administración al animal, no afectan los procesos de elaboración del queso, sin embargo, se detecta la presencia de este fármaco durante todo el proceso de maduración. Por su parte Li et al. 2017 menciona que el proceso de cocción de alimentos presentes en la dieta de niños en edad preescolar de Hong Kong como por ejemplo la leche no se reduce la presencia de fluoroquinolonas como CFX, ofloxacino y enrofloxacino por ser termoestables, mientras que algunos son termolábiles o parcialmente termolábiles.

Por otro lado, la mayor o menor transferencia de antibióticos de la leche al queso podría estar relacionada con las características de solubilidad de estas sustancias (Giraldo et al., 2017). Es así que para la quinolona CFX la solubilidad en agua es alta con valores de  $3,55 \times 10^{-3} - 5,79 \times 10^{-4}$  mol/kg de solvente, para pH de 5,34 a 6,47 (Fallati, 1994), dado que los valores de pH de las concentraciones de contaminante CFX en agua (C1, C2, C3 y C4) para este trabajo, están dentro del rango de pH mencionado. La constante de disociación para la quinolona CFX es  $pK_1=5,89$  y  $pK_2=8,61$  (Czyrski, 2022). Por tanto, la transferencia de iones disociados del soluto (CFX) en una solución de agua se da en forma reversible en el proceso de lavado y agitación de la cuajada de queso hasta alcanzar un punto de equilibrio, estas condiciones se dieron en el proceso de sinéresis a 40 °C en un tiempo de 25 minutos en la elaboración de queso andino, lo que explica la tasa de retención final en la matriz. Reeves (2012) también menciona que la alta solubilidad en agua de los  $\beta$ -lactámicos y eritromicina con valores de constantes de disociación de 2,6 a 8,8, explican las tasas de retención más bajas obtenidas para aquellas sustancias que se transfieren mayoritariamente de la cuajada al suero. No obstante, Quintanilla et al. (2019) mostraron que los residuos de medicamentos lipofílicos se concentran de 2,7 a 4,3 veces en quesos, a diferencia de la concentración inicial de leche de cabra cruda, lo que evidencia que las sustancias no polares tienden a ser retenidas en la cuajada del queso.

## 4.2 Discusión

Es preciso indicar que la proveniencia de agua potable con presencia de fármacos en general y CFX en particular implica un problema latente, aún más si es destinada a la elaboración de quesos madurados, este fármaco fue detectado en ambientes acuosos por Hughes et al. (2013). En concentraciones de  $6,5 \text{ mgL}^{-1}$  en un ecosistema de agua dulce, por su parte Vilca et al. (2021) reporta valores de  $188,1 \pm 102,7 \text{ ngL}^{-1}$  y  $222,2 \pm 115,9 \text{ ngL}^{-1}$  para agua potable con presencia de CFX en estación seca y lluviosa respectivamente, además valores de  $201,0 \pm 91,1 \text{ ngL}^{-1}$  en la estación seca y  $301,7 \pm 125,1 \text{ ngL}^{-1}$  en la temporada de lluvias para aguas superficiales con presencia de CFX, lo que es muy preocupante ya que estas son destinadas al proceso de potabilización, dado que los resultados muestran que el sistema de tratamiento de agua potable con cloración no destruye el CFX (Ashfaq et al., 2017). No obstante, este fármaco se detecta con frecuencia en el ambiente en concentraciones de  $5,3\text{-}119,8 \text{ }\mu\text{g/kg}$  en suelos agrícolas (Li et al., 2011),  $6,5 \text{ mg/L}$  en un ecosistema de agua dulce (Hughes et al., 2013),  $45,59 \text{ mg/kg}$  en estiércol (Zhao et al., 2010) y  $426 \text{ mg/kg}$  en lodos de depuradora urbana (Rusu et al., 2015).

Las quinolonas (ciprofloxacino) son más estables, así la tasa de reducción en el proceso de maduración de quesos es de 30-45 %, lo cual evidencia mayores concentraciones en los productos finales, siendo evidente evaluar el riesgo del consumidor. (Quintanilla et al., 2019). Así, la transferencia de residuos de antibióticos del queso al suero de leche (Giraldo et al., 2017), tiene implicaciones negativas para la seguridad humana, animal y ambiental, debido a que este subproducto se utiliza en la fabricación de alimentos para consumo humano, alimentación animal y aplicaciones agrícolas entre otros (Carvalho et al., 2013). Para quesos elaborados con un periodo de espera (AESAN, 2022), el enrofloxacin y CFX no son detectables (valores por debajo del límite de detección LD), estos resultados indican que la abstinencia establecida para quinolonas, es adecuada para reducir o eliminar la probabilidad que los seres humanos estén expuestos al consumo de estos fármacos en derivados lácteos (Quintanilla et al., 2021). Por lo que esta quinolona de segunda generación, no se metaboliza por completo y persiste en alimentos como huevos, leche y/o tejidos comestibles (Chen T. et al., 2020).

Es de orden imperativo destacar que la presencia de antibióticos tiene como consecuencias primarias un impacto tecnológico y económico en la industria láctea, por lo tanto, es prioritario estudiar las incidencias a lo largo de toda la cadena alimentaria,



estableciendo buenas prácticas en la gestión de antibióticos en animales (Chiesa et al., 2020). Sin embargo, el agua superficial juega un papel importante en la aparición y propagación de la resistencia a los antibióticos, por lo que el desarrollo de estrategias para mejorar la calidad del agua se convirtió en una necesidad permanente, actualmente se estudian diferentes enfoques que pueden aplicarse a evaluar riesgos potenciales de salud con exposición indirecta a productos farmacéuticos, metabolitos y productos de degradación en agua potable (Rusu et al., 2015). La exposición a dosis bajas de antibióticos puede acelerar la diseminación de genes de resistencia a los antibióticos (ARG) y contribuir a la creación de cepas resistentes a los medicamentos, lo que sin duda representa una amenaza creciente para la salud mundial (Chen Y. et al., 2020).

## CONCLUSIONES

- Los residuos de CFX en agua potable a una concentración de  $2000 \text{ ngL}^{-1}$  interfiere en el pH 5,52 sube el valor con respecto a la referencia hasta un 1,09 % a 1 día y las concentraciones de 1000 y  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ , interfiere en el pH 5,48 y 5,50 sube el valor con respecto a la referencia hasta un 1,85 % a los 25 días; sin embargo, el % de acidez para las concentraciones 40, 400, 1000 y  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ , disminuye con respecto a la referencia hasta un 27,27 % y 26,67 % para 1 y 25 días de maduración de queso andino respectivamente.
- Los residuos de CFX en agua interfiere en el % de humedad y % de ceniza, el valor disminuye a 25 días para el control y 40, 400, 1000 y  $2000 \text{ ngL}^{-1}$ ; para proteína la concentración de  $2000 \text{ ngL}^{-1}$  incrementa con relación a la referencia hasta un 5,57 % a 1 día y las concentraciones 1000 y  $2000 \text{ ngL}^{-1}$  también incrementan hasta un 25,50 % a 25 días; sin embargo, la grasa total disminuye para las concentraciones 40, 400 y  $1000 \text{ ngL}^{-1}$  con respecto a la referencia hasta un 10,65 % a 25 días de maduración y finalmente si interfiere en el color de queso andino en los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  a concentración de  $2000 \text{ ngL}^{-1}$  en comparación con la referencia.
- Se evidencia la prevalencia de residuos de CFX en queso andino a 25 días de maduración con valores de  $627 \text{ ng/g}$  ( $40 \text{ ngL}^{-1}$ ),  $5,563 \text{ ng/g}$  ( $100 \text{ ngL}^{-1}$ ),  $4,79 \text{ ng/g}$  ( $200 \text{ ngL}^{-1}$ ) y  $4,54 \text{ ng/g}$  ( $400 \text{ ngL}^{-1}$ ), la mayor tasa de retención es 15,68 % a  $40 \text{ ngL}^{-1}$  de concentración de ciprofloxacino en agua potable destinada a la elaboración de quesos madurados, lo que afecta potencialmente la seguridad del consumidor, incluso si la presencia de residuos es menor que el LMR.

## RECOMENDACIONES

- Determinar el periodo de espera adecuado para el consumo de leche y derivados lácteos tras la administración de CFX y otros fármacos en ganado bovino, ovino y caprino que son destinados al consumo humano, teniendo implicancias negativas en la salud pública debido al consumo innecesario y con frecuencia de mínimas cantidades de antibióticos.
- Evaluar el comportamiento de los cultivos iniciadores en presencia de fármacos que contaminan y alteran los derivados lácteos con procesos de fermentación, además es importante enfatizar la resistencia que generan frente a ellos en tiempos determinados, como el periodo de maduración en quesos y otros.
- Implementar normas referidas a la seguridad e inocuidad alimentaria sobre presencia o ausencia de fármacos en agua potable destinada a la elaboración de productos alimenticios en general y en quesos madurados en particular por su alto y constante consumo en las plantas procesadoras.
- Realizar un estudio adecuado del subproducto suero de leche con presencia de antibióticos, siendo una fuente de contaminación considerable para el medio ambiente y los seres vivos que están en contacto, además es destinado también a la elaboración alimento balanceado para animales y productos derivados para consumo humano, cabe mencionar el perjuicio que representa en aplicaciones agrícolas.
- Establecer los probables medios de contaminación cruzada para otros alimentos como huevos, leche o tejidos comestibles de origen animal y sus productos derivados durante su fabricación.

## BIBLIOGRAFÍA

- Adaska J. M., A. J. Silva, A. C.B. Berge and W. M. Sischo. 2006. “Genetic and Phenotypic Variability among Salmonella Enterica Serovar Typhimurium Isolates from California Dairy Cattle and Humans.” *Applied and Environmental Microbiology* 72 (10): 6632–37. <https://doi.org/10.1128/AEM.01038-06>.
- AESAN. 2022. “Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición.”
- Aldred Katie J., Sylvia A. McPherson, Charles L. Turnbough, Robert J. Kerns and Neil Osheroff. 2013. “Topoisomerase IV-Quinolone Interactions Are Mediated through a Water-Metal Ion Bridge: Mechanistic Basis of Quinolone Resistance.” *Nucleic Acids Research* 41 (8): 4628–39. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt124>.
- Alnakip Mohamed E., Marcos Quintela-Baluja, Karola Böhme, Sonia Caamaño-Antelo, Mohamed A. Bayoumi, Rania M. Kamal, Abdallah M. Merwad, Pilar Calo-Mata and Jorge Barros-Velázquez. 2019. “Molecular Characterisation and Typing the Methicillin Resistance of Staphylococcus Spp. Isolated from Raw Milk and Cheeses in Northwest Spain: A Mini Survey.” *International Dairy Journal* 89:68–76. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.09.006>.
- Anema Skelte G. 2017. “Storage Stability and Age Gelation of Reconstituted Ultra-High Temperature Skim Milk.” *International Dairy Journal* 75 (December):56–67. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2017.06.006>.
- AOAC. 2000. “Asociación of Oficial Analytical Chemists. Official Methods of Analysis 17th Ed. Gaithersburg, Maryland, USA.”
- Ashfaq Muhammad, Khujasta Nawaz Khan, Muhammad Saif Ur Rehman, Ghulam Mustafa, Muhammad Faizan Nazar, Qian Sun, Javed Iqbal, Sikandar I. Mulla and Chang Ping Yu. 2017. “Ecological Risk Assessment of Pharmaceuticals in the Receiving Environment of Pharmaceutical Wastewater in Pakistan.” *Ecotoxicology and Environmental Safety* 136 (February):31–39. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2016.10.029>.
- Ávila Marta, Natalia Gómez-Torres, David Delgado, Pilar Gaya and Sonia Garde. 2017. “Effect of High-Pressure Treatments on Proteolysis, Volatile Compounds, Texture, Colour, and Sensory Characteristics of Semi-Hard Raw Ewe Milk Cheese.” *Food*

- Research International* 100 (October):595–602.  
<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2017.07.043>.
- Bacanlı Merve and Nurşen Başaran. 2019. “Importance of Antibiotic Residues in Animal Food.” *Food and Chemical Toxicology* 125 (March):462–66.  
<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2019.01.033>.
- Badui Dergal, Salvador. 2006. *Química de Los Alimentos*. 4ta ed. Mexico.
- Bailey L. Charles, Christopher B. Forrest, Peixin Zhang, Thomas M. Richards, Alice Livshits and Patricia A. DeRusso. 2014. “Association of Antibiotics in Infancy with Early Childhood Obesity.” *JAMA Pediatrics* 168 (11): 1063–69.  
<https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2014.1539>.
- Benito M. 2006. “Desarrollo y Validación de métodos analíticos basados en nuevos elementos de reconocimiento molecular para determinación de antibióticos B-lactámicos en muestras de interés agroalimentario y medioambiental.” España: Universidad Complutense de Madrid.
- Berruga M. I., Molina, A., Althaus, R. L. and Molina, M. P. (2016). Control and prevention of antibiotic residues and contaminants in sheep and goat’s milk. *Small Ruminant Research*, 142, 38–43.  
<https://doi.org/10.1016/J.SMALLRUMRES.2016.02.023>.
- Blondeau Joseph M. 2004. “Fluoroquinolones: Mechanism of Action, Classification, and Development of Resistance.” *Survey of Ophthalmology* 49 (2): S73–78.  
<https://doi.org/10.1016/J.SURVOPHTHAL.2004.01.005>.
- Boeckel Thomas P. Van, Sumanth Gandra, Ashvin Ashok, Quentin Caudron, Bryan T. Grenfell, Simon A. Levin and Ramanan Laxminarayan. 2014. “Global Antibiotic Consumption 2000 to 2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data.” *The Lancet Infectious Diseases* 14 (8): 742–50. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).
- Botsoglou Nikolaos A. and Dimitrios J. Fletouris. 2001. *Drug Residues in Foods: Pharmacology, Food Safety, and Analysis*. Marcel Dekker.

- Bouki Chryssa, Danae Venieri and Evan Diamadopoulos. 2013. "Detection and Fate of Antibiotic-Resistant Bacteria in Wastewater Treatment Plants: A Review." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 91 (May):1–9. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2013.01.016>.
- Buffa Martín N., Antonio J. Trujillo, Marta Pavia and Buenaventura Guamis. 2001. "Changes in Textural, Microstructural, and Colour Characteristics during Ripening of Cheeses Made from Raw, Pasteurized or High-Pressure-Treated Goats' Milk." *International Dairy Journal* 11 (11–12): 927–34. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(01\)00141-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(01)00141-8).
- Cabizza Roberto, Nicolino Rubattu, Severyn Salis, Massimo Pes, Roberta Comunian, Antonio Paba, Margherita Addis, M. Cecilia Testa and P. Paolo Urgeghe. 2017. "Transfer of Oxytetracycline from Ovine Spiked Milk to Whey and Cheese." *International Dairy Journal* 70 (July):12–17. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2016.12.002>.
- Carrillo L. and Audisio C. 2007. *Manual de microbiología de los alimentos*.
- Carvalho Fátima, Ana R. Prazeres and Javier Rivas. 2013. "Cheese Whey Wastewater: Characterization and Treatment." *Science of The Total Environment* 445–446 (February):385–96. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2012.12.038>.
- Castañeda Roberto, Sergio Berbonet, Aldo Ibarra, José Luis Ipar, Angelica Vásquez, Carmen Brito, Norberto Purtschert and Ruby Alfonso. (2012). *Quesos de América del Sur* (Editorial Albatros).
- Chen Ting, Lei Zhong, Zhen Yang, Zhigang Mou, Lei Liu, Yan Wang, Jianhua Sun and Weiwei Lei. 2020. "Enhanced Visible-Light Photocatalytic Activity of g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/Nitrogen-Doped Graphene Quantum Dots/TiO<sub>2</sub> Ternary Heterojunctions for Ciprofloxacin Degradation with Narrow Band Gap and High Charge Carrier Mobility." *Chemical Research in Chinese Universities* 36 (6): 1083–90. <https://doi.org/10.1007/s40242-020-0301-1>.
- Chen Yihan, Kangping Cui, Qianli Huang, Zhi Guo, Yuansheng Huang, Kaifeng Yu and Yiliang He. 2020. "Comprehensive Insights into the Occurrence, Distribution, Risk Assessment and Indicator Screening of Antibiotics in a Large Drinking Reservoir

- System.” *Science of the Total Environment* 716 (May).  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137060>.
- Chiesa Luca Maria, Lucia Decastelli, Maria Nobile, Francesca Martucci, Mauro Fontana, Marta Castrica, Francesco Arioli and Sara Panseri. 2020. “Analysis of Antibiotic Residues in Raw Bovine Milk and Their Impact toward Food Safety and on Milk Starter Cultures in Cheese-Making Process.” *LWT - Food Science and Technology*, 109783. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109783>.
- Ciura Krzesimir, Joanna Fedorowicz, Filip Andrić, Katarzyna Ewa Greber, Alina Gurgielewicz, Wiesław Sawicki and Jarosław Saczewski. 2019. “Lipophilicity Determination of Quaternary (Fluoro)Quinolones by Chromatographic and Theoretical Approaches.” *International Journal of Molecular Sciences* 20 (21). <https://doi.org/10.3390/ijms20215288>.
- Codex Alimentarius. 2011. *Leche y Productos Lácteos. CODEX STAN 283-1978. Segunda Edición*. D - FAO.
- Codex-LMR-RGR. 2021. “Límites máximos de residuos (LMR) y recomendaciones sobre la gestión de riesgos (RGR) para residuos de medicamentos veterinarios.”
- Czyrski Andrzej. 2022. “The Spectrophotometric Determination of Lipophilicity and Dissociation Constants of Ciprofloxacin and Levofloxacin.” *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 265 (January). <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120343>.
- Doorslaer Xander Van, Jo Dewulf, Herman Van Langenhove and Kristof Demeestere. 2014. “Fluoroquinolone Antibiotics: An Emerging Class of Environmental Micropollutants.” *Science of The Total Environment* 500–501 (December):250–69. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2014.08.075>.
- ECDC. 2016. “European Centre for Disease Prevention and Control. The Emergence and Spread of Highly-Resistant Bacteria.”
- El-Sharoud Walid. 2018. “Isolation, Technological Characterization and Safety Assessment of Potential Adjunct Cultures of Lactic Acid Bacteria.” <https://www.researchgate.net/publication/338987951>.

- ESFA. 2022. “The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in Zoonotic and Indicator Bacteria from Humans, Animals and Food in 2019–2020.” *EFSA Journal* 20 (3). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7209>.
- Evangelopoulou Evaggelia N. and Victoria F. Samanidou. 2013. “Development and Validation of an HPLC Method for the Determination of Six Penicillin and Three Amphenicol Antibiotics in Gilthead Seabream (*Sparus Aurata*) Tissue According to the European Union Decision 2002/657/EC.” *Food Chemistry* 136 (3–4): 1322–29. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.09.044>.
- Everard C. D., O’Callaghan D. J., Fagan C. C., O’Donnell C. P., Castillo M. and F. A. Payne. 2007. “Computer Vision and Color Measurement Techniques for Inline Monitoring of Cheese Curd Syneresis.” *Journal of Dairy Science* 90 (7): 3162–70. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-872>.
- Fallati Claudia S., Ahumada Amelia A. y Manzo Ruben H. 1994. “El Perfil de Solubilidad de La Ciprofloxacina Función Del PH.” *Acta Farmaceutica Bonaerense* 13.
- FAO, OMS, UNICEF, FIDA and WFP. 2023. *La Seguridad Alimentaria y La Nutricion En El Mundo*.
- Feng Li, Yanru Cheng, Yiyi Zhang, Ziwei Li, Yichang Yu, Lei Feng, Sheng Zhang and Linji Xu. 2020. “Distribution and Human Health Risk Assessment of Antibiotic Residues in Large-Scale Drinking Water Sources in Chongqing Area of the Yangtze River.” *Environmental Research* 185 (June):109386. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2020.109386>.
- Feng Nai Xian, Jiao Yu, Lei Xiang, Le Yi Yu, Hai Ming Zhao, Ce Hui Mo, Yan Wen Li, Quan Ying Cai, Ming Hung Wong and Qing X. Li. 2019. “Co-Metabolic Degradation of the Antibiotic Ciprofloxacin by the Enriched Bacterial Consortium XG and Its Bacterial Community Composition.” *Science of the Total Environment* 665 (May):41–51. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.322>.
- Garcia Sara N., Osburn Bennie I.g and James S. Cullor. 2019. “A One Health Perspective on Dairy Production and Dairy Food Safety.” *One Health* 7 (June):100086. <https://doi.org/10.1016/J.ONEHLT.2019.100086>.

- Gbylik-Sikorska M., A. Gajda, E. Nowacka-Kozak and A. Posyniak. 2021a. “The ‘Force’ of Cloxacillin Residue Will Be with You in Various Dairy Products – The Last Experimental Evidence.” *Food Control* 121 (March). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107628>.
- Giraldo J., R. L. Althaus, M. C. Beltrán and M. P. Molina. 2017. “Antimicrobial Activity in Cheese Whey as an Indicator of Antibiotic Drug Transfer from Goat Milk.” *International Dairy Journal* 69 (June):40–44. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.02.003>.
- González J., Maguiña C. and González F. 2019. “Resistance to Antibacterial Agents: A Serious Problem.” *Acta Medica peruana*, 2019.
- Herrera-Herrera Antonio V., Javier Hernández-Borges, Teresa M. Borges-Miquel and Miguel ángel Rodríguez-Delgado. 2013. “Dispersive Liquid–Liquid Microextraction Combined with Ultra-High Performance Liquid Chromatography for the Simultaneous Determination of 25 Sulfonamide and Quinolone Antibiotics in Water Samples.” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 75 (March):130–37. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2012.11.026>.
- Hughes Stephen R., Paul Kay and Lee E. Brown. 2013. “Global Synthesis and Critical Evaluation of Pharmaceutical Data Sets Collected from River Systems.” *Environmental Science and Technology*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/es3030148>.
- Igualada Carmen, Jennifer Giraldo, Guillermina Font and Vicent Yusà. 2022. “Validation of a Multi-Residue UHPLC-HRMS Method for Antibiotics Screening in Milk, Fresh Cheese, and Whey.” *Journal of Food Composition and Analysis* 106 (March):104265. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2021.104265>.
- Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición. 2017. “TABLAS PERUANAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS.”
- ISO 5534 /IDF 4. 2004. “Cheese and Processed Cheese–Determination of the Total Solids Content (Reference Method) Second Edition.” [www.iso.org](http://www.iso.org).
- Jakobsson Hedvig E., Cecilia Jernberg, Anders F. Andersson, Maria Sjölund-Karlsson, Janet K. Jansson and Lars Engstrand. 2010. “Short-Term Antibiotic Treatment Has

- Differing Long- Term Impacts on the Human Throat and Gut Microbiome.” *PLoS ONE* 5 (3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009836>.
- Javed Ansari Mohammad, Dmitry Olegovich Bokov, Saade Abdalkareem Jasim, Mohammad Rudiansyah, Wanich Suksatan, Ghulam Yasin, Supat Chupradit, Ayad F. Alkaim, Yasser Fakri Mustafa and Dhuha Imad Tarek. 2022. “Emerging Optical and Electrochemical Biosensing Approaches for Detection of Ciprofloxacin Residues in Food and Environment Samples: A Comprehensive Overview.” *Journal of Molecular Liquids*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.118895>.
- Jouravlev Andrei. and United Nations. Economic Commission for Latin America and the Caribbean. 2004. *Los Servicios de Agua Potable y Saneamiento En El Umbral Del Siglo XXI*. Naciones Unidas, CEPAL.
- Katla Anne Kirsten, Hilde Kruse, Gro Johnsen and Hallgeir Herikstad. 2001. “Antimicrobial Susceptibility of Starter Culture Bacteria Used in Norwegian Dairy Products.” *International Journal of Food Microbiology* 67 (1–2): 147–52. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00522-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00522-5).
- Kebede Girma, Tilahun Zenebe, Haimanot Disassa and Tadele Tolosa. 2014a. “Review on Detection of Antimicrobial Residues in Raw Bulk Milk in Dairy Farms.” *African Journal of Basic & Applied Sciences* 6 (4): 87–97. <https://doi.org/10.5829/idosi.ajbas.2014.6.4.8642>.
- Khachatryan Artashes R., Thomas E. Besser, Dale D. Hancock and Douglas R. Call. 2006. “Use of a Nonmedicated Dietary Supplement Correlates with Increased Prevalence of Streptomycin-Sulfa-Tetracycline-Resistant Escherichia Coli on a Dairy Farm.” *Applied and Environmental Microbiology* 72 (7): 4583–88. <https://doi.org/10.1128/AEM.02584-05>.
- Kumari Minashree and Kumar Arun. 2020. “Human Health Risk Assessment of Antibiotics in Binary Mixtures for Finished Drinking Water.” *Chemosphere* 240:124864. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124864>.
- Lança Fernando M. 2013. “A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: ¿Finalmente ‘Compatíveis’? II. A Escolha Do Analisador de Massas.” *Scientia Chromatographica* 5 (1): 27–46. <https://doi.org/10.4322/sc.2013.005>.

- León Katherine, Domingo Mery, Franco Pedreschi and Jorge León. 2006. “Color Measurement in L\*a\*b\* Units from RGB Digital Images.” *Food Research International* 39 (10): 1084–91. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2006.03.006>.
- Leyva Socorro and Leyva Elisa. 2008. “Fluoroquinolonas. Mecanismos de Acción y Resistencia, Estructura, Síntesis y Reacciones Fisicoquímicas Importantes Para Propiedades Medicinales.” *Bol. Soc. Quím. Méx* 2 (1): 1–13.
- Li Na, Keith W.K. Ho, Guang Guo Ying and Wen Jing Deng. 2017. “Veterinary Antibiotics in Food, Drinking Water, and the Urine of Preschool Children in Hong Kong.” *Environment International* 108:246–52. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.08.014>.
- Li Feng, Yunfei Wu, Yiliang He, Bo Zhang, Yuansheng Huang, Qiyi Yuan and Yihan Chen. 2020. “Occurrence and Fate of Antibiotic Residues and Antibiotic Resistance Genes in a Reservoir with Ecological Purification Facilities for Drinking Water Sources.” *Science of the Total Environment* 707:135276. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135276>.
- Li Yan Wen, Xiao Lian Wu, Ce Hui Mo, Yi Ping Tai, Xian Pei Huang and Lei Xiang. 2011. “Investigation of Sulfonamide, Tetracycline, and Quinolone Antibiotics in Vegetable Farmland Soil in the Pearl River Delta Area, Southern China.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59 (13): 7268–76. <https://doi.org/10.1021/jf1047578>.
- Lorenzo P., Moreno A., Lizasoain J.C., Leza M.A. and Portáles A. 2008. *Farmacología Básica y Clínica*. Medical Panamericana. Buenos Aires.
- Lukinac Jasmina, Marko Jukić, Kristina Mastanjević and Mirela Lučan. 2018. “Application of Computer Vision and Image Analysis Method in Cheese-Quality Evaluation: A Review.” — *Food Technology* — *Ukrainian Food Journal*. 2018 7. <https://doi.org/10.24263/2304>.
- Marshall Bonnie M. and Levy Stuart B., 2011. “Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health.” *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11>.

- Martinez Marilyn, Patrick McDermott and Robert Walker. 2006. "Pharmacology of the Fluoroquinolones: A Perspective for the Use in Domestic Animals." *The Veterinary Journal* 172 (1): 10–28. <https://doi.org/10.1016/J.TVJL.2005.07.010>.
- Máttar Salim, Calderon Alfonso, Sotelo Diana, Sierra Monica and Tordecilla Gladys. 2009. "Detection of Antibiotics in Milk: A Public Health Problem." *Magazine Public Health*, 2009.
- Milovanovic Bojana, Vladimir Tomovic, Ilija Djekic, Jelena Miocinovic, Bartosz G. Solowiej, Jose M. Lorenzo, Francisco J. Barba and Igor Tomasevic. 2021. "Colour Assessment of Milk and Milk Products Using Computer Vision System and Colorimeter." *International Dairy Journal* 120 (September). <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105084>.
- Minz Prashant Saurabh and Charanjiv Singh Saini. 2021. "Comparison of Computer Vision System and Colour Spectrophotometer for Colour Measurement of Mozzarella Cheese." *Applied Food Research* 1 (2). <https://doi.org/10.1016/j.afres.2021.100020>.
- Mompelat S., B. Le Bot and O. Thomas. 2009. "Occurrence and Fate of Pharmaceutical Products and By-Products, from Resource to Drinking Water." *Environment International* 35 (5): 803–14. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.10.008>.
- Nedomová Šárka, Libor Kilián, Roman Pytel and Vojtěch Kumbár. 2017. "Effect of Ripening Time on Colour and Texture Properties in Cheese." *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences* 11 (1): 296–301. <https://doi.org/10.5219/744>.
- Novés B., C. Librán, C. C. Licón, M. P. Molina, A. Molina and M. I. Berruga. 2015. "Technological Failures Caused by Cephalaxin in Set-Type Sheeps Milk Yogurt." *CYTA - Journal of Food* 13 (3): 408–14. <https://doi.org/10.1080/19476337.2014.990519>.
- NTP 202.193. 2010. "LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS. Queso. Identificación, Clasificación y Requisitos."
- Nyokabi Simon N., Imke J. M. De Boer, Pieter A. Luning, Luke Korir, Johanna Lindahl, Bernard Bett and Simon J Oosting. 2021. "Milk Quality along Dairy Farming Systems and Associated Value Chains in Kenya: An Analysis of

- Composition, Contamination and Adulteration.” *Food Control* 119 (July 2020): 107482. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107482>.
- O’hagan David. 2008. “Understanding Organofluorine Chemistry. An Introduction to the C–F Bond.” *Chemical Society Reviews* 37 (2): 308–19. <https://doi.org/10.1039/b711844>.
- OMS. 2020. “Resistencia a Antibióticos.” 2020.
- Orwa Joy Deborah, Joseph Wafula Matofari, Patrick Simiyu Muliro and Peter Lamuka. 2017. “Assessment of Sulphonamides and Tetracyclines Antibiotic Residue Contaminants in Rural and Peri Urban Dairy Value Chains in Kenya.” *International Journal of Food Contamination* 4 (1). <https://doi.org/10.1186/s40550-017-0050-1>.
- Pallecchi Lucia, Alessandro Bartoloni, Eleonora Riccobono, Connie Fernandez, Antonia Mantella, Donata Magnelli, Dario Mannini, et al. 2012. “Quinolone Resistance in Absence of Selective Pressure: The Experience of a Very Remote Community in the Amazon Forest.” *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6 (8). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001790>.
- Qiao Min, Guang Guo Ying, Andrew C. Singer and Yong Guan Zhu. 2018. “Review of Antibiotic Resistance in China and Its Environment.” *Environment International* 110 (October 2017): 160–72. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.10.016>.
- Quintanilla P., M. C. Beltrán, A. Molina, I. Escriche and M. P. Molina. 2019. “Characteristics of Ripened Tronchón Cheese from Raw Goat Milk Containing Legally Admissible Amounts of Antibiotics.” *Journal of Dairy Science* 102 (4): 2941–53. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15532>.
- Quintanilla P., M. C. Beltrán, M. P. Molina and I. Escriche. 2021. “Enrofloxacin Treatment on Dairy Goats: Presence of Antibiotic in Milk and Impact of Residue on Technological Process and Characteristics of Mature Cheese.” *Food Control* 123 (August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107762>.
- Quintanilla P., M. C. Beltrán, Bernardo Peris, Martín Rodríguez and M. P. Molina. 2018. “Antibiotic Residues in Milk and Cheeses after the Off-Label Use of Macrolides in Dairy Goats.” *Small Ruminant Research* 167 (August): 55–60. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2018.08.008>.

- Rama Adem, Lorena Lucatello, Cristiana Benetti, Guglielmo Galina, and Drita Bajraktari. 2017. "Assessment of Antibacterial Drug Residues in Milk for Consumption in Kosovo." *Journal of Food and Drug Analysis* 25 (3): 525–32. <https://doi.org/10.1016/J.JFDA.2016.07.007>.
- Redgrave Liam S., Sam B. Sutton, Mark A. Webber and Laura J.V. Piddock. 2014. "Fluoroquinolone Resistance: Mechanisms, Impact on Bacteria, and Role in Evolutionary Success." *Trends in Microbiology*. Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.04.007>.
- Reeves Philip Thomas. 2012. "*Antibiotics: Groups and Properties.*"
- Riediker Sonja, Andreas Rytz and Richard H. Stadler. 2004. "Cold-Temperature Stability of Five  $\beta$ -Lactam Antibiotics in Bovine Milk and Milk Extracts Prepared for Liquid Chromatography–Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry Analysis." *Journal of Chromatography A* 1054 (1–2): 359–63. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2004.07.085>.
- Roca M., L. Villegas, M. L. Kortabitarte, R. L. Althaus and M. P. Molina. 2011. "Effect of Heat Treatments on Stability of  $\beta$ -Lactams in Milk." *Journal of Dairy Science* 94 (3): 1155–64. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3599>.
- Rodrigues Felipe Nogueira Silva, Amanda Dambrós Pereira, Débora Parra Baptista, Mararlene Ulberg Pereira, Bernardete Ferraz Spisso, Mirna Lúcia Gigante, et al. 2020. "Monensin Residues in the Production of Minas Frescal Cheese: Stability, Effects on Fermentation, Fate and Physicochemical Characteristics of the Cheese." *Food Research International*, 109440. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109440>.
- Rodrigues Marjory Xavier, Nathália Cristina, Cirone Silva, Júlia Hellmeister Trevilin, Melina Mary, Bravo Cruzado, Tsai Siu Mui, et al. 2017. "Molecular Characterization and Antibiotic Resistance of Staphylococcus Spp . Isolated from Cheese Processing Plants." *Journal of Dairy Science* 100 (7): 5167–75. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12477>.

- Rohm Harald and Doris Jaros. 1996. "Colour of Hard Cheese 1. Description of Colour Properties and Effects of Maturation." *Z Lebensm Unters Forsch.* Vol. 203. Springer-Verlag.
- Rudnicki Konrad, Lukasz Poltorak, Sławomira Skrzypek and Ernst J.R. Sudhölter. 2019. "Ion Transfer Voltammetry for Analytical Screening of Fluoroquinolone Antibiotics at the Water – 1,2-Dichloroethane Interface." *Analytica Chimica Acta* 1085 (November):75–84. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2019.07.065>.
- Rusu Aura, Gabriel Hancu and Valentina Uivarosi. 2015. "Fluoroquinolone Pollution of Food, Water and Soil, and Bacterial Resistance." *Environmental Chemistry Letters.* Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0481-3>.
- Sanganyado Edmond and Willis Gwenzi. 2019. "Antibiotic Resistance in Drinking Water Systems: Occurrence, Removal, and Human Health Risks." *Science of The Total Environment* 669 (June):785–97. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.03.162>.
- Santamarina-García Gorka, Gustavo Amores, Nagore Gandarias, Igor Hernández and Mailo Virto. 2024. "Cross-Sectional, Commercial Testing, and Chromatographic Study of the Occurrence of Antibiotic Residues throughout an Artisanal Raw Milk Cheese Production Chain." *Food Chemistry* 442 (June):138445. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2024.138445>.
- Schlimme Eckhard and Buchheim Wolfgang. 2002. *La Leche y Sus Componentes*. España.
- Scott R., Wilbey R.A. and Robinson R.K. 2010. *Fabricacion de Quesos*. Segunda. Editorial Acribia España.
- Seifrtová Marcela, Lucie Nováková, Celeste Lino, Angelina Pena and Petr Solich. 2009. "An Overview of Analytical Methodologies for the Determination of Antibiotics in Environmental Waters." *Analytica Chimica Acta* 649 (2): 158–79. <https://doi.org/10.1016/J.ACA.2009.07.031>.
- Silva Felipe, Rodrigues Nogueira, Dambrós Pereira Amanda, Parra Baptista Débora, Ulberg Pereira Mararlene, Ferraz Spisso Bernardete, Gigante Mirna Lúcia, Braga Patrícia Aparecida de Campos, Reyes Reyes Félix Guillermo and Pavesi Arisseto-Bragotto Adriana. 2020. "Monensin Residues in the Production of Minas Frescal

- Cheese: Stability, Effects on Fermentation, Fate and Physicochemical Characteristics of the Cheese.” *Food Research International* 137 (November). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109440>.
- Strahilevitz Jacob, George A. Jacoby, David C. Hooper and Ari Robicsek. 2009. “Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: A Multifaceted Threat.” *Clinical Microbiology Reviews*. <https://doi.org/10.1128/CMR.00016-09>.
- Tadesse Tekalign and Tadesse Temesgen. 2017. “Public Health Impacts of Antibiotic Residues in Foods of Animal Origin: A Review.” Vol. 7. [www.iiste.org](http://www.iiste.org).
- Tasci Fulya, Canbay Hale Secilmis and Mahmut Doganturk. 2021. “Determination of Antibiotics and Their Metabolites in Milk by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method.” *Food Control* 127 (September). <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108147>.
- Tempini P. N., Aly S. S., Karle B. M. and R. V. Pereira. 2018. “Multidrug Residues and Antimicrobial Resistance Patterns in Waste Milk from Dairy Farms in Central California.” *Journal of Dairy Science* 101 (9): 8110–22. <https://doi.org/10.3168/JDS.2018-14398>.
- Thai Tony, Blake H. Salisbury and Patrick M. Zito. 2023. *Ciprofloxacin*.
- Tóth Adrienn Gréta, István Csabai, Eszter Krikó, Dóra Tözsér, Gergely Maróti, Árpád V. Patai, László Makrai, Géza Szita and Norbert Solymosi. 2020. “Antimicrobial Resistance Genes in Raw Milk for Human Consumption.” *Scientific Reports* 10 (1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63675-4>.
- Trujillo M. C. 2020. “Estudio Del Proceso de Elaboración Del Queso Fresco y Madurado La Región Puno. UPEU.”
- Vandera Elpiniki, Athanasia Kakouri, Anna Irimi Koukkou and John Samelis. 2019. “Major Ecological Shifts within the Dominant Nonstarter Lactic Acid Bacteria in Mature Greek Graviera Cheese as Affected by the Starter Culture Type.” *International Journal of Food Microbiology* 290 (September 2018): 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2018.09.014>.

- Van Boeckel T. P., Gandra S., Ashok A., Caudron Q., Grenfell B. T., Levin S. A. and Laxminarayan R. (2014). Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *The Lancet Infectious Diseases*, 14(8), 742–750. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70780-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7).
- Van Doorslaer X., Dewulf J., Van Langenhove H. and Demeestere, K. (2014). Fluoroquinolone antibiotics: An emerging class of environmental micropollutants. *Science of The Total Environment*, 500–501, 250–269. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2014.08.075>.
- Vickers A. A., O’Neill A. J. and I. Chopra. 2007. “Emergence and Maintenance of Resistance to Fluoroquinolones and Coumarins in Staphylococcus Aureus: Predictions from in Vitro Studies.” *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60 (2): 269–73. <https://doi.org/10.1093/jac/dkm191>.
- Vilca Franz, Nestor Cahui Galarza, Juan R. Tejedo, Walter Alejandro Zamalloa Cuba, Clara Nely Campos Quiróz, and Valdemar Luiz Tornisielo. 2021a. “Occurrence of Residues of Veterinary Antibiotics in Water, Sediment and Trout Tissue (*Oncorhynchus Mykiss*) in the Southern Area of Lake Titicaca, Peru.” *Journal of Great Lakes Research* 47 (4): 1219–27. <https://doi.org/10.1016/j.jglr.2021.04.012>.
- Villaseñor-Basulto Débora Leticia, Jorge del Real-Olvera and Juan Pablo Rojas Ramírez. 2016. “Remoción de Ciprofloxacina Presente En Aguas Sintéticas Empleando Moringa Oleífera Como Coagulante Natural.” *4to. Encuentro de La Red de Investigadores Sociales Sobre El Agua*, 1–29.
- Villegas de Gante, Abraham. 2012. *Tecnología Quesera*. Segunda. Editorial Trillas. México.
- Vosough Maryam, and Hadi Mashhadiabbas Esfahani. 2013. “Fast HPLC-DAD Quantification Procedure for Selected Sulfonamids, Metronidazole and Chloramphenicol in Wastewaters Using Second-Order Calibration Based on MCR-ALS.” *Talanta* 113 (September):68–75. <https://doi.org/10.1016/J.TALANTA.2013.03.049>.



- Wadhvani R. and D. J. McMahon. 2012. "Color of Low-Fat Cheese Influences Flavor Perception and Consumer Liking." *Journal of Dairy Science* 95 (5): 2336–46. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5142>.
- Wu Y. L., Li C., Liu Y. J. and Shen J. Z. (2007). Validation method for the determination of sulfonamide residues in bovine milk by HPLC. *Chromatographia*, 66(3–4), 191–195. <https://doi.org/10.1365/s10337-007-0279-6>.
- Xu Longyao, He Zhang, Ping Xiong, Qingqing Zhu, Chunyang Liao and Guibin Jiang. 2021. "Occurrence Fate and Risk Assessment of Typical Tetracycline Antibiotics in the Aquatic Environment: A Review." *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141975>.
- Zhang Hanmin, Pengxiao Liu, Yujie Feng and Fenglin Yang. 2013. "Fate of Antibiotics during Wastewater Treatment and Antibiotic Distribution in the Effluent-Receiving Waters of the Yellow Sea, Northern China." *Marine Pollution Bulletin* 73 (1): 282–90. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2013.05.007>.
- Zhao Jianwei, Jing Zhang, Dalei Zhang, Zhanbo Hu and Yingjie Sun. 2021. "Effect of Emerging Pollutant Fluoxetine on the Excess Sludge Anaerobic Digestion." *Science of the Total Environment* 752 (January). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141932>.
- Zhao Ling, Yuan Hua Dong and Hui Wang. 2010. "Residues of Veterinary Antibiotics in Manures from Feedlot Livestock in Eight Provinces of China." *Science of The Total Environment* 408 (5): 1069–75. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2009.11.014>.

## ANEXOS

### Anexo 1. Matriz de consistencia

PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS
<p><b>Problema General</b></p> <p>¿Cuál será el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino presentes en agua potable usada en el proceso de fabricación de queso andino sobre las características fisicoquímicas de este producto?</p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p>¿Cuál será el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>), sobre el pH y la acidez de queso andino?</p> <p>¿En qué medida afecta la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) en la intervención de la etapa de lavado (escaldado) de la cuajada sobre el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color de queso andino?</p> <p>¿La intervención de agua potable en cuatro concentraciones de residuos de ciprofloxacino (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) en la etapa de escaldado de la cuajada determinará la presencia de este contaminante en queso andino?</p>	<p><b>Hipótesis General</b></p> <p>La presencia de residuos de ciprofloxacino presentes en agua utilizada en el proceso de fabricación de queso afecta negativamente las características fisicoquímicas de este producto.</p> <p><b>Hipótesis Específicos</b></p> <p>El contenido de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) determinará el comportamiento del pH y acidez del queso andino.</p> <p>La presencia de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>), afectará al contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color del queso andino.</p> <p>El contenido de residuos de ciprofloxacino en agua en cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) utilizada en la etapa de escaldado de cuajada mostrará prevalencia de residuos de ciprofloxacino en el producto final (queso andino).</p>	<p><b>Objetivo General</b></p> <p>Evaluar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino de agua potable utilizada en el proceso de fabricación de queso andino.</p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p>Evaluar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable para cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) sobre el pH y acidez de queso andino.</p> <p>Analizar el efecto de la presencia de residuos de ciprofloxacino en agua potable para cuatro concentraciones (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) en el contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína y color de queso andino.</p> <p>Determinar la presencia de residuos de ciprofloxacino en queso andino elaborado a cuatro concentraciones de contaminante (40, 400, 1000, 2000 <math>\eta\text{gL}^{-1}</math>) en la etapa de escaldado de la cuajada.</p>

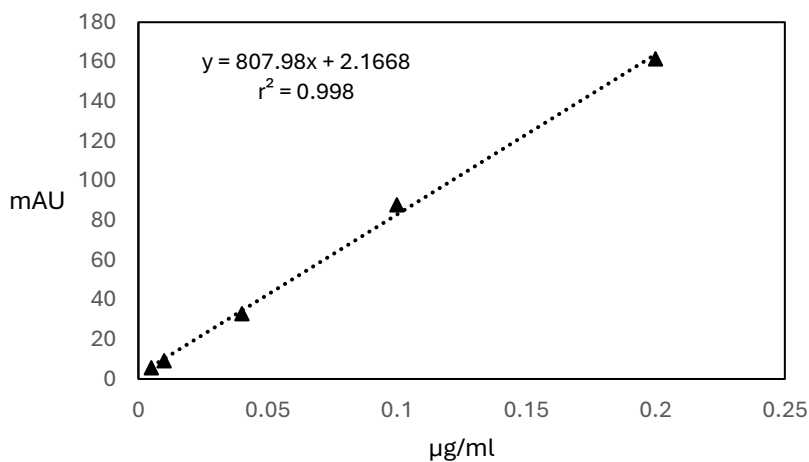
VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	INSTRUMENTO
Variable en estudio:	40 $\mu\text{L}$		
Concentración de residuos de CFX en agua	400 $\mu\text{L}$ 1000 $\mu\text{L}$ 2000 $\mu\text{L}$		
Variables de respuesta:			AOAC 981.12-2000
Características fisicoquímicas en el proceso de maduración	- pH - Acidez - Humedad - Ceniza - Grasa - Proteínas - Color	- pH - % Acidez de QA - % Humedad de QA - % Ceniza de QA - % Grasa de QA - % Proteínas de QA - L*a*b*	AOAC 2000 ISO 5534 /IDF 4-2004 CIELAB
Contenido de CFX a 25 días de maduración	CFX $\mu\text{L}$	CFX $\eta\text{gL}^{-1}$	Cromatografía líquida de ultra eficiencia UHPLC-DAD

## Anexo 2. Control de calidad en la recepción de leche para elaboración de queso andino

N°	TEMPERATURA °C	DENSIDAD (g/cm <sup>3</sup> )	pH	ACIDEZ	
				gasto	%ácido láctico
1	4	1,028	6,65	1,7	0,15
2	4	1,031	6,65	1,7	0,15
3	4	1,030	6,63	1,8	0,16
4	4	1,029	6,67	1,6	0,14
5	5	1,031	6,63	1,7	0,15
6	4	1,029	6,60	1,7	0,15
7	4	1,031	6,64	1,8	0,16
8	4	1,030	6,64	1,8	0,16
9	4	1,029	6,62	1,5	0,14
10	5	1,029	6,63	1,5	0,14
11	4	1,029	6,67	1,6	0,14
12	4	1,029	6,60	1,7	0,15
13	4	1,030	6,66	1,7	0,15
14	5	1,029	6,67	1,7	0,15
15	4	1,031	6,65	1,6	0,14

De acuerdo a la NTP 202.01-2003. LECHE Y PRODUCTOS LACTEOS. Leche cruda y requisitos.

### Anexo 3. Curva de calibración para el estándar de referencia ciprofloxacino



Punto de calibración	Concentración	Área
	(µg /mL)	(mAU)
	x	Y
1	0,005	5,766
2	0,010	9,300
3	0,040	33,000
4	0,100	88,000
5	0,200	161,600

## Anexo 4. Análisis estadístico para la variable pH

### Pruebas de normalidad para pH a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,942	3	0,537
2	1,000	3	1,000
3	0,893	3	0,363
4	1,000	3	1,000
5	0,964	3	0,637

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para pH a 1 día

	Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
media	0,446		4	10	0,099

### ANOVA para pH a 1 día

pH_1	Suma de cuadrados	de	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,009		4	0,002	4,473	0,025
Dentro de grupos	0,005		10	0,000		
Total	0,014		14			

### Comparación Múltiple Tukey para pH a 1 día

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	5,4600	
2	3	5,4700	5,4700
3	3	5,4800	5,4800
4	3	5,5100	5,5100
5	3		5,5233

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Pruebas de normalidad para pH a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,964	3	0,637
2	0,964	3	0,637
3	1,000	3	1,000
4	1,000	3	1,000
5	0,923	3	0,463

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para pH a 25 días**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
media	0,889	4	10	0,505

**ANOVA para pH a 25 días**

pH_2	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,021	4	0,005	23,909	< 0,001
Dentro de grupos	0,002	10	0,000		
Total	0,023	14			

**Comparación Múltiple Tukey para pH a 25 días**

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	5,4033	
2	3	5,4233	
3	3	5,4300	
4	3		5,4800
5	3		5,5033

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

#### Normalidad Prueba T para pH

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
pH_1	0,923	5	0,548
pH_2	0,916	5	0,503

#### Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para pH

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,407	1	8	0,159

#### Prueba T de muestras emparejadas para pH

	Media	Desviación estándar	t	gl	Sig.
1día-25 días	0,041	0,015	5,996	4	0,004

### Anexo 5. Análisis estadístico para la variable %acidez

#### Pruebas de normalidad para % Acidez a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	G1	Sig.
1	1,000	3	1,000
2	1,000	3	1,000
3	1,000	3	1,000
4	1,000	3	1,000
5	1,000	3	1,000

#### Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Acidez a 1 día

	Estadístico Levene	de	g1	g2	Sig.
Se basa en la media	0,000	4	10		1,000

#### ANOVA para % Acidez a 1 día

Acidez_1	Suma de cuadrados	de	G1	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,009	4		0,002	4,473	0,025
Dentro de grupos	0,005	10		0,000		
Total	0,014	14				

#### Comparación Múltiple Tukey para % Acidez a 1 día

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	0,0800	
2	3	0,0900	0,0900
3	3	0,1000	0,1000
4	3	0,1000	0,1000
5	3		0,1100

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Pruebas de normalidad para % Acidez a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	1,000	3	1,000
2	1,000	3	1,000
3	0,923	3	0,463
4	1,000	3	1,000
5	0,964	3	0,637

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Acidez a 25 días**

	Estadístico de Levene			Sig.
		gl1	gl2	
media	1,085	4	10	0,415

**ANOVA para % Acidez a 25 días**

Acidez_2	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,003	4	0,001	3,914	0,036
Dentro de grupos	0,002	10	0,000		
Total	0,005	14			

**Comparación Múltiple Tukey para % Acidez a 25 días**

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	0,1100	
2	3	0,1133	0,1133
3	3	0,1200	0,1200
4	3	0,1267	0,1267
5	3		0,1500

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.



**Normalidad de datos Prueba T para % Acidez**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,91	5	0,814
2	0,880	5	0,311

**Prueba T de muestras emparejadas para % Acidez**

	Media	Desviación estándar	t	gl	Sig.
1día-25 días	0,028	0,016	3,891	4	0,018

## Anexo 6. Análisis estadístico para la variable %humedad

### Pruebas de normalidad para % Humedad a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,847	3	0,232
2	1,000	3	1,000
3	0,966	3	0,644
4	0,835	3	0,202
5	0,893	3	0,363

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Humedad a 1 día

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,675	4	10	0,231

### ANOVA para % Humedad a 1 día

% Humedad_1	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1,934	4	0,483	3,272	0,058
Dentro de grupos	1,477	10	0,148		
Total	3,411	14			

### Pruebas de normalidad para % Humedad a 25 días

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
1	0,820	3	0,164
2	0,959	3	0,610
3	0,842	3	0,220
4	0,951	3	0,572
5	0,959	3	0,609

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Humedad a 25 días**

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	3,248	4	10	0,060

**ANOVA para % Humedad a 25 días**

<b>% Humedad_2</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Media cuadrática</b>	<b>F</b>	<b>Sig.</b>
Entre grupos	1,752	4	0,438	1,843	0,197
Dentro de grupos	2,376	10	0,238		
Total	4,127	14			

**Normalidad Prueba T para % Humedad**

<b>Concentración</b>	<b>Shapiro-Wilk</b>		
	<b>Estadístico</b>	<b>Gl</b>	<b>Sig.</b>
1	0,978	5	0,921
2	0,897	5	0,396

**Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para % Humedad**

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	0,089	1	8	0,773

**Prueba T de muestras emparejadas para % Humedad**

	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
1día-25 días	9,140	0,207	98,559	4	< 0,001

## Anexo 7. Análisis estadístico para la variable %cenizas

### Pruebas de normalidad para % Cenizas a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,893	3	0,363
2	0,824	3	0,174
3	0,978	3	0,714
4	0,846	3	0,230
5	0,999	3	0,942

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Cenizas a 1 día

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,465	4	10	0,760

### ANOVA para % Cenizas a 1 día

% Cenizas_1	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,819	4	0,205	2,459	0,113
Dentro de grupos	0,832	10	0,083		
Total	1,651	14			

### Pruebas de normalidad para % Cenizas a 25 días

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,893	3	0,363
2	0,975	3	0,699
3	0,880	3	0,325
4	0,846	3	0,230
5	0,999	3	0,942

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Cenizas a 25 días**

	Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,463		4	10	0,113

**ANOVA para % Cenizas a 25 días**

% Cenizas_2	Suma cuadrados	de	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,652		4	0,163	2,491	0,110
Dentro de grupos	0,655		10	0,065		
Total	1,307		14			

**Pruebas de normalidad para % Cenizas a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
1	0,893	3	0,363
2	0,975	3	0,699
3	0,880	3	0,325
4	0,846	3	0,230
5	0,999	3	0,942

**Normalidad Prueba T para % Cenizas**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	Gl	Sig.
1	0,847	5	0,186
2	0,858	5	0,221



**Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para % Cenizas**

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	0,034	1	8	0,858

**Prueba T de muestras emparejadas para % Cenizas**

	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
1día-25 días	3,095	0,238	29,032	4	< 0,001

## Anexo 8. Análisis estadístico para la variable % proteína

### Pruebas de normalidad para % Proteína a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,890	3	0,353
2	0,855	3	0,253
3	0,921	3	0,456
4	0,988	3	0,792
5	0,999	3	0,933

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Proteína a 1 día

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,957	4	10	0,471

### ANOVA para % Proteína a 1 día

% Proteína_1	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	13,829	4	3,457	4,948	0,018
Dentro de grupos	6,987	10	0,699		
Total	20,815	14			

### Comparación Múltiple Tukey para %Proteína a 1 día

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	17,9167	
2	3	18,0400	
3	3	19,3800	19,3800
4	3	19,5067	19,5067
5	3		20,4600

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Pruebas de normalidad para %Proteína a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,915	3	0,435
2	0,947	3	0,557
3	0,988	3	0,791
4	0,997	3	0,904
5	0,946	3	0,550

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Proteína a 25 días**

	Estadístico de Levene			
	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,729	4	10	0,592

**ANOVA para % Proteína a 25 días**

% Proteína_2	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	64,271	4	16,068	27,268	< 0,001
Dentro de grupos	5,892	10	0,589		
Total	70,163	14			

**Comparación Múltiple Tukey para % Proteína a 25 días**

Concentración	N	0,05		
		a	b	c
1	3	22,3533		
2	3	23,0533		
3	3	23,2833	23,2833	
4	3		25,3100	
5	3			28,0533

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

#### Normalidad Prueba T para % Proteína

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,907	5	0,448
2	0,876	5	0,293

#### Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para % Proteína

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	3,129	1	8	0,115

#### Prueba T de muestras emparejadas para % Proteína

	Media	Desviación estándar	t	gl	Sig.
1día-25 días	5,350	1,654	7,233	4	0,002

## Anexo 9. Análisis estadístico para la variable % grasa

### Pruebas de normalidad para % Grasa a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	1,000	3	0,988
2	0,955	3	0,591
3	0,933	3	0,499
4	0,996	3	0,885
5	0,980	3	0,726

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Grasa a 1 día

	Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,386		4	10	0,814

### ANOVA para % Grasa a 1 día

%Grasa_1	Suma cuadrados	de	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	3,569		4	0,892	2,213	0,141
Dentro de grupos	4,032		10	0,403		
Total	7,601		14			

### Pruebas de normalidad para % Grasa a 25 días

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,996	3	0,879
2	0,954	3	0,587
3	0,999	3	0,952
4	0,927	3	0,478
5	0,984	3	0,759

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para % Grasa a 25 días**

	Estadístico Levene	de	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	1,137		4	10	0,393

**ANOVA para % Grasa a 25 días**

% Grasa_2	Suma cuadrados	de	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	24,356		4	6,089	10,267	0,001
Dentro de grupos	5,930		10	0,593		
Total	30,287		14			

**Comparación Múltiple Tukey para % Grasa a 25 días**

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	27,1033	
2	3	27,3033	
3	3	28,5567	28,5567
4	3		29,6967
5	3		30,3300

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Normalidad Prueba T para % Grasa**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,949	5	0,733
2	0,913	5	0,484

**Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para % Grasa**

	<b>Estadístico de Levene</b>	<b>gl1</b>	<b>gl2</b>	<b>Sig.</b>
Se basa en la media	5,048	1	8	0,055

**Prueba T de muestras emparejadas para % Grasa**

	<b>Media</b>	<b>Desviación estándar</b>	<b>t</b>	<b>gl</b>	<b>Sig.</b>
1día-25 días	6,983	0,953	7,233	4	< 0,001

## Anexo 10. Análisis estadístico para color

### COLOR L\*

#### Pruebas de normalidad para Color L\* a 1 día

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,923	3	0,463
2	0,998	3	0,921
3	0,815	3	0,151
4	0,938	3	0,520
5	0,917	3	0,442

#### Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color L\* a 1 día

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
media	1,432	4	10	0,293

#### ANOVA para Color L\* a 1 día

Color L*	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,344	4	0,586	1,074	0,419
Dentro de grupos	5,455	10	0,545		
Total	7,799	14			

#### Pruebas de normalidad para Color L\* a 25 días

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,957	3	0,601
2	0,981	3	0,737
3	0,991	3	0,817
4	0,824	3	0,174
5	0,938	3	0,520

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color L\* a 25 días**

	Estadístico Levene	de gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,625	4	10	0,655

**ANOVA para Color L\* a 25 días**

Color L*	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2,991	4	0,748	4,109	0,032
Dentro de grupos	1,819	10	0,182		
Total	4,810	14			

**Comparación Múltiple Tukey para Color L\* a 25 días**

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	81,4633	
2	3	81,5233	81,5233
3	3	81,5800	81,5800
4	3	82,0167	82,0167
5	3		82,6500

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

**Normalidad Prueba T para Color L\***

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,895	5	0,381
2	0,827	5	0,131

**Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para Color L\***

	Estadístico de Levene	de	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,020		1	8	0,890

**Prueba T de muestras emparejadas para % Color L\***

	Media	Desviación estándar	t	gl	Sig.
1día-25 días	0,297	0,297	57,249	4	< 0,001

**COLOR a\***

**Pruebas de normalidad para Color a\* a 1 día**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,964	3	0,637
2	0,990	3	0,806
3	0,923	3	0,463
4	0,866	3	0,284
5	0,976	3	0,702

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color a\* a 1 día**

	Estadístico de Levene	de	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	4,340		4	10	0,027

**Pruebas robustas de igualdad de medias para Color\_a\***

Color_a*_1	Estadístico	de	gl1	gl2	Sig.
Welch	0,220		4	4,346	0,915

**Pruebas de normalidad para Color a\* a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,930	3	0,490
2	0,956	3	0,597
3	0,880	3	0,324
4	0,977	3	0,712
5	0,993	3	0,843

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color a\* a 25 días**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,458	4	10	0,113

**ANOVA para Color\_a\* a 25 días**

Color_a*_2	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,108	4	0,027	0,394	0,808
Dentro de grupos	0,685	10	0,069		
Total	0,793	14			

**COLOR b\***

**Pruebas de normalidad para Color b\* a 1 día**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,992	3	0,828
2	0,934	3	0,504
3	0,778	3	0,062
4	0,940	3	0,528
5	0,938	3	0,520

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color b\* a 1 día**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	0,869	4	10	0,515

**ANOVA para Color\_b\*a 1 día**

Color_b*_1	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,539	4	0,135	0,240	0,909
Dentro de grupos	5,623	10	0,562		
Total	6,162	14			

**Pruebas de normalidad para Color b\* a 25 días**

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	1,000	3	0,981
2	0,895	3	0,371
3	0,900	3	0,384
4	0,861	3	0,271
5	0,958	3	0,607

**Pruebas de homogeneidad de varianzas para Color b\* a 25 días**

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,884	4	10	0,079

**ANOVA para Color\_b\* a 25 días**

Color_b*_2	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6,210	4	1,552	5,849	0,011
Dentro de grupos	2,654	10	0,265		
Total	8,864	14			

**Normalidad Prueba T para Color b\***

Concentración	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
1	0,974	5	0,903
2	0,937	5	0,644

**Pruebas de homogeneidad de varianzas Prueba T para Color b\***

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	3,378	1	8	0,103

**Prueba T de muestras emparejadas para % Color b\***

	Media	Desviación estándar	t	gl	Sig.
1día-25 días	12,329	0,849	32,479	4	< 0,001

## Anexo 11. Análisis estadístico para la cuantificación de residuos de ciprofloxacino

### Datos descriptivos para cuantificación final de CFX a 25 días

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% de intervalo de confianza a la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	3	0,0000	0,00000	0,00000	0,0000	0,0000	0,00	0,00
2	3	6,2708	1,61054	0,92984	2,2700	10,2716	4,70	7,92
3	3	4,5381	1,16979	0,67538	1,6322	7,4440	3,22	5,45
4	3	5,5615	1,40115	0,80895	2,0809	9,0422	4,70	7,18
5	3	4,7856	0,86930	0,50189	2,6261	6,9451	3,96	5,69
Total	5	4,2312	2,47941	0,64018	2,8581	5,6042	0,00	7,92

### Pruebas de normalidad para cuantificación final de CFX a 25 días

	Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.
Residuo para CFX	0,950	15	0,532

### Pruebas de homogeneidad de varianzas para cuantificación final de CFX a 25 días

	Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
Se basa en la media	2,202	4	10	0,142

### ANOVA para cuantificación final de CFX a 25 días

pH_1	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	72,703	4	18,176	13,602	< 0,001
Dentro de grupos	13,362	10	1,336		
Total	86,065	14			

**Comparación Múltiple Tukey para cuantificación final de CFX a 25 días**

Concentración	N	0,05	
		a	b
1	3	0,0000	
3	3		4,5381
5	3		4,7856
4	3		5,5615
2	3		6,2708

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

## Anexo 12. Panel de imágenes del trabajo de investigación



Figura 1: a) Elaboración de queso andino a nivel laboratorio (Laboratorio de Tecnología de Alimentos). b) Corte de cuajada para elaboración de queso andino y c) Escalado de la cuajada para queso andino a 40 °C.



Figura 2: a) Queso andino después a 25 días de maduración y b) Muestras de queso andino en la cámara de maduración.

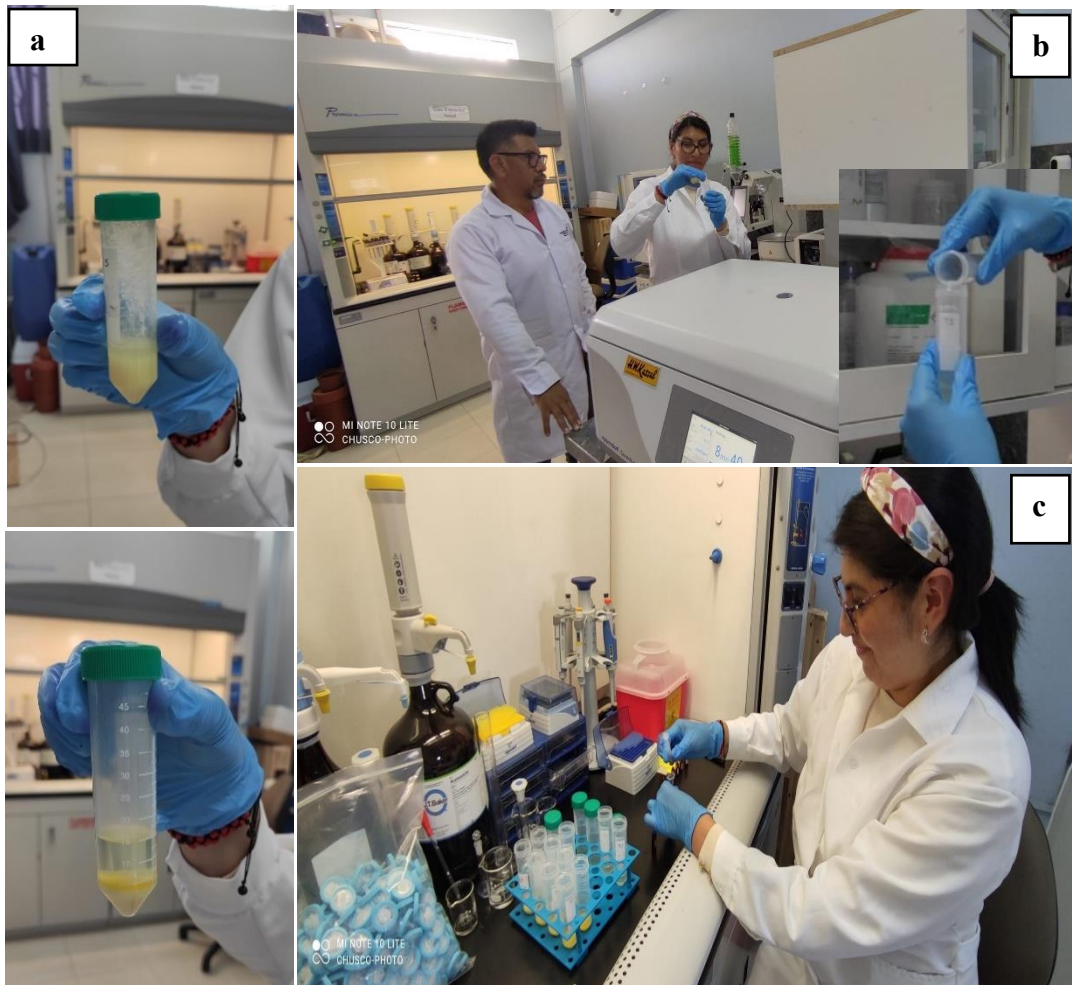
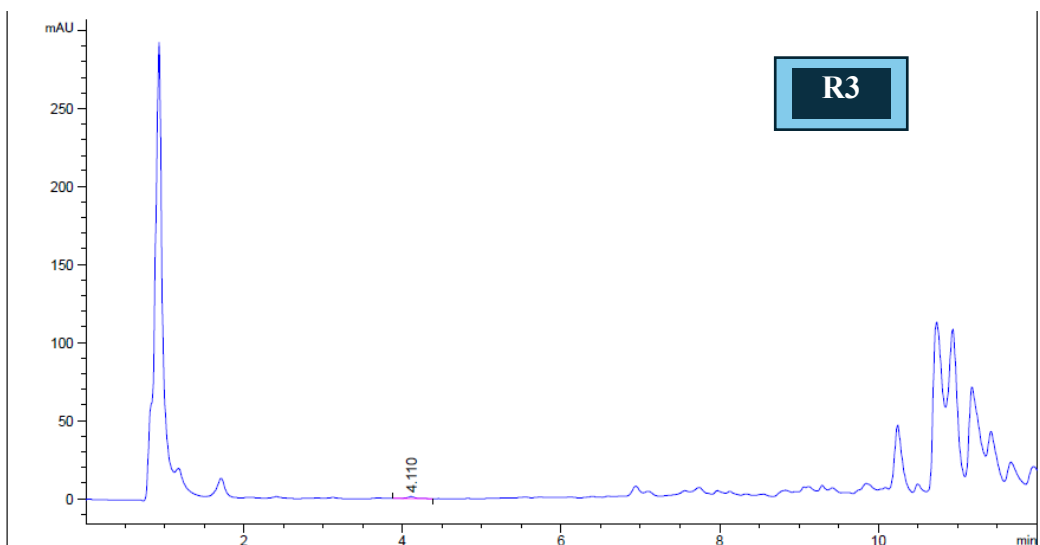
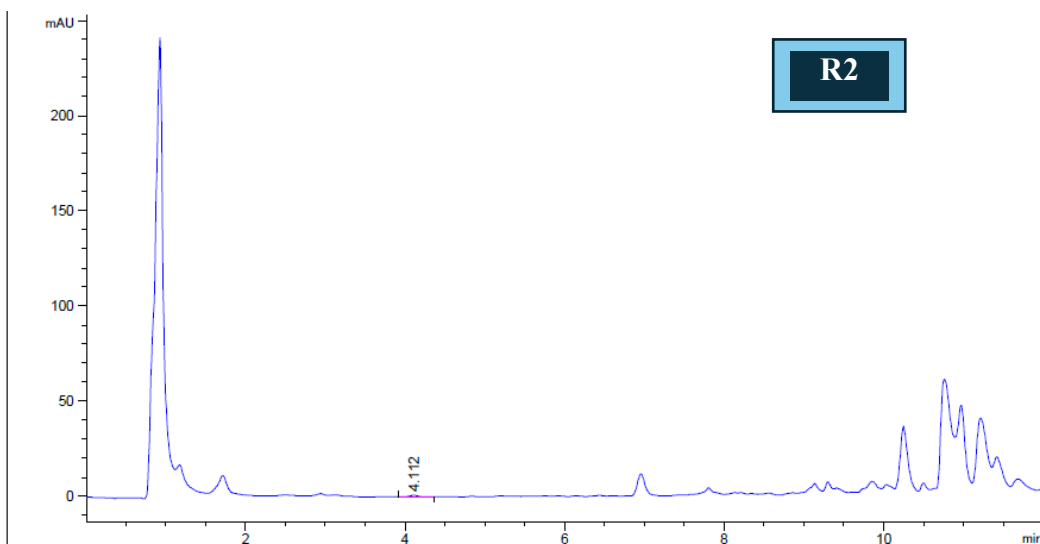
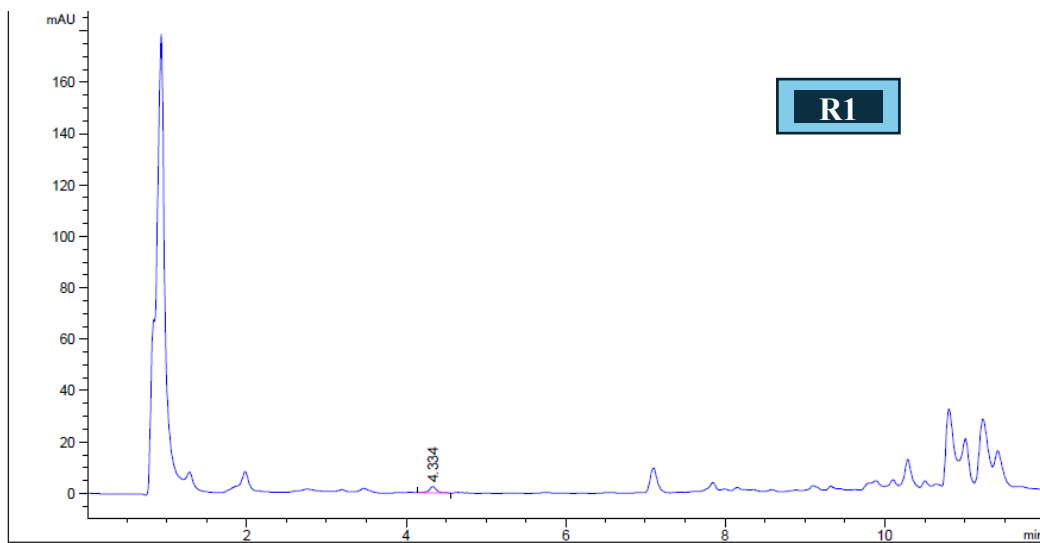


Figura 3: a) Preparación de muestra, antes y después de agitación en vortex. b) Centrifugación y separación de sobrenadante de muestras y c) Filtración por jeringa de muestras e inyección a viales para cuantificación.

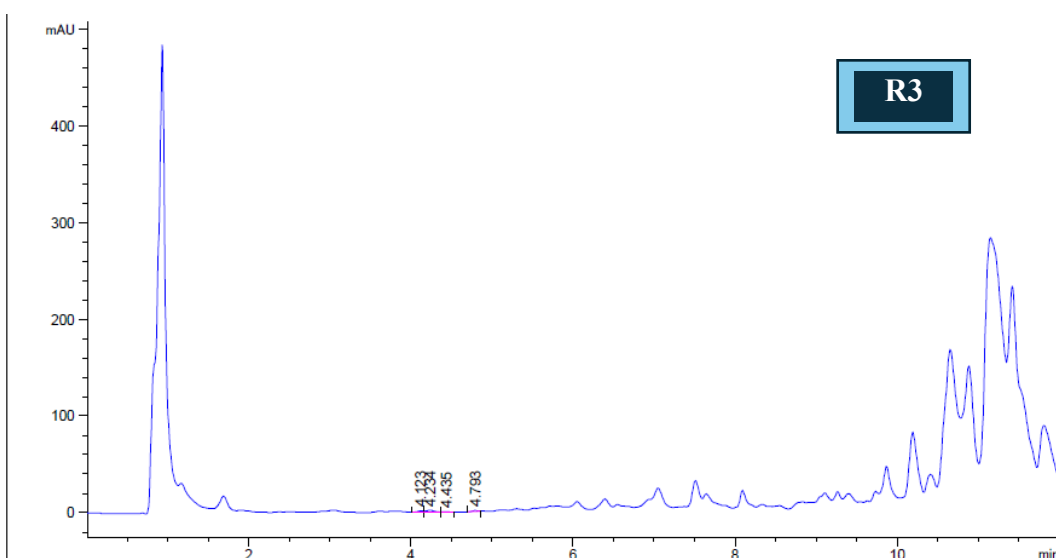
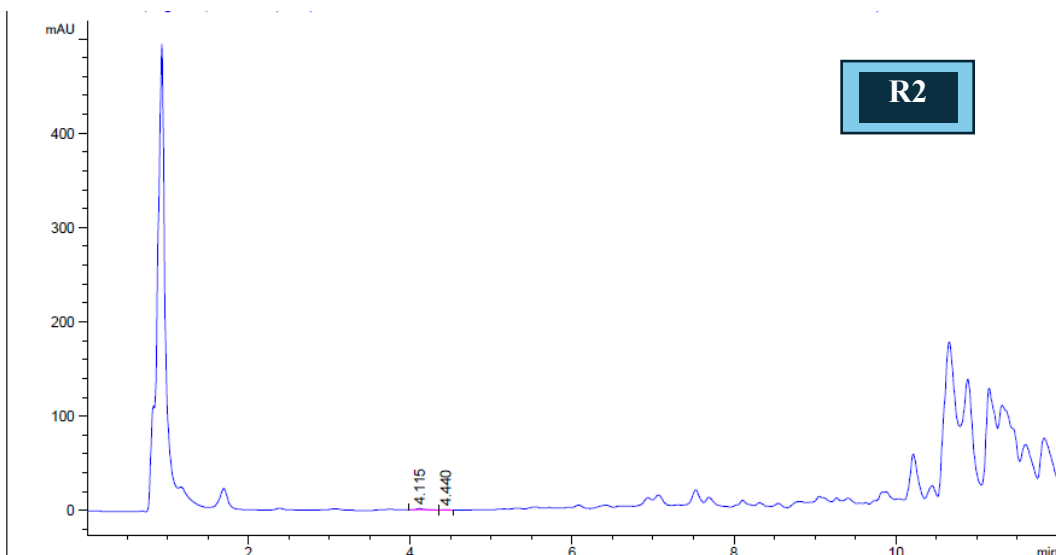
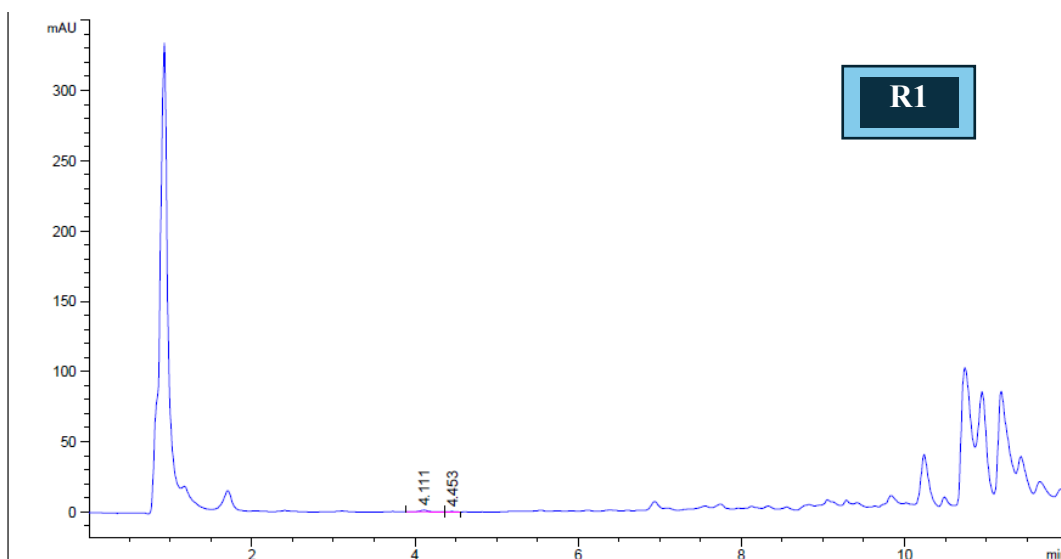


Figura 4: Lectura de muestras cuantificadas a 12 minutos, longitud de onda  $\lambda$ : 280 nm y obtención de cromatogramas.

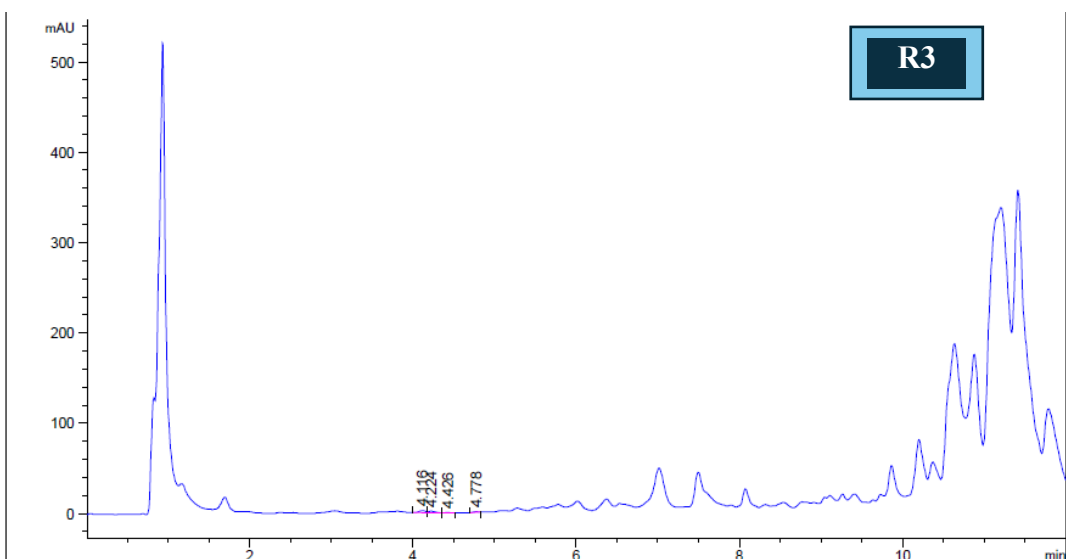
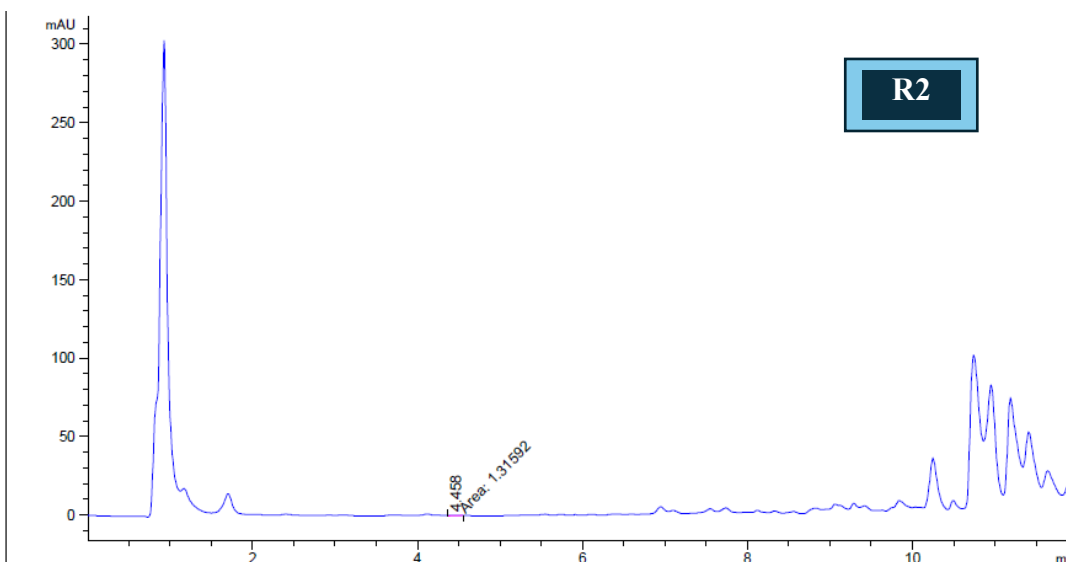
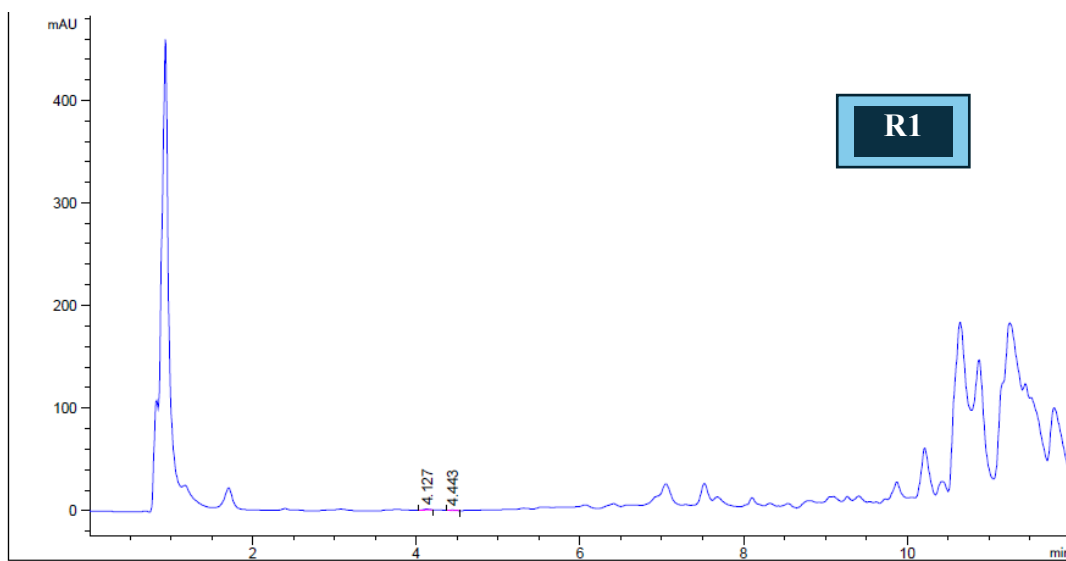
### Anexo 13. Cromatogramas de queso andino con presencia de ciprofloxacino para muestras control



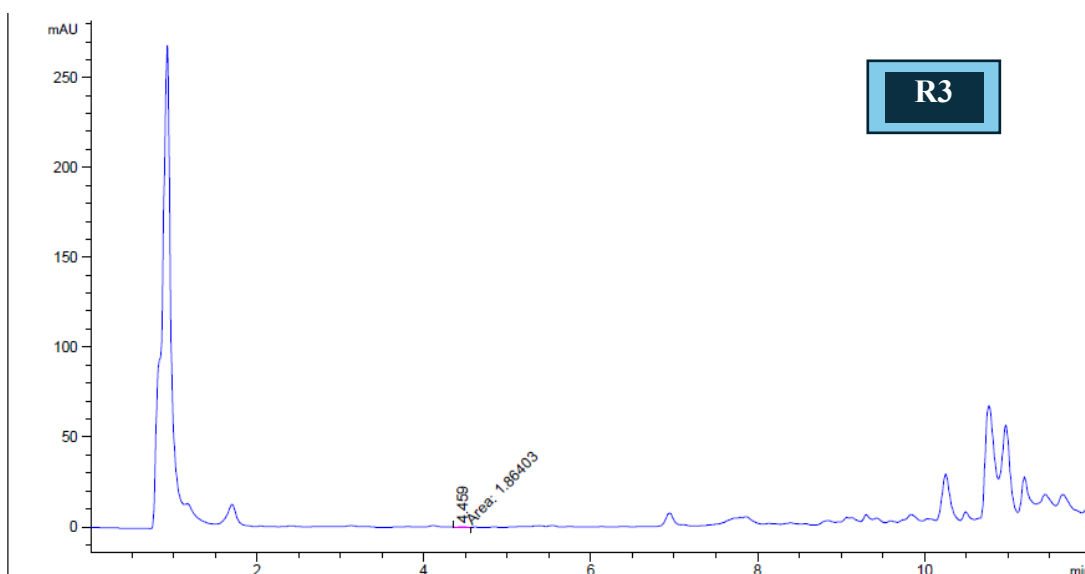
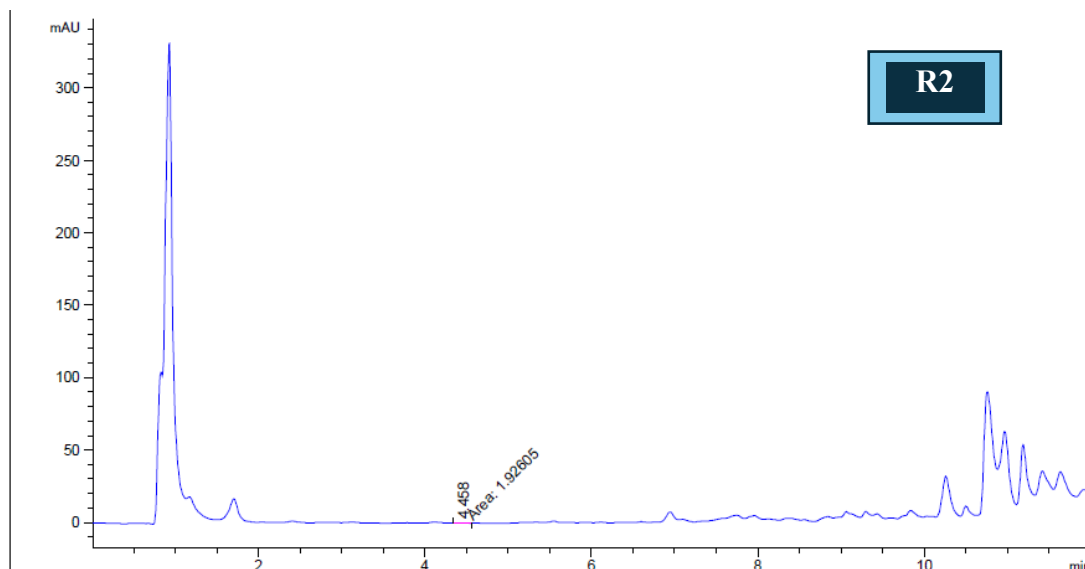
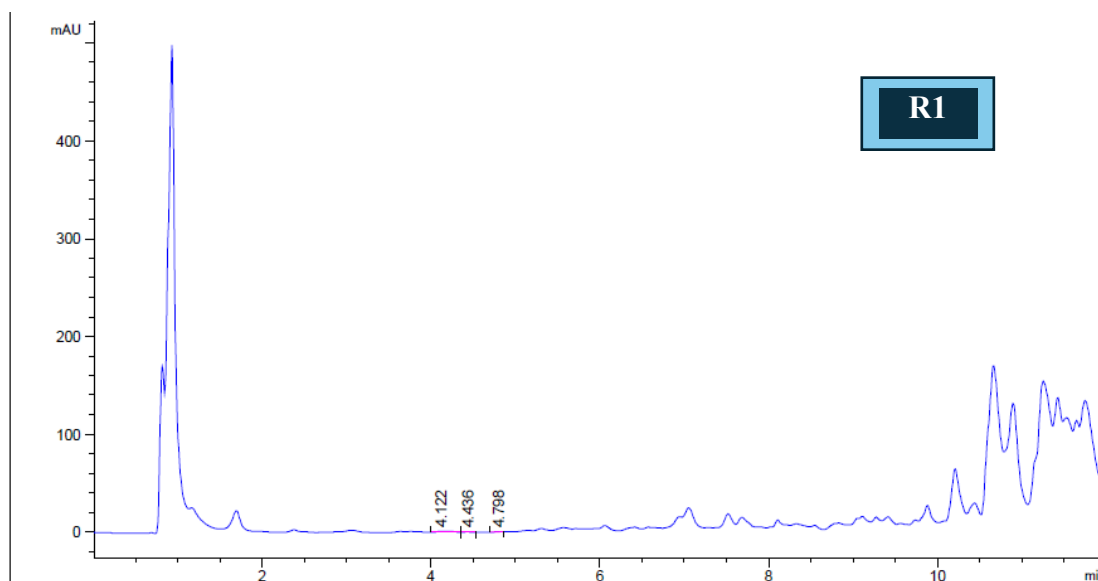
### Anexo 14. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a $40\mu\text{gL}^{-1}$



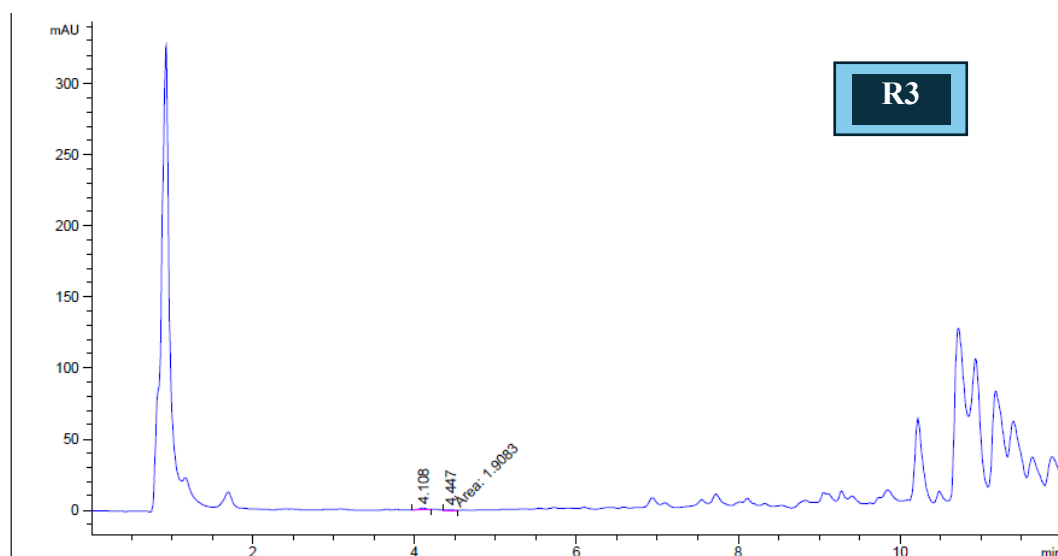
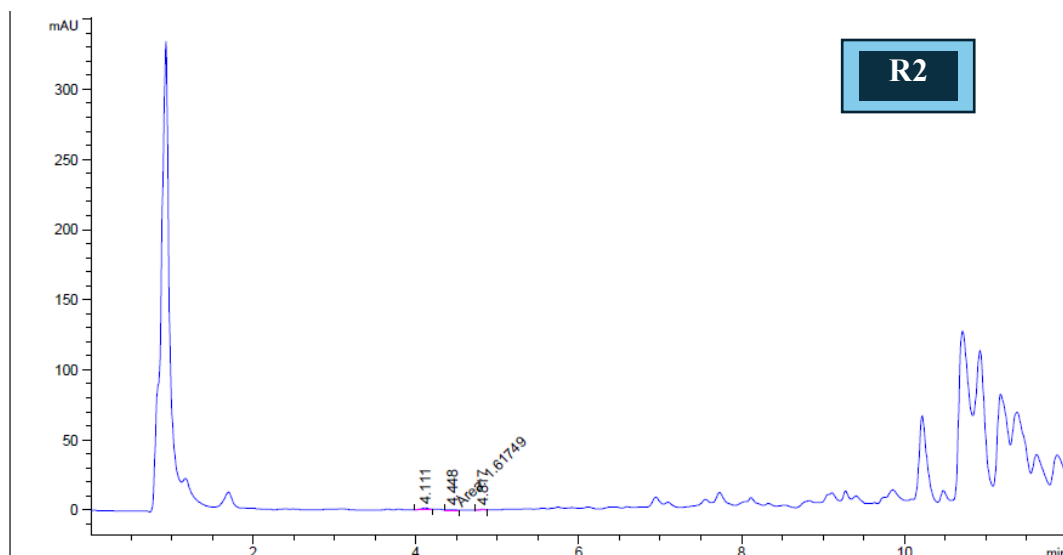
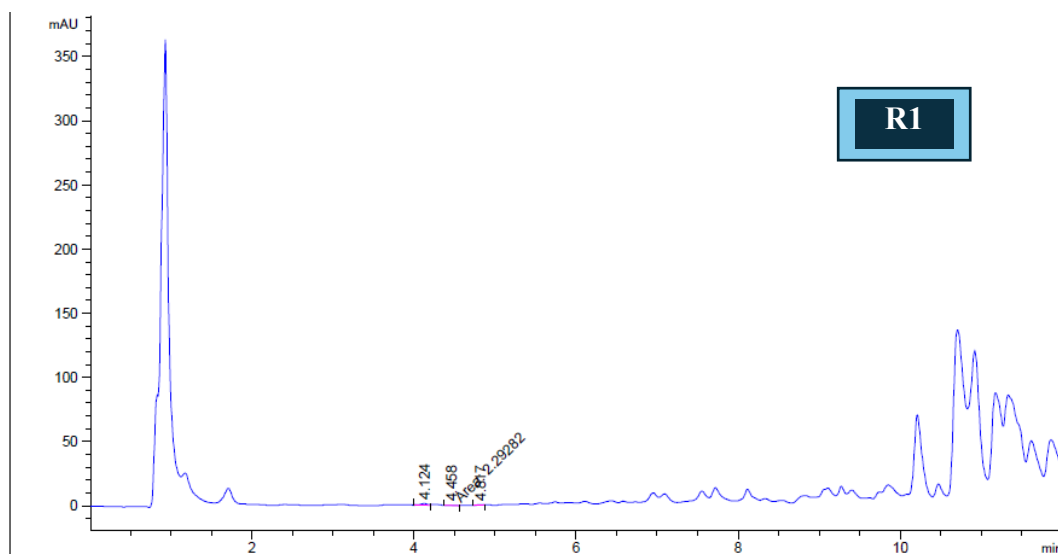
### Anexo 15. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a 400 $\mu$ gL<sup>-1</sup>



### Anexo 16. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a $1000\text{ngL}^{-1}$



### Anexo 17. Cromatogramas de queso andino con presencia de CFX a $2000\mu\text{gL}^{-1}$



## Anexo 18. Ficha técnica de administración de ciprofloxacino en animales

# CIPROFLOXACINA TRITON® / 200

Quimioterápico de amplio espectro,  
en comprimidos ranurados.

Uso en Medicina Veterinaria      Conservar fuera del alcance de los  
niños y animales domésticos.  
Venta con receta veterinaria  
Industria Argentina      Uso en Perros y Gatos.

#### Fórmula:

Cada comprimido contiene:  
Ciprofloxacina monohidrato clorhidrato ..... 200 mg  
Agentes de formulación c.s.p. .... 500 mg

#### Indicaciones:

Quimioterápico de amplio espectro indicado para toda infección producida por gérmenes sensibles a la ciprofloxacina en el tracto gastrointestinal, génito-urinario, respiratorio, piel y tegumentos, aparato músculo-esquelético o infecciones sistémicas.

Espectro antimicrobiano: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus coagulans* positivos y negativos, *Staphylococcus beta-hemolíticos*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus spp*, *Paustereilla multocida*, *Moraxella spp*, *Eikenella corrodens*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, *Brucella canis*, *Klebsiella spp*, *Flavobacterium spp*, *Yersinia spp*, *Bordetella bronchiseptica*, *Mycoplasma spp*, *Micobacterias*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Yersinia*, *Enterobacter*.

#### Vía de administración:

Oral.

#### Dosificación:

Caninos y felinos: 1 comprimido cada 20 kg de peso (10 mg/kg), cada 12 hs. durante 7 a 21 días o según criterio profesional.

#### Efectos colaterales:

Ciprofloxacina: Los efectos colaterales son raros, pero ocasionalmente puede presentarse vómito y/o diarrea.

#### Precauciones de Uso:

Ciprofloxacina: La ciprofloxacina puede causar erosión de cartilago de crecimiento e infosura permanente en animales jóvenes. Por ello, no está recomendado su uso en perras lactantes ni en animales de razas chicas y medianas entre los 2 a 8 meses de edad; en razas grandes, antes del año de vida y en razas gigantes, se sugiere esperar hasta los 18 meses. La absorción del alimento, sucralfato, compuestos que contengan cationes di y trivalentes ( $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ), y antiácidos puede disminuir la absorción de la ciprofloxacina, por lo que se recomienda administrar lejos de las comidas y otras medicaciones. La ciprofloxacina puede incrementar los niveles plasmáticos de teofilina, cuando se administran en forma simultánea. En pacientes con enfermedad renal, la dosis debería ser disminuida. Las fluorquinolonas pueden exacerbar el potencial nefrotóxico de la ciclosporina.

El uso de este producto sin un diagnóstico correcto, puede generar resistencia antimicrobiana. Se deberá respetar la dosis, intervalos y duración del tratamiento.

#### Contraindicaciones:

La ciprofloxacina no debe ser administrada en perras preñadas por su potencial teratogénico.

#### Toxicidad:

El producto carece de toxicidad a las dosis recomendadas. En gatos, dosis muy elevadas de ciprofloxacina puede provocar vómitos y espasmos clónicos de los músculos; mientras que en perros tratados con dosis elevadas durante 8 a 12 meses pueden presentar cataratas subcapsular e inflamación asociada, así como toxicidad renal manifestada como cristuria y depósitos de cristales en túbulos renales.

El uso de este producto sin un diagnóstico correcto, puede generar resistencia antimicrobiana. Se deberá respetar la dosis, intervalos y duración del tratamiento. Los envases utilizados deberán ser descartados de acuerdo a la legislación local vigente.

#### Presentaciones:

Estuches conteniendo 2 ó 10 blisters de 8 comprimidos cada uno.

CONSERVAR ENTRE 15°C Y 30°C.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS RECOMENDADAS:

Kruze, H; Hofinger, M; Thomsen, S et al; 1996. The antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus species* isolated from canine dermatitis. *Vet. Res. Commun.*, 20 (3): 205-14.  
Pitt, S; Vele, J; Maitra, EM et al; 1996. In vitro activity of 17 new antimicrobial agents against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus intermedius*. *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, 19 (2): 119-23.  
Deepak, S; Samant, SA; Unnikrishnan, AD; 1999. Study of coagulase positive and negative *Staphylococci* in clinical samples. *Indian J. Med. Sci.*, 33 (10): 425-8.  
*Tratado Veterinario de Parasitología Animal* XII Edición McGraw Hill Interamericana, 1997. Kirk, RW & Bonagura, JD. Páginas 304, 1111, 1112, 1312, 1545.  
*Handbook of Veterinary Drugs*, Second edition, 1998. Doro G. Allen. Editorial Lippincott. Páginas 130, 185, 186.

#### SENASA Certificado N° 01-300

Elaborado y fraccionado en LabCecil S.R.L. (Est. elab. N°: 8473) Santa Rosalía 2015, San Andrés, Provincia de Buenos Aires; para Laboratorio Tritón Vet S.R.L.  
Director Técnico: Dr. Luis Jáuregui - Veterinario M.N. N° 6537

Perú: Importado y distribuido por Mederi ERL. Av. Caminos del Inca 1434, Surco, Lima Reg. Perú N° SENASA F21.21.10031.

Bolivia: Importadora Representaciones I.J.P. Calle Forth Vanguardia N° 718, Cochabamba, Bolivia. Reg. SENASAG PUV-F N° 001734/07. CR-EMP N° 03-0008/05.

República Dominicana: Hospital Veterinario Arroyo Honda, Escleria Morillo 76, Santo Domingo - N° de Registro: 7070

Panamá: Soluciones LM S.A. Paseo Las Lomas Casa 118, Panamá - RF-5940-22

Ecuador: Importado y distribuido por FARCOVET S.A., Km 22, Av. Perimetral, Hs. 34.51 57, Bodega 4-3-5, Guayaquil-Ecuador. Registro N° 2C1-11681-AGROCALIDAD.

Guatemala: N° de Registro: AK727-07-01-11480.

LABORATORIO TRITÓN VET S.R.L.

Lavalle 2063, Gral. San Martín, Pcia. de Buenos Aires (B1650ATQ)

www.triton-vet.com / info@triton-vet.com / Tritón Vet / TritónvetArg

## Anexo 19. Declaración jurada de autenticidad de tesis



Universidad Nacional del  
Altiplano Puno



Vicerrectorado de  
Investigación



Repositorio  
Institucional

### DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo **LYCET MARIA CACERES BUSTINZA** identificado(a) con N° DNI: **41480582** en mi condición de egresado(a) del:

**DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**

con código de matrícula N° 172306, informo que he elaborado la tesis denominada:

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE RESÍDUOS DE CIPROFLOXACINO EN AGUA POTABLE DESTINADA AL PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO**

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y no existe plagio/copia de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno, 31 de Octubre del 2024.

FIRMA (Obligatorio)



Huella

## Anexo 20. Autorización para el depósito repositorio institucional



Universidad Nacional del  
Altiplano Puno



Vicerrectorado de  
Investigación



Repositorio  
Institucional

### AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo **LYCET MARIA CACERES BUSTINZA** identificado(a) con N° DNI: **41480582**, en mi condición de egresado(a) del Programa de Maestría o Doctorado: **DOCTORADO EN CIENCIA, TECNOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE**, informo que he elaborado la tesis denominada:

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE RESÍDUOS DE CIPROFLOXACINO EN AGUA POTABLE DESTINADA AL PROCESO DE ELABORACIÓN DE QUESO**

para la obtención de  Grado.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los "Contenidos") que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno, 31 de Octubre del 2024.

FIRMA (Obligatorio)



Huella