



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN  
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD MICHOACÁN**



# **DETERMINACIÓN DE PELIGROS QUÍMICOS EN QUESO COTIJA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCION AGRICOLA  
SUSTENTABLE**

**P R E S E N T A**  
**IBQ. VICTOR ALFONSO GAONA SÁNCHEZ**

**DIRECTORES**  
**M. en C. REBECA FLORES MAGALLON**  
**DR. JOSE LUIS MONTAÑEZ SOTO**

**JIQUILPAN, MICHOACÁN, MEXICO NOVIEMBRE 2011**

---



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN  
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL  
UNIDAD MICHOACÁN**



# **DETERMINACIÓN DE PELIGROS QUÍMICOS EN QUESO COTIJA**

**T E S I S**

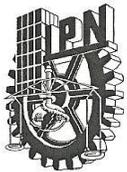
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS EN PRODUCCION AGRICOLA  
SUSTENTABLE**

**P R E S E N T A**  
**IBQ. VICTOR ALFONSO GAONA SÁNCHEZ**

**DIRECTORES**  
**M. en C. REBECA FLORES MAGALLON**  
**DR. JOSE LUIS MONTAÑEZ SOTO**

**JIQUILPAN, MICHOACÁN, MEXICO NOVIEMBRE 2011**

---



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Jiquilpan, Mich; siendo las 13:00 horas del día 22 del mes de Noviembre del 2011 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR – MICH. para examinar la tesis titulada:

"Determinación de peligros químicos en queso Cotija"

Presentada por el alumno:

**GAONA**  
Apellido paterno

**SÁNCHEZ**  
Apellido materno

**VÍCTOR ALFONSO**  
Nombre(s)

Con registro: 

B	0	9	1	3	6	2
---	---	---	---	---	---	---

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

  
M.C. REBECA FLORES MAGALLÓN

  
DR. JOSÉ LUIS MONTAÑEZ SOTO

  
M.C. MARIO CARRIÓN GUTIÉRREZ

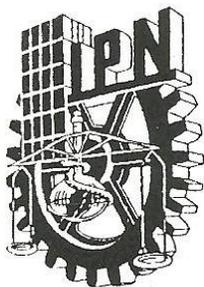
  
DRA. DIOSELINA ALVAREZ BERNAL

DR. GUILLERMO HERRERA  
ARREOLA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. GUILLERMO HERRERA ARREOLA





**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de Jiquilpan Michoacán el día 22 del mes noviembre del año 2011, el (la) que suscribe Victor Alfonso Gaona Sánchez alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable con número de registro B091362, adscrito a CIIDIR-IPN-MICHOACÁN, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de M. en C. Rebeca Flores Magallón y del Dr. José Luis Montañez Soto y cede los derechos del trabajo intitulado “Determinación de Peligros Químicos en queso Cotija”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección vags\_jl@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

---

Victor Alfonso Gaona Sánchez

El presente trabajo se llevo a cabo en los Laboratorios: Microbiología de los Alimentos del CIIDIR-INP-MICH, laboratorio de Investigación de Química del Departamento de Ciencias Básicas de la de en Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN) y en el laboratorio de Alimentos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara (CUCBA) bajo la dirección de la M. en C. Rebeca Flores Magallón y el Dr. José Luis Montañez Soto

## DEDICATORIA

A **Dios** por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida y lograr otra meta más en mi carrera.

A la M. en C Rebeca Flores Magallón por haberme dado la posibilidad de trabajar y escribir sobre el tema “determinación de peligros químicos en el Queso Cotija”, por su paciencia y dedicación.

A mis padres (Blanca Elvira Sánchez y Jesús Gaona), a mis hermanos (Esteban Gaona y Fabian Gaona) por ayudarme, que entendieron mis malos momentos y por apoyarme sin condiciones.

A Brenda Martínez, que a pesar de la distancia siempre estaba atenta para saber cómo iba mi proceso, por presionarme y motivarme a terminar este trabajo.

A mi familia que me apoyo durante mis estancias en el D.F. en especial a mi Abuela Concha, mi tía Vicky y mi primo Armando.

## AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron varias personas leyendo, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, dando ánimo, acompañando en los momentos de crisis y en los momentos de felicidad.

Al IPN por el apoyo económico para la culminación del presente trabajo a través de la Beca del Programa Institucional de Formación de Investigadores, la Beca para Estancias por parte de la Coordinador de Cooperación Académica del IPN (CCA-IPN), así como la Beca Tesis.

Al personal de los laboratorios del CIIDIR-MICH-IPN y de UPIBI-IPN, por prestarnos su atención y colaboración en todo momento en la parte práctica de nuestro proyecto.

A las muchachas de servicio escolar (Becky y Lupita) que siempre me brindaron un minuto para brindarme su ayuda y paciencia siempre con una sonrisa.

A la Dra. Olivia por sus valiosos consejos y revisión en este trabajo, también agradezco su excelente trato y dedicación durante mi estancia en UPIBI-IPN

Al comité tutorial Dr. José Luis Montañez Soto, M. en C. Mario Carrión Gutiérrez, Dra. Dioselina Álvarez Bernal y al Dr. Guillermo Herrera Arreola por sus críticas constructivas hacia mi trabajo y apoyo.

A Jessica Chávez, que desde un principio y hasta el día hoy me ha brindado ánimo para terminar este proceso.

También a mis amigos y a mis compañeros, que me apoyaron y me permitieron entrar en su vida durante estos casi tres años de convivir dentro y fuera del salón de clase. Lupita, Rosy, Claudia, Olaf, Fer, Jonás, Naty, Karla, Ángel, Beto. Y a todas las personas que depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad. Es por ellos que soy lo que soy ahora

---

## CONTENIDO

	Página
<b>DEDICATORIA</b>	
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	I
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	III
<b>ABREVIATURAS</b>	IV
<b>RESUMEN</b>	VII
<b>ABSTRACT</b>	VIII
<b>1. INTRODUCCION</b>	1
<b>2. MARCO TEORICO</b>	3
2.1. Quesos mexicanos genuinos	3
2.2. El queso	4
2.3. El queso artesanal	5
2.4. Queso Cotija	6
2.4.1. Antecedentes históricos	7
2.4.2. Delimitación de la zona de producción del queso Cotija	8
2.4.3. Proceso de elaboración del queso Cotija	11
2.4.4. Características del queso Cotija	12
2.4.5. Especificaciones sanitarias del queso Cotija	12
2.4.6. Marca Colectiva del queso Cotija región de origen	14
2.4.7. Denominación de origen	15
2.5. Peligros asociados al consumo de quesos	15
2.5.1. Peligro	16
2.5.2. Clasificación de peligros	17
2.5.3. Peligros químicos	17
2.6. Antimicrobianos	19
2.6.1. Generalidades	19
2.6.2. Residuos de antimicrobianos	20
2.6.3. Efecto de la presencia de residuos de antimicrobianos para la salud del consumidor	21

---

2.6.4. Periodos de eliminación, resguardo o suspensión de la ordeña	23
2.6.5. Brotes asociados al consumo de quesos	24
2.7. Metales pesados	25
2.7.1. Generalidades	25
2.7.2. Fuentes de exposición	26
2.7.3. Toxicidad	28
2.7.4. Efectos a la salud del consumidor	29
2.8. Hormonas promotoras del crecimiento	53
2.8.1. Generalidades	53
2.8.2. Clasificación de los anabólicos	53
2.8.3. Clenbuterol	54
2.8.4. Efectos a la salud del consumidor	55
2.8.5. Problemática actual del Clenbuterol	53
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>58</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN</b>	<b>59</b>
<b>5. HIPÓTESIS</b>	<b>60</b>
<b>6. OBJETIVOS</b>	<b>61</b>
<b>7. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>62</b>
7.1. Zona de colecta	63
7.2. Selección de productores	63
7.3. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche y queso	64
7.3.1. Preparación de la cepa de <i>Bacillus subtilis</i> Colección de Cepa Tipo Americano (ATCC) 6633	64
7.3.2. Recolección de muestras	65
7.3.3. Método de difusión en agar bacteriológico empleando las tres placas	67
7.4. Determinación de metales pesados en leche y queso	67
7.4.1. Recolección de muestras	67
7.4.2. Tratamiento de las muestras	68
7.4.3. Digestión acida asistida	68
7.4.4. Filtración de las muestras	69
7.4.5. Conservación de las muestras	69

---

7.4.6. Método por espectrometría	69
7.5. Determinación de Clenbuterol en leche y queso Cotija	71
7.5.1. Recolección de muestras	71
7.5.2. Tratamiento de muestras	71
7.5.3. Método RIDASCREEN (ELISA)	71
<b>8. ANALISIS ESTADISTICO</b>	<b>73</b>
<b>9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>74</b>
9.1. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche y queso	74
9.1.1. Determinación de las curvas de calibración de residuos de antimicrobianos en leche (Concentración mínima y máxima)	74
9.1.2. Determinación de la concentración del medio-inoculo	77
9.1.3. Determinación de los discos control	78
9.2. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche	80
9.3. Determinación de residuos de antimicrobianos en queso	84
9.4. Determinación de metales pesados en queso Cotija y leche	87
9.5. Determinación de Clenbuterol en queso Cotija y leche	99
<b>10. CONCLUSIONES</b>	<b>102</b>
<b>11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>103</b>

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pagina</b>
<b>Figura 1</b>	Zona de producción del queso Cotija. (Álvarez, 2004) <span style="float: right;"><b>9</b></span>
<b>Figura 2</b>	Proceso de elaboración del queso Cotija en la región de origen <span style="float: right;"><b>11</b></span>
<b>Figura 3</b>	Diferentes tipos de quesos madurados (de la izquierda a la derecha) un queso tipo Cotija (artesanal), un queso Cotija y un queso tipo Cotija (industrial). <span style="float: right;"><b>13</b></span>
<b>Figura 4</b>	Antimicrobianos más comunes en leche y quesos (antimicrobianos veterinarios de importancia crítica) Siglas en ingles VCIA ( <i>Veterinary Critically Important Antimicrobials</i> ) (OMS/OIE, 2006) <span style="float: right;"><b>21</b></span>
<b>Figura 5</b>	Diagrama del camino que siguen metales pesados desde su fuente primaria de contaminación hasta que los ingerimos <span style="float: right;"><b>27</b></span>
<b>Figura 6</b>	Esquema general de la metodología para determinar la presencia de peligros químicos en queso Cotija <span style="float: right;"><b>62</b></span>
<b>Figura 7</b>	Horno de microondas <span style="float: right;"><b>68</b></span>
<b>Figura 8</b>	ICP-OFS Perkin-Elmer 4300 DV (Antin PaarComp) <span style="float: right;"><b>68</b></span>
<b>Figura 9</b>	Curva de calibración de la Penicilina <span style="float: right;"><b>75</b></span>
<b>Figura 10</b>	Curva de calibración de la Lincomicina <span style="float: right;"><b>76</b></span>
<b>Figura 11</b>	Curva de calibración de la Sulfonamidas <span style="float: right;"><b>76</b></span>
<b>Figura 12</b>	Determinación de la concentración del inóculo al medio <span style="float: right;"><b>77</b></span>
<b>Figura 13</b>	Halos de inhibición de los discos control <span style="float: right;"><b>78</b></span>
<b>Figura 14</b>	Contenido de Arsénico (As) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>86</b></span>
<b>Figura 15</b>	Contenido de Plomo (Pb) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>89</b></span>
<b>Figura 16</b>	Contenido de Cadmio (Cd) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>89</b></span>
<b>Figura 17</b>	Contenido de Cobre (Cu) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>90</b></span>
<b>Figura 18</b>	Contenido de Berilio (Be) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>91</b></span>
<b>Figura 19</b>	Contenido de Calcio (Ca) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>92</b></span>
<b>Figura 20</b>	Contenido de Cobalto (Co) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>92</b></span>
<b>Figura 21</b>	Contenido de Cromo (Cr) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>93</b></span>
<b>Figura 22</b>	Contenido de Hierro (Fe) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>93</b></span>
<b>Figura 23</b>	Contenido de Magnesio (Mg) en queso Cotija y Leche <span style="float: right;"><b>94</b></span>

---

<b>Figura 24</b>	Contenido de Manganeso (Mn) en queso Cotija y Leche	<b>95</b>
<b>Figura 25</b>	Contenido de Molibdeno (Mo) en queso Cotija y Leche	<b>95</b>
<b>Figura 26</b>	Contenido de Níquel (Ni) en queso Cotija y Leche	<b>96</b>
<b>Figura 27</b>	Contenido de Antimonio (Sb) en queso Cotija y Leche	<b>96</b>
<b>Figura 28</b>	Contenido de Selenio (Se) en queso Cotija y Leche	<b>97</b>
<b>Figura 29</b>	Contenido de Estroncio (Sr) en queso Cotija y Leche	<b>97</b>
<b>Figura 30</b>	Contenido de Talio (Tl) en queso Cotija y Leche	<b>98</b>
<b>Figura 31</b>	Contenido de Vanadio (V) en queso Cotija y Leche	<b>98</b>
<b>Figura 32</b>	Contenido de Zinc (Zn) en queso Cotija y Leche	<b>99</b>

---

## ÍNDICE DE CUADROS

		Página
<b>Cuadro 1</b>	Especificaciones y características del queso Cotija	14
<b>Cuadro 2</b>	Metales pesados LMP, DL <sub>50</sub> , fuentes de contaminación y toxicidad	48
<b>Cuadro 3</b>	Medio y bacteria utilizada en la producción de la prueba microbiológica.	66
<b>Cuadro 4</b>	Determinación de la concentración del inóculo al medio-inóculo.	77
<b>Cuadro 5</b>	Inhibición del crecimiento de <i>Bacillus subtilis</i> ocasionado por los diferentes antimicrobianos	78
<b>Cuadro 6</b>	Determinación microbiológica de residuos de Penicilina G, Lincomicina y Sulfonamida en leche	79
<b>Cuadro 7</b>	Porcentaje de muestras de residuos de antimicrobianos en leche cruda con que se elabora el queso Cotija	80
<b>Cuadro 8</b>	Residuos de antimicrobianos en leche de los municipios de Cotija y Quitupán	81
<b>Cuadro 9</b>	Determinación de la concentración de antimicrobianos eliminados en leche de acuerdo a los halos de inhibición	84
<b>Cuadro 10</b>	Porcentaje de muestras positivas a residuos de antimicrobianos en queso Cotija	85
<b>Cuadro 11</b>	Residuos de antimicrobianos en queso en los municipios de Cotija y Quitupán	86
<b>Cuadro 12</b>	Determinación de las concentraciones de antimicrobianos eliminados en queso de acuerdo a los halos de inhibición	86
<b>Cuadro 13</b>	Programa de digestión por microondas para muestras de queso Cotija.	87
<b>Cuadro 14</b>	Programa de digestión por microondas para muestras de leche	87
<b>Cuadro 15</b>	Concentraciones de Clenbuterol en muestras de leche	100

---

## ABREVIATURAS

PROY-NOM	Proyecto de Norma Oficial Mexicana
NOM	Norma Oficial Mexicana
NMX	Normas Mexicanas
SSA	Secretaría de Salubridad y Asistencia
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Point
APPCC	Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
COFOCALEC	Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus derivados.
M C	Marca Colectiva
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación)
OMS	Organización Mundial de la Salud
OIE	World Organization for Animal Health (Organización Mundial de Sanidad Animal)
As	Arsénico
Pb	Plomo
Cu	Cobre
Hg	Mercurio
Cd	Cadmio
Cr	Cromo
Fe	Hierro
M	Manganeso
Zn	Zinc
Co	Cobalto
Mb	Molibdeno
Se	Selenio
Sn	Estaño
Si	Silicio
Ni	Níquel

---

Na	Sodio
K	Potasio
Ca	Calcio
Mg	Magnesio
Be	Berilio
Sb	Antimonio
Sr	Estroncio
Ti	Titanio
Tl	Talio
V	Vanadio
LMP	Límites Máximos Permisibles
AAFCO	Association of American Feed Control Officials(Asociación Americana de Oficiales Controladores de la Alimentación)
IARC	International Agency for Research on Cancer
DES	Dietilestilbestrol
SAGARPA	Secretaría de Agricultura Ganadería Desarrollo Rural y Alimentación
EPA	Agencia de Protección Medioambiental
EAA	Espectrometría de Absorción Atómica
UV	Ultra Violeta
PTFE	Polittrafluoretileno (Teflón)
TFM	Terafluormetoxil
ICP-OES	Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry(Inducción de Plasma Acoplado a Espectrometría de Emisión Óptica)
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Ensayo por InmunoAbsorción Ligado a Enzimas)
D O	Denominación de Origen
OMPI	Organización Mundial de la Propiedad Industrial
ADPIC	Aspectos de los Derechos de Propiedad Industrial Relacionados con el Comercio
OMC	Organización Mundial del Comercio
IG	Indicaciones Geográficas
TLCAN	Tratado de Libre Comercio de América del Norte
EE.UU	Estados Unidos de América

---

TLCUEM	Tratado de Libre Comercio Unión Europea-México
ETA	Enfermedades Transmitidas por Alimentos
SECOFI	Secretaría de Comercio y Fomento Industrial
CR	Consejo Regulador
IMPI	Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial
DOC	Denominación de Origen Controlada
IGP	Indicaciones Geográficas Protegidas
CIATEJ	Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y diseño del Estado Jalisco.
ARPQC	Asociación Regional de Productores de Queso Cotija
AFQA	Asociación para el Fomento del Quesos Artesanos
INDO	Instituto Nacional de Denominación de Origen
UHT	Ultra High Temperature (Ultra Alta Temperatura)
UNAM	Universidad Autónoma de México
COLMICH	Colegio de Michoacán
IPN	Instituto Politécnico Nacional
VCIA	Veterinary Critically Important Antimicrobials (antimicrobianos veterinarios de importancia crítica)
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods

---

## RESUMEN

Los peligros químicos son una fuente importante de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), el queso Cotija es un producto artesanal elaborado por ganaderos a partir de leche cruda de vaca obtenida del ganado criollo de la región de origen Jalisco y Michoacán. Debido a las particularidades de la zona, de sus recursos y del proceso de producción, el queso Cotija artesanal puede estar expuesto a muchos factores de contaminación, perdiendo su inocuidad y afectando su calidad. Por consiguiente en el presente estudio se aplicó el proyecto de la norma mexicana COFOCALEC-NMX-735-Queso Cotija Artesanal Madurado, evaluando la inocuidad y calidad del Queso Cotija referente a los peligros químicos tales como: Antimicrobianos, Metales pesados y Promotoras de crecimiento (clenbuterol). Se analizaron un total 126 muestras de queso Cotija y 126 muestras de leche cruda de dos municipios de la región de origen Cotija y Quitupán para la determinación de antimicrobianos y clenbuterol en lo referente a la determinación de metales pesados se analizaron un total 60 muestras de queso Cotija y 60 muestras de leche cruda. Para determinar la presencia de residuos de antimicrobianos se empleó la metodología propuesta por el sistema microbiológico de difusión en agar utilizando *Bacillus subtilis* ATCC 6633, con una concentración de esporas de  $10^6$  UFC/ml como microorganismo de referencia, para metales pesados se realizó una digestión ácida, empleando un lector de ICP-OES para la lectura de las muestras, y para la presencia de residuos de Clenbuterol el tratamiento utilizado fue el método de RIDASCREEN y la lectura fue por el método de ELISA. De las 126 muestras de queso Cotija 29 muestras resultaron positivas representando el (23.01%), mientras que las restantes 97 (76.99%) fueron negativas. De las 126 muestras analizadas en leche 77 muestras resultaron positivas representando el (61.11%) mientras que las restantes 49 (38.88%) fueron negativa. Respecto a metales pesados se detectaron concentraciones LMP superiores tanto oligoelementos, como metales considerados tóxicos como As y Pb que están contemplados en la NOM-735-COFOCALEC con concentraciones de 0.5 ppm para As y 0.1ppm para Pb. Los resultados de clenbuterol oscilan entre 400 y 637 ppm en el 4.57% de leche, y el porcentaje restante (95,43%) no detecta residuos de este químico. El estudio realizado revela la presencia de residuos de antimicrobianos, clenbuterol, metales pesados como Pb y As, en el queso Cotija y en leche cruda para su elaboración, lo cual pone de manifiesto la presencia de peligros químicos.

---

## ABSTRACT

Was analyzed a total of 126 raw whole milk samples from two municipalities in the region of origin (and Cotija Quitupan). To determine the presence of residues of antimicrobial use the methodology proposed by the system microbiological agar diffusion using *Bacillus subtilis* ATCC 6633, with a spore concentration of 106 CFU / mL as the reference organism., Heavy metals digestion was performed acid using a reader for reading PCI samples and for residues of Clenbuterol was by the method of RIDASCREEN and reading was by ELISA. . Of the 126 Cotija chesse samples analyzed in the first stage 29 samples were positive representing (23.01%) while the remaining 97 (76.99%) were negative and of the 126 milk samples analyzed in the first stage 77 samples were positive representing (61.11%) while the remaining 49 (38.88%) were negative. Regarding heavy metals, concentrations superior both LMP trace elements such as metals considered toxic as As and Pb are listed in NOM-735-COFOCALEC with concentrations of 0.5 ppm to 0.1 ppm for As and Pb. The results of clenbuterol between 400 and 637 ppm in 4.57% milk, and the remainder (95.43%) did not detect residues of this chemical. The study reveals the presence of antimicrobial residues, heavy metals like Pb and Ar in raw milk that is produced with Cotija cheese, which shows that not respected clearance times established by the manufacturing laboratory

## 1. INTRODUCCION

El queso Cotija es un producto artesanal que se elabora a partir de leche bronca de vaca en la región de origen Jalisco y Michoacán desde hace 400 años y el cual se caracteriza por ser producido por los mismos ganaderos, la materia prima (leche) se obtiene de la cruce de ganado principalmente cebú, su alimentación es a partir de los pastos que se producen en la región, al ser alimentado al libre pastoreo podría afectar la calidad de la materia prima, ya que la región de origen se encuentra ubicada en una zona neovolcánica, además, es común el uso de cuatrimoto para el transporte de los productores a las zonas donde se ordeña, lo cual que podría contaminar los pastos que son producidos en la región con el combustible que estos derraman. Otro factor que puede contribuir a la presencia de peligros químicos es el uso de antimicrobianos en el ganado bovino para el tratamiento de enfermedades debido a que los productores por lo general no respeta los tiempos de eliminación indicados por el laboratorio fabricante, así como el uso de hormonas de crecimiento como clenbuterol que son empleadas para aumentar el volumen de producción de leche en las vacas.

Por lo mencionado anteriormente, el queso Cotija está expuesto a peligros químicos los cuales son definidos como sustancias químicas presentes en el alimento en forma natural, intencional o accidental, que resulte potencialmente perjudicial a corto o largo plazo, los cuales son una fuente importante de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA's).

La presencia de peligros químicos afecta la producción de productos lácteos como por ejemplo en la producción de quesos (artesanal e industrial), debido a que inhibe los procesos de transformación que tienen lugar, así como la influencia en la maduración y en las características sensoriales del producto final.

*Los residuos de antimicrobianos* más comúnmente detectados en la leche son: penicilinas, tetraciclinas, macrolidos, sulfonamidas, nitrofuranos, aminoglicosidos y cloramfenicol que se usan para el control de enfermedades infecciosas en la vaca, especialmente en la mastitis (inflamación de la ubre). Los antimicrobianos pueden influir en la inducción de: resistencia microbiana, desórdenes de la flora intestinal, reacciones alérgicas.

*Metales pesados* encontrados en alimentos provienen de diversas fuentes, las más importantes son: el suelo contaminado en el que se producen los alimentos para el hombre y los animales; los lodos residuales, los fertilizantes químicos y plaguicidas empleados en agricultura, el uso de materiales durante el ordeño, almacenamiento y transporte de la leche, así como del agua que ingieren los bovinos. La presencia de metales pesados en la elaboración de productos lácteos afecta la calidad e inocuidad de estos, Actualmente estema importante debido a los daños que ocasionan a la salud pública, considerando que la exposición crónica de metales pesados en alimentos por lo regular se presenta asintomática durante un tiempo prolongado de vida.

Por otro lado la presencia de residuos de *clenbuterol* (hormona de crecimiento) son de suma importancia para el sector salud, este es un fármaco que pertenece al grupo de los  $\beta$ -agonistas. Se considera como un potente broncodilatador, anabólico y agente lipolítico en muchas especies, fomenta la producción de proteína y reduce la de grasa, por lo que se usa generalmente en la ganadería para el aumento de peso en los animales con el fin de obtener más ganancias. La administración de clenbuterol coincidente con un aumento de la producción de leche, produciendo un sustancial rendimiento en la producción y una marcada mejora. Frecuentemente se observan aumentos de 4 a 6 kg de leche/día. En el ámbito internacional está prohibido su uso como promotor de la producción animal. Su peligrosidad radica en los residuos que deja en las vísceras de los animales, así como en residuos en leche y que en la población consumidora puede provocar serios problemas de intoxicación, tales como, la aparición de efectos graves en el consumidor como alteraciones de tiroides, disfunciones metabólicas o intolerancia a la temperatura.

Ante la situación mencionada se hace necesario determinar la presencia de peligros químicos en el proceso de elaboración del queso Cotija, lo cual permitirá obtener información que le brinde la posibilidad de ingresar a los mercados internacionales.

## 2. MARCO TEORICO

### 2.1. Quesos mexicanos genuinos

Los quesos artesanales poseen gran aceptación y prestigio, sobre todo en Europa, donde se producen con un sello local, permitiendo la revaloración del territorio y la cultura de la comunidad que los fabrica. Estos quesos fueron los precursores de los quesos industrializados y muchos de ellos son elaborados con leche cruda. (Álvarez *et al.*, 2004)

Algunos quesos artesanales mexicanos son muy originales (por su forma, origen de la leche con que se elaboran, técnica de fabricación, maduración y propiedades organolépticas) que en principio, pueden ser aspirantes a lograr una figura de protección jurídico-comercial como una Marca Colectiva (MC) o una Denominación de Origen (DO) (Villegas, 2004).

Este es el caso del queso de Poro de Tabasco, o el queso Chihuahua menonita. De hecho, desde el 2005, ya se reconoce un queso artesanal mexicano con marca colectiva: Cotija Región de Origen (de la Sierra de Jalisco-Michoacán) que constituye un punto de referencia para estos productos nacionales (Chombo, 2003).

México posee un valioso patrimonio gastronómico y cultural constituido por sus quesos genuinos, artesanales e industriales, que constituyen un recurso para el desarrollo socioeconómico de distintas regiones donde se producen (Villegas, 2004).

Los quesos mexicanos genuinos, según Villegas (2004), deben cumplir con los siguientes rasgos:

- Son elaborados a partir de leche fluida, de vaca o de cabra, con el empleo mínimo de aditivos tradicionalmente incorporados, permitidos por las normas vigentes, tales como cuajo, colorante de achiote, cloruro de calcio y sal común. No incluyen grasa vegetal, ni derivados proteicos de la leche, a excepción de pequeñas cantidades de estos últimos, solamente para estandarizar la proporción entre la grasa y la proteína de la leche de proceso.

Una fuerte raíz histórica nacional; se elaboran desde tiempos de la Colonia, o en tiempos más recientes, pero al menos desde hace más de cuatro décadas. Sobre sus características y procesos de elaboración, aunque no se dispone de información escrita puntual, se considera muy válida la tradición oral recogida a lo largo y ancho del territorio nacional por diversos informantes, técnicos de diversas especialidades y gente del pueblo. Son elaborados dentro del territorio nacional. Muchos de estos productos han nacido regionalmente, y siguen siendo productos locales, otros se han difundido ampliamente en el país y poco en el extranjero, sobre todo por migrantes mexicanos hacia los Estados Unidos de Norteamérica.

## 2.2. El queso

El queso es un alimento muy apreciado por el hombre debido a sus cualidades nutritivas y sensoriales; ha sido elaborado desde hace varios siglos a partir de leche de vaca, oveja, cabra y otros rumiantes. Se cree que los quesos tienen su origen en la observación accidental de la fermentación de la leche cuando era transportada en estómagos de animales, lo que ocasionaba la separación del suero y cuajada; el secado o salado parcial de esta última, se aproxima a una forma primitiva de elaboración de queso que tribus nómadas preparaban muchos años atrás (Fernández, 2000).

El queso es el producto resultante de la coagulación de la leche de ciertos mamíferos mediante la renina, presente en el cuajo, o por enzimas similares; del coágulo (cuajada) se elimina el agua por corte, agitación de los fragmentos resultantes y por el subsiguiente moldeado, prensado y madurado en condiciones adecuadas (Kosikowski, 1977).

La Organización para la Agricultura y Alimentación (FAO) en 1966 definió el queso como el *producto fresco o madurado obtenido por coagulación de la leche u otros productos lácteos como nata, leche parcial o totalmente desnatada, suero de mazada o de sus mezclas, y posterior separación del suero* (Ares, 2002).

El queso es "una forma de conservación de la caseína y de la materia grasa de la leche, que se obtiene por coagulación de la misma seguida del desuerado, donde se separan, por un lado, el suero constituido por la mayor parte del agua y de los componentes solubles de la leche y, por otro, la cuajada que aún retiene una pequeña fracción del suero (Alais, 2001).

En la actualidad se producen una gran diversidad de quesos entre 400 y 1000 dependiendo de las condiciones tecnológicas que con el tiempo introdujeron países o regiones de todos los continentes International (ICMSF, 1998).

Dependiendo de las condiciones tecnológicas que con el tiempo introdujeron países o regiones de todos los continentes. Estas incluyen principalmente: la fuente y composición de la leche, el tipo de agente coagulante, las condiciones de coagulación, el corte, tipo de cultivos microbianos, el tratamiento que reciba la cuajada, las condiciones de maduración y la eventual adición de diversos ingredientes (Fernández., 2000).

### **2.3. El queso artesanal**

El queso artesanal tampoco presenta una definición universal. Para el Instituto Nacional de Denominación de Origen (INDO), el queso artesanal es *“el producto elaborado con la leche de una sola explotación ganadera individual, familiar o asociativa”*. Anteriormente, el INDO destacó la importancia del empleo de la leche bronca en la elaboración de quesos artesanales, ya que *“conserva los microorganismos característicos que dan tipicidad al producto final”*. La Asociación para el Fomento del Queso Artesanos (AFQA) definió el queso artesanal como el producto *“elaborado en una explotación ganadera, con leche de la propia explotación, que puede ser individual, familiar o asociativa pero, en cualquier caso, debe producir una cantidad limitada en función de la especie lechera y de los tipos de quesos a elaborar, para mantener una correcta calidad”* (Ares, 2002).

Cabe destacar que la elaboración artesanal de quesos se realiza a partir de leche sin pasteurizar o mínimamente tratada proveniente de vacas criollas, aunque existen algunos

productores que cuentan con ganados adaptados a la zona, alimentadas con pasturas naturales o el libre pastorear, con la adición de agente coagulante (cuajo) y sal, usando metodologías muy rudimentarias que se transmiten de generación a generación (Vasek *et al.*, 2008).

Los quesos artesanales presentan un requerimiento interesante en el mercado, el cual logra ser más prometedor en la medida en que se ofrezca al consumidor un producto seguro y de calidad uniforme y constante, dado que muchos de los ellos se abstienen de consumirlos ante la ausencia de suficientes garantías de seguridad (Vasek *et al.*, 2008).

Los quesos artesanales e industriales responden a modelos de actuación diferentes, caracterizándose los primeros por sus peculiares sistemas de elaboración, basados fundamentalmente en un estilo de vida singular y una zona de producción reducida (Villegas, 2004).

#### **2.4. Queso Cotija**

El queso Cotija es un producto artesanal que se elabora a partir de leche de vaca sin pasteurizar en la región de origen Jalisco-Michoacán. Es altamente apreciado en la zona y ha presentado un incremento en su consumo, a nivel nacional e internacional, debido a sus características sensoriales particulares y a su prolongada vida de anaquel (Chombo, 2003).

Es importante especificar que el queso Cotija se caracteriza por ser producidos por los mismos ganaderos, únicamente a partir de su propia producción de leche, Por lo que las particularidades de la zona, de sus recursos y del proceso de producción confieren a ese queso una calidad específica, que lo distingue de las numerosas imitaciones, los quesos tipo Cotija. (Chombo, 2003).

Las características del clima, la altura y el suelo originan una vegetación típica del lugar, lo cual se refleja en la composición y las características de la leche producida. Por otra parte, la humedad relativa de la zona, vinculada a la temperatura, las lluvias y la altura, se relaciona con las características del queso elaborado y añejado en la zona (Chombo, 2005).

### 2.4.1. Antecedentes históricos

El queso Cotija es un producto típico de los municipios de la sierra de Jalisco-Michoacán, en el Occidente de México, donde se produce desde más de 400 años. La producción de queso se realiza en toda la región pero particularmente se concentra en las zonas serranas, aisladas, donde es una necesidad procesar la leche en queso maduro para posponer su venta. Coexisten las haciendas con estructuras más pequeñas de propiedad privada, los ranchos. (Barragán y Chávez, 1998).

El queso Cotija alcanza su auge en la primera mitad del siglo XX. Según los ancianos, “se vivía muy bien” del queso Cotija en aquella época. Pero el desarrollo de las infraestructuras públicas, carreteras y electricidad en particular, van a llevar a la decadencia progresiva del queso Cotija. (Poméon, 2007).

Frente a la producción de quesos de forma semi-industrial o industrial, los productores artesanales no pueden competir. Pero la tradición del queso Cotija, como producto estacional, artesanal y madurado, se mantiene en las zonas de la Sierra de Jalisco-Michoacán lugar certificado como la región de origen del auténtico queso Cotija. (Barragán, 1990).

El Queso Cotija originario de la región de la sierra Jalisco-Michoacán es un producto artesanal y su receta ha sido conservada de generación en generación que se elabora a partir de leche bronca de vaca como principal elemento. Es así que este queso se obtiene mediante el proceso tradicional respetándose tiempos y etapas específicas, como que el queso deberá producirse de manera natural, es decir, a partir de leche, sin la adición de compuestos químicos o análogos de leche u otros ingredientes que no sean sal y cuajo. (Álvarez *et al.*, 2004).

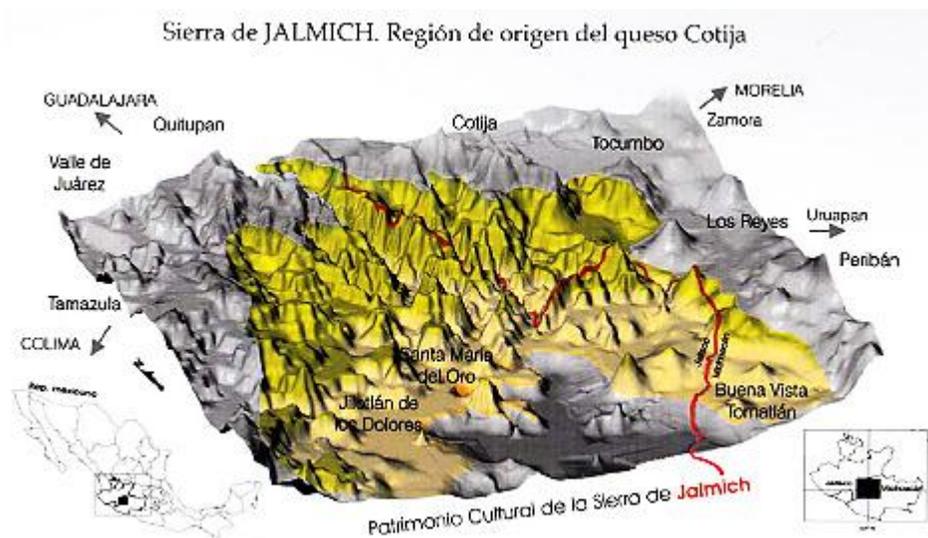
En junio del 2008, se publicó en el Diario Oficial el proyecto de norma oficial mexicana PROY-NOM-243-SSA1-2005 (Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos). Esta norma prohíbe el uso de leche bronca para la elaboración de quesos, reforzando las exigencias ya planteadas en la NOM-121-SSA1-1994 (Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias). La prohibición

parece inaplicable, injusta e injustificada, ya que penaliza a decenas de miles de queseros artesanales y productores de leche, y constituye una real amenaza para los quesos tradicionales mexicanos, parte de nuestro patrimonio nacional. Ese patrimonio cultural y gastronómico podría desaparecer, y con ello parte de nuestra historia e identidad, además del impacto socioeconómico muy grave que causaría por la pérdida de decenas de miles de empleos, especialmente en las zonas rurales. Por lo cual la Ley Federal de Fomento a la Microindustria y a la Actividad Artesanal reconoce la necesidad de que el Legislativo proponga leyes y normas adaptadas a la realidad de las microindustrias artesanales del país. Actualmente se reconoce la necesidad de una regulación sanitaria y comercial de los quesos en México. Por lo cual, una norma aplicable y justa ayudaría a mejorar la calidad sanitaria de esos quesos, al mismo tiempo que se preservarían sus rasgos específicos (tipicidad) que los convierten en un patrimonio cultural y alimentario que urge proteger y preservar. (COFOCALEC, 2011).

#### **2.4.2. Delimitación de la zona de producción del queso Cotija**

Es importante especificar que la zona de producción de la materia prima, la leche, y la zona de elaboración del queso Cotija es la misma. De hecho, el queso se caracteriza por ser producidos por los mismos ganaderos, únicamente a partir de su propia producción de leche. (Álvarez *et al.*, 2004).

La zona, con una forma de herradura orientada al norte, abarca una superficie de aproximadamente 2 400 km<sup>2</sup>, de los 19°15' a los 19°40' de latitud norte y de los 102°30' a los 103°05' de longitud oeste. Es una zona continua, ubicada en la sierra Jalisco-Michoacán, entre los estados de Jalisco y de Michoacán, los municipios que se involucraron y que cuentan con productores participando en el proceso de calificación del queso Cotija son seis: Santa María del Oro, Jilotlan de los Dolores y Quitupan (Jalisco); Cotija, Tocumbo y Buena Vista Tomatlan (Michoacán). (Poméon, 2007).



**Figura 1:** Zona de producción del queso Cotija. (Álvarez et al., 2004)

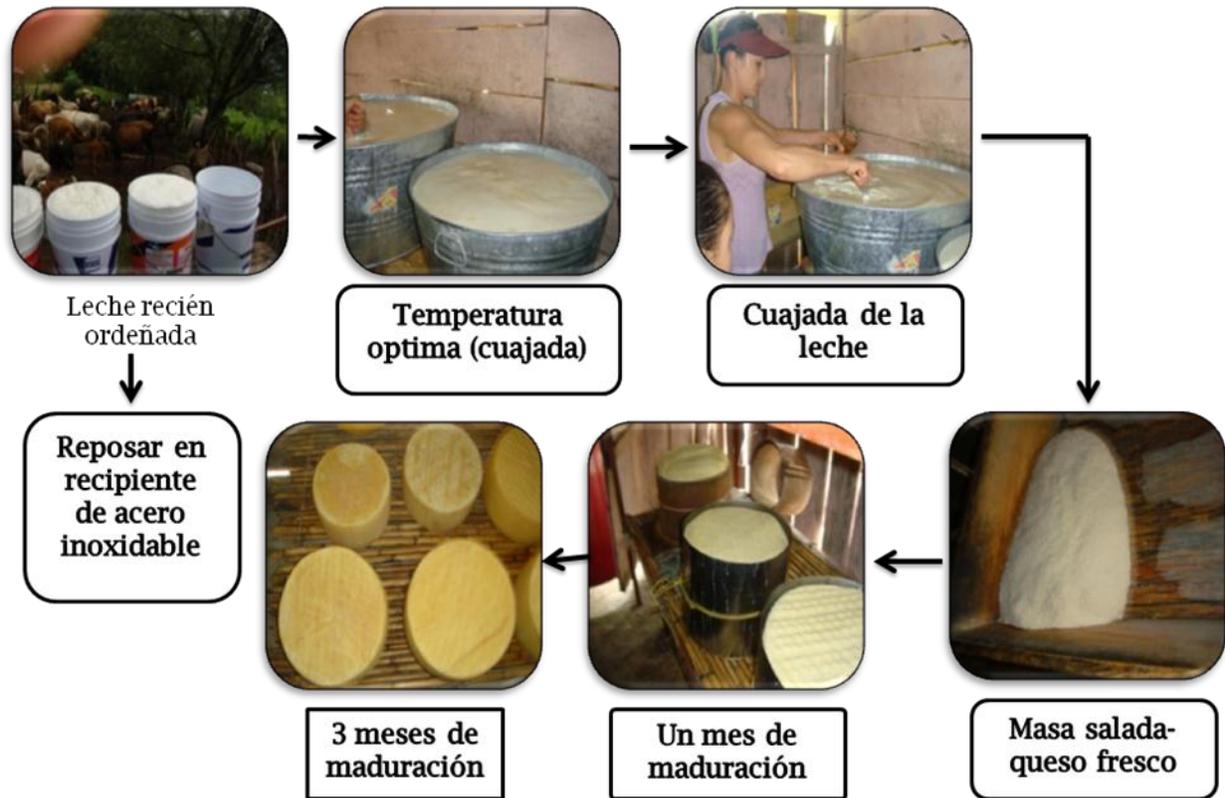
- La zona de producción reconocida por las reglas de uso de la marca colectiva se delimitó según factores geográficos, agronómicos y humanos. Se hizo en base a factores geográficos físicos, incluyendo la topografía y el clima, traducidos en ciertos parámetros de temperatura y precipitación pluvial anual. (Álvarez et al., 2004).
- La región es una ladera templada, de transición climática, muy plegada y con escalonamiento altitudinal, que va desde los pies de monte que se elevan desde el valle de Tierra Caliente y que llega un poco antes de las cumbres frías del eje neovolcánico (Álvarez et al., 2004).
- La región se caracteriza por una cubierta vegetal tipo selva baja caducifolia con vegetación secundaria irregular. Queda excluida la zona de bosque mixto (encino-pino), ubicada en las partes más altas de la región (Álvarez et al., 2004).
- Predomina el suelo areno-arcilloso y pedregoso, cambisol en la parte alta de la ladera, donde limita con luvisol de la tierra fría, al norte; regosol y ranquer en la parte más baja, donde limita con vertisol de la Tierra Caliente al sur (Álvarez et al., 2004).

Es en este medio específico que pastorea el ganado vacuno productor de la leche con el cual se elabora el queso Cotija. Las características de clima, altura y suelo originan una vegetación típica del lugar, que se refleja en la composición y las características de la leche producida. Por otra parte, la humedad relativa de la zona, vinculada a la temperatura, las lluvias y la altura, se relaciona con las características del queso elaborado y añejado en la zona. (Poméon, 2007).

### **2.4.3. Proceso de elaboración del queso Cotija**

En el proceso de elaboración del queso Cotija se utiliza leche y fresca, a la cual se le adiciona únicamente cuajo y sal. La pasta que se obtiene se deposita sobre dos mantas de henequén contenidas dentro del aro que le da su forma cilíndrica y de gran formato de 20 kilogramos en promedio, derivados de los 200 litro de leche con que se elabora cada pieza de este tradicional queso.

Durante los primeros tres meses de vida, las piezas de queso permanecen en los ranchos de la región, bajo el cuidado y atención de los productores, lo que le da al queso su corteza rugosa y gruesa, de color que varía del amarillo paja al ocre; textura firme, su sabor pronunciado y aroma refinado. Al tacto la pasta es dura y homogénea; al corte presenta una estructura que puede ir de compacta a granulosa; al paladar es cremoso y de buen sabor (Figura 2) (Chombo, 2003).



**Figura 2:** *Proceso de elaboración del queso Cotija en la región de origen.*

#### **2.4.4. Características del queso Cotija**

El queso se produce de manera natural, es decir, a partir de leche, sin la adición de compuestos químicos o análogos de leche u otros ingredientes que no sean sal y cuajo, deberá estar libre de microorganismos patógenos y solo podrán añadirse cultivos bacterianos que refuercen su inocuidad, así mismo estará libre de compuestos químicos ajenos a su naturaleza como lo son pesticidas, fertilizantes y detergentes.

Su composición básica es: Humedad máxima de 36%, grasa mínima 23% y proteína mínima 25%, y el Queso Cotija Región de Origen debe tener un mínimo de tres meses de vida dentro del área geográfica que protege la marca considerando el inicio de su vida a partir del retiro de la prensa. Este mantendrá su presentación de gran formato, cuyas dimensiones en promedio son 40cm de diámetro y 18 cm de altura, con un peso promedio de alrededor de 20 kilogramos (Álvarez *et al.*, 2004).

#### **2.4.5. Especificaciones del Queso Cotija**

Existen varias imitaciones del queso Cotija, imitaciones que se elaboran fuera de la zona delimitada en el marco de la MC y por lo cual, se encuentran cambios en la ganadería, alimentación, procedimiento de elaboración, producción anual, supresión de la fase de maduración, fabricación de quesos industrializados. Por lo cual, aunque a menudo tenga la misma forma y el mismo peso, es muy fácil de distinguir entre un queso Cotija y un queso tipo Cotija. También se produce queso tipo Cotija en los estados de Veracruz y de Chiapas (Barragán, 1997).

El queso tipo Cotija que se vende en supermercado, en porciones empacadas, se parece también a esos quesos, pero no al queso Cotija genuino. El aspecto, la textura y el sabor del queso Cotija no han sido realmente imitados. Y los habitantes de la región son capaces de distinguirlo. De hecho, los comerciantes generalmente diferencian el queso que denominan “de

tiempo de lluvia”, el queso Cotija, del queso que se produce todo el año (Barragán y Chávez, 1998).



**Figura 3:** *Diferentes tipos de quesos madurados (de la izquierda a la derecha: un queso tipo Cotija (artesanal), un queso Cotija, y un queso tipo Cotija (industrial)).*

Por lo cual un proceso de calificación comienza, para destacar la diferenciación entre el queso original y sus imitaciones, con la idea de preservar y valorizarlo. Es a partir de esta meta que se diseñaron las reglas de uso para el queso “Cotija región de origen”. Esas reglas de uso se basan en un principio: “la costumbre convertida en reglas”, “la tradición hecha regla”. Por la complejidad del proceso de elaboración de reglas de uso y la dificultad para reunir a todos los productores, se encargaron de este proceso. Pero para no desviarse de la realidad, se basaron en este principio de formalizar por escrito lo que se hace desde generaciones en la sierra de Jalisco-Michoacán, a partir de los numerosos intercambios y trabajos de campo que realizaron. (Barragán y Chávez, 1998).

De acuerdo a la tradición en el proceso de elaboración del Queso Cotija se decidió incorporar prácticas destinadas a mejorar la inocuidad y la calidad (o más bien la regularidad de la calidad) del queso. Estas innovaciones son de hecho necesarias para poder comercializar un queso hecho con leche sin pasteurizar. El pliego de condiciones o reglas de uso de la MC “Cotija región de origen”, se basa en lo siguiente: uso de la marca colectiva, localización, manejo del ganado (en particular las cuestiones de control sanitario del ganado), leche, cuajo y sal, proceso de elaboración del queso, higiene, comercialización y sanciones (Barragán *et al.*, 2007).

Estas reglas muy específicas garantizan la producción de un queso original, muy anclado en su territorio y en las formas de reproducción de la economía y de la cultura ranchera de la región de origen Jalisco-Michoacán. Esta originalidad proviene principalmente de la calidad organoléptica del queso (vinculada principalmente a la composición de la leche, al proceso de maduración y a la biota láctica local), una composición no engañosa (ya que sólo entran en el proceso de fabricación leche fluida, sal y cuajo), combinadas con la garantía de inocuidad del producto (Barragán *et al.*, 2007).

**Cuadro 1:** *Especificaciones y características distintivas del queso Cotija.*

---

**Elaboración artesanal**

---

Región de origen sierra Jalisco-Michoacán

Producción limitada a la temporada de lluvias

Ganado sano certificado, alimentado en el libre pastoreo

Leche fresca, , sin pasteurizar

Cuajo natural

Sal artesanal

Añejamiento de 3-12 meses

---

**2.4.6. Marca Colectiva (MC) queso Cotija región de origen**

La MC es un signo distintivo que sirve para diferenciar en el mercado los productos o servicios de los miembros de una asociación o sociedad con respecto de los productos o servicios de terceros. Dicha marca o signo se coloca en el producto para identificar que ha sido elaborado por un grupo específico de personas de una región determinada (IMPI, 2007).

La MC representa una protección oficial y con ella una ventaja competitiva del producto en el mercado, dando garantía de autenticidad y calidad a los consumidores y un sobreprecio justificado por la especificaciones geográficas y culturales incorporadas en el producto por las condiciones precarias en que estos producen, y por el apego a determinadas normas de calidad y por la preservación del medio ambiente (IMPI, 2006).

#### 2.4.7. Denominación de origen

Es el nombre de una región, comarca, localidad o lugar determinado que haya sido reconocido administrativamente y que cumplan con las siguientes condiciones: comunica con irregularidad (dado el carácter de espontaneidad con el que acontece) aromas deseables al producto (Fernández, 2000).

- Haber sido elaborado en la región, comarca, localidad o lugar determinados materias primas procedente de los mismos
- Disfrutar de un elevado prestigio en el tráfico comercial en atención a su origen.
- Que su calidad y características se deban fundamental o exclusivamente al medio geográfico que incluye los factores naturales y humanos.
- Además, haber transcurrido, al menos, cinco años desde su reconocimiento como calidad con indicación geográfica.

#### 2.5. Peligros asociados al consumo de quesos

Los lácteos son considerados alimentos de alto riesgo ya que en algunos países como el nuestro son elaborados de manera artesanal, por lo cual, en algunas ocasiones no cuentan con un control de calidad que garantice su inocuidad. (Barrios, 2006).

Son diversos los agentes patógenos para el ser humano que pueden encontrarse en la leche, en quesos o en los productos lácteos, tanto químicos, biológicos o físicos. No obstante, la gama de productos lácteos implicados en los brotes de toxiinfecciones alimentarias es muy diversa, siendo difícil establecer un patrón concreto. El consumo de leche no pasteurizada, pero también de leche pasteurizada, incluso Ultra High Temperature (UHT). La presencia de agentes patógenos ha sido demostrada por diferentes estudios. (Roig 2011).

Entre los agentes biológicos cabe citar bacterias como *Mycobacterium avium paratuberculosis*, protozoo *Cryptosporium parvum*. También se han reportado estudios de casos de brotes de *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Salmonella*. (Ponce, 2005).

De entre los diversos peligros químicos a considerar, los más frecuentes suelen ser los residuos de sustancias farmacológicas, principalmente antimicrobianos, que se administran a los animales sin guardar el necesario período de espera, metales pesados debido a la región donde se alimenta el ganado o utensilios empleados para la elaboración de los productos, así como la aparición de residuos de plaguicidas y/o hormonas del crecimiento. (Roig, 2011).

En la mayoría de los quesos artesanales que se elaboran con leche cruda, se elaboran con leche sin pasteurizar, para promover estos productos es necesario tener prácticas de manufactura estandarizadas y conocer las características finales del producto que puede lograr sólo después de una comprensiva e integrada caracterización de los perfiles químicos, microbiológicos y sensoriales (Caldas y Ogeerally, 2008).

### **2.5.1. Peligro**

Peligro es el riesgo (contingencia o probabilidad de que ocurra un daño) inminente de que ocurra un daño a la salud del consumidor. En el caso de la inocuidad de alimentos este mal o daño está vinculado con el perjuicio que pueda ocurrirle al consumidor (en su salud o aún en su vida). Por lo cual, un peligro también se considera como la propiedad biológica, química o física, causante de que un alimento no sea inocuo para el consumo. Para que un peligro sea incluido como tal es necesario su eliminación o reducción a niveles aceptables para la producción de alimentos inocuos. Para la Food and Agriculture Organization of the United Nations /Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) peligro se define como el agente biológico, químico o físico o propiedad del alimento que puede tener efectos adversos para la salud (Bertullo y Pollak, 2001).

### 2.5.2. Clasificación de peligros

- **Peligros físicos:** están constituidos por objetos extraños tales como: restos de metal, vidrio, madera o cualquier otro objeto que pueda causar daño en el consumidor (lesiones en boca, dientes o en otras partes del tubo digestivo) (Bertullo y Pollak, 2001).
- **Peligros biológicos:** están representados por micro-organismos o parásitos presentes en el alimento y que potencialmente pueden alterar la inocuidad del mismo. Comprende toda contaminación, proliferación o supervivencia de microorganismos en los alimentos, tales como bacterias, virus o parásitos, así también como la persistencia de sus toxinas o sus productos metabólicos en los alimentos (Bertullo y Pollak, 2001).
- **Peligros químicos** son toda sustancia tal como plaguicida, desinfectante, aditivos alimentarios que en exceso sean tóxicos, herbicidas, contaminantes inorgánica, antibiótica o anabolizante, así como lubricantes, pinturas, que por accidente puedan llegar a contaminar el alimento (Bertullo y Pollak, 2001).

Los peligros pueden introducirse en la cadena alimentaria desde las primeras fases, en la explotación agrícola, y pueden continuar introduciéndose y agravándose en cualquiera de los puntos de la cadena (Bertullo y Pollak, 2001).

### 2.5.3. Peligros químicos

Los peligros químicos son sustancias o contaminantes indeseables añadidos a un alimento de manera natural intencional o accidental, que resultan potencialmente perjudiciales a corto o largo plazo para el consumidor. (FAO/OMS, 1995).

Los peligros químicos son una fuente importante de enfermedades transmitidas por los alimentos, aunque muchas veces es difícil asociar los efectos con un alimento determinado y pueden producirse mucho tiempo después del consumo. En particular, desde hace tiempo hay preocupaciones acerca de la inocuidad química de los alimentos, debido a la utilización

inadecuada de antimicrobianos, plaguicidas durante la producción y almacenamiento de los alimentos, cuyo resultado es la presencia de residuos no deseables. De la misma manera, los contaminantes de metales pesados pueden introducirse en los alimentos a través del suelo del agua o del material en contacto con los alimentos, y lo mismo ocurre con otros contaminantes ambientales, como los bifenilos policlorados. Todos pueden dar lugar a enfermedades agudas o crónicas. La contaminación por estos residuos presentes en los alimentos ha puesto de manifiesto tanto la importancia de controlar toda la cadena alimentaria como las preocupaciones internacionales acerca de los sistemas de inocuidad de los alimentos. La utilización inadecuada e ilícita de los aditivos alimentarios crea sus propios problemas en este terreno, todo ello ha provocado una preocupación todavía mayor en la opinión pública. (FAO/OMS, 2003).

Si bien la importancia de los peligros químicos es un hecho reconocido, la comprensión de los efectos de las sustancias químicas en las alergias e intolerancias alimentarias, la perturbación del sistema endocrino, la inmunotoxicidad y ciertas formas de cáncer es incompleta. Es importante generar más investigación para determinar el papel de las sustancias químicas de los alimentos en la etiología de estas enfermedades. En los países en desarrollo, se dispone de poca información fiable sobre la exposición de la población a las sustancias químicas de los alimentos (FAO/OMS, 2003).

La contaminación por peligros químicos se puede producir en cualquier etapa de la producción, desde el cultivo del vegetal o la cría de animales hasta el consumo final. Los peligros químicos representan una elevada persistencia, por lo que tienden a bioacumularse, lo que significa un incremento de su concentración a lo largo de la cadena trófica. Es por esto, que los problemas ligados a la contaminación por peligros químicos son generalmente de carácter crónico, aunque también ingestas altas de estos contaminantes han sido asociadas con casos agudos de enfermedades de origen alimentario (Rimblas *et al.*, 2004).

Los efectos de los peligros químicos dependerá de una serie de factores exógenos (naturaleza de las sustancias químicas, concentración, fuentes de exposición, etc.) y endógenos (características del individuo, su interacción con el medio ambiente, etc.). Hay que destacar que

los grupos de riesgo más susceptibles a estos contaminantes son los niños, mujeres gestantes y aquellos individuos que padezcan enfermedades crónicas (Rimblas *et al.*, 2004).

## **2.6. Antimicrobianos**

### **2.6.1. Generalidades**

Los antimicrobianos son aquellas sustancias que tienen acción bacteriostática o bactericida, fungistática o fungicida, constituyen una clase de agentes quimioterapéuticos producidos a partir de diferentes especies de microorganismos que suprimen el crecimiento de otros, llegando, a veces, a destruirlos, siendo una clase especial que se distinguen por ser sustancias naturales (productos de la actividad microbiana), más que sustancias químicas sintéticas (productos de la actividad humana) (Pérez, 2005).

El uso de antimicrobianos, sin lugar a dudas, ha sido una de las principales herramientas en el control y erradicación de numerosas enfermedades infecciosas de origen bacteriano en nuestros animales de abasto y compañía. Sin embargo su empleo requiere necesariamente la preocupación y supervisión de los médicos veterinarios, Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (World Organization for Animal Health (OIE)) para que no queden concentraciones de estos antimicrobianos en leche, quesos, carne y otros productos de origen animal, con el fin de que la población humana reciba un alimento de buena calidad exenta de residuos de estas antimicrobianos (Martín, 1998).

La presencia de antimicrobianos en alimentos, es desde hace tiempo preocupación de productores, técnicos, científicos, autoridades y especialmente, los consumidores. Su importancia, su incidencia y forma de evitarlos son temas de permanente análisis. La leche y los productos lácteos como son los quesos son uno de los alimentos con mayor peligro de contaminación debido a la elevada presión quimioterapéutica/antiséptica a que las vacas están sometidas. Por otro lado, los antimicrobianos representan una herramienta fundamental de manejo en los establecimientos lecheros por lo que su utilización puede dar lugar a la presencia de residuos (Thomas *et al.*, 2008).

### 2.6.2. Residuos de antimicrobianos

El término residuos de antimicrobianos, se refiere a pequeñas concentraciones de estos fármacos que quedan en leche, queso o carne después de finalizado un tratamiento, independiente del tipo de presentación, de la preparación de antimicrobianos, utilizados (solución acuosa, pomada, preparación de acción prolongada) y el tipo de administración (vía intramamaria, intrauterina, intramuscular o parenteral) (Pérez, 2005).

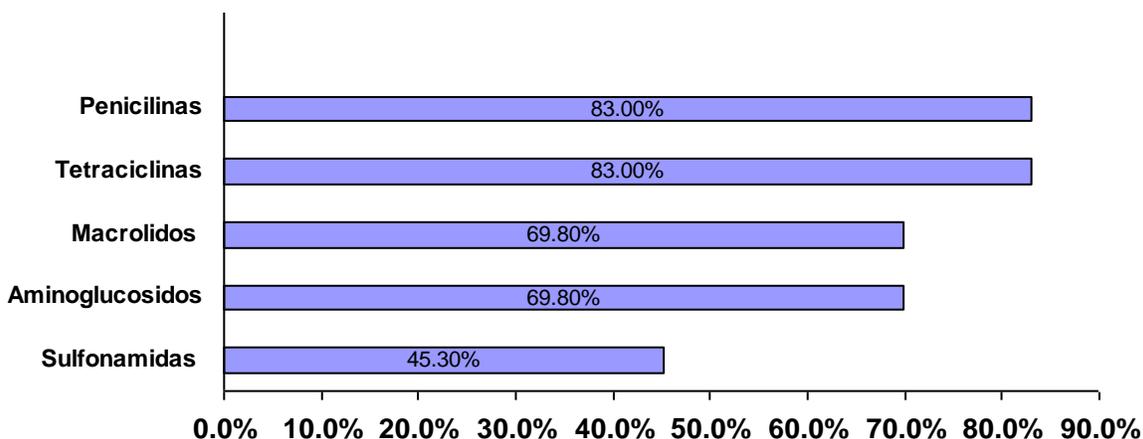
Los residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen animal, son los compuestos que permanecen en el organismo animal como consecuencia de un tratamiento, incluyendo el principio activo original y/o los productos de biotransformación (metabolitos). La presencia de estos residuos, en mayor o menor proporción, está relacionada con: la naturaleza del producto, la dosis utilizada, la forma de aplicación y el tiempo transcurrido desde su aplicación hasta la faena (en el caso de la carne y las vísceras) o hasta la recolección del producto (cuando se trata de leche y huevos) (Fernández, 2003).

Los países que controlan la presencia de residuos de antimicrobianos, tienen normas sobre las cantidades máximas permitidas en leche, sin problemas para el consumidor. A estas concentraciones, habitualmente se les conoce como niveles de tolerancia, los cuales están basados en los antecedentes de toxicidad para cada antimicrobiano en particular (Martín, 1998).

Al respecto, es importante mencionar que la OMS y OIE, han elaborado una lista de los niveles de tolerancia permitidos en leche y otros productos alimenticios, para los antimicrobianos y sulfas de uso habitual en medicina veterinaria (Pérez *et al*, 2001).

Entre los residuos de antimicrobianos más comunes en leche y quesos se encuentran las penicilina, tetraciclina macrólidos, aminoglucósidos, cloramfenicol, sulfonamidas y nitrofuranos (Errecalde, 2004).

**Figura 4:** Antimicrobianos más comunes en leche y quesos (antimicrobianos veterinarios de importancia crítica) siglas en ingles VCIA (Veterinary Critically Important Antimicrobials). (OMS/OIE. 2006).



Por otro lado es importante destacar, que causan daños en la salud del consumidor y en la industria lechera y quesera, ya que si no se respetan los tiempos de eliminación, pueden aparecer en estos productos u otros derivados lácteos, indeseables desde el punto de vista toxicológico para el consumidor como tecnológico para el productor (Magariños, 2000).

### **2.6.3. Efectos de la presencia de residuos de antimicrobianos para la salud del consumidor y problemas en los procesos tecnológicos**

Los efectos de estos residuos pueden, desde ser nulos, si sus cantidades son ínfimas y son consumidos ocasionalmente, hasta tener consecuencias graves, si se ingieren diariamente y se acumulan en los tejidos (Rey y Silvestre, 2001).

Los efectos de los residuos no se manifiestan con un problema de toxicidad aguda, nadie se enfermará por consumir «algunas veces» un alimento animal con residuos de medicamentos. La manifestación es a largo plazo, por la ingestión de pequeñas cantidades de residuos en forma continua y por períodos prolongados (Silvestre, 1995).

Por lo cual, estos efectos causados por los residuos de antimicrobianos pueden englobarse en dos grandes grupos:

- **Efectos directos:** Son aquellos producidos por la utilización de antimicrobianos en condiciones terapéuticas. Se manifiestan dentro de amplias y por demás variadas formas clínicas: toxicidad en riñón, hígado, sangre, médula, oído, efectos teratogénicos, carcinogénicos y alergias graves.
- **Efectos indirectos:** Están representados por las formas de alergia y los fenómenos de resistencia bacteriana

Los antimicrobianos presentes en leche y quesos ocasionan graves y numerosos problemas para la salud del consumidor los cuales se centran fundamentalmente en los siguientes aspectos:

- Reacciones de hipersensibilidad,
- Efectos tóxicos específicos,
- Aparición de cepas resistentes y susceptibles de ser transmitidas al hombre
- Alteraciones de la flora intestinal,
- Desarrollo de microorganismos patógenos,
- Reducción de la síntesis de vitaminas.

La mayor información sobre reacciones de hipersensibilidad se refiere a las penicilinas naturales y semi-sintéticas, pues son los antimicrobianos de mayor uso tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. Se estima que alrededor de un 4 a un 7% de la población es hipersensible a la penicilina y basta que la persona entre en contacto con pequeñas concentraciones de este antimicrobiano, para manifestar reacciones que pueden ir desde una simple erupción en la piel, cursar con cuadros febriles, llegando incluso a provocar shock anafiláctico (Boggio y Litterio, 2010).

Además, para la industria láctea, se ve perjudicada provocando pérdidas en calidad y por ende económico, debido a los efectos de la presencia de residuos de antimicrobianos como pueden ser:

- Problemas en la acidificación,
- Problemas en la coagulación, como coagulación deficiente,
- Disminución de la retención de agua,
- Desarrollo de microorganismos indeseables,
- Alteración de las características normales del producto: cuerpo débil, textura blanda, sabor amargo (excesiva acción del cuajo), consistencia arenosa (yogurt), ya que los cultivos iniciadores empleados en la producción de derivados lácteos fermentados son extremadamente sensibles a bajas concentraciones de antimicrobianos en la leche.

Motivos por los cuales las industrias realizan rutinariamente un control interno, para separar la leche ausente de estos residuos y destinarla a la elaboración de quesos y otros productos lácteos (Magariños, 2000).

#### **2.6.4. Periodo de eliminación, resguardo o suspensión de ordeña**

La manera más simple de disminuir la incidencia de residuos es "respetando los tiempos de eliminación" que debe tener la leche, carne y otros tejidos provenientes de animales tratados con estos fármacos. Entendiéndose por este concepto el tiempo que transcurre entre la última administración de antimicrobianos o sulfas y el momento en que en la leche se encuentren concentraciones iguales a los niveles de tolerancia o inocuidad permitidos para el antimicrobiano en cuestión. Durante este lapso de tiempo que puede durar días e incluso semanas dependiendo del producto. Cabe mencionar que se ha comprobado que, en la determinación de estos períodos debe considerarse las características del vehículo en el cual va depositado el producto. Por tal razón, un mismo antimicrobiano, presente diferencias en los "tiempos de resguardo" recomendados por los laboratorios. Es necesario hacer un alcance sobre los antimicrobianos de larga acción o liberación retardada; si bien estos productos tienen la ventaja de facilitar el manejo

de los animales, ya que se han diseñado con el fin de disminuir la frecuencia de dosificación, manteniendo niveles sanguíneos por un mayor período (habitualmente se administran en dosis únicas), tienen el inconveniente que los "períodos de eliminación" para estos productos son más prolongados. Por otro lado, el productor debe estar consiente que respetando estas indicaciones, entregarán un producto sano, sin ningún riesgo para el consumidor. Además, debe recordar que el factor de dilución, es decir mezclar leche de un animal tratado con estos fármacos con leche exenta de ellos, no influye en la determinación de concentraciones residuales, pues se ha comprobado que la leche de una vaca tratada es capaz de contaminar 10.000 litros de leche (Boggio y Litterio, 2010).

En países de la Comunidad Europea, Estados Unidos y otros de gran desarrollo de la industria lechera, se han promulgado diversas leyes que regulan y norman sobre el uso de antimicrobianos, controlando los niveles máximos permitidos, los cuales varían de un país a otro, pero siempre dentro de los márgenes recomendados por la OMS. Así mismo, existen organismos de control que revisan continuamente estos aspectos que contribuyen a una producción de leche sin riesgo para el consumidor (Roig, 2001).

#### **2.6.5. Brotes asociados al consumo de quesos**

El conocimiento de los peligros químicos asociados a los productos lácteos y quesos, permiten desarrollar medidas para su prevención.

El consumo de productos elaborados a partir de leche no pasteurizada es un factor en la adquisición de enfermedad ligada al consumo de estos alimentos con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque estos también pueden ocasionar toxiinfecciones por una inadecuada pasteurización de la leche o porque el queso hecho de leche pasteurizada se contamina posteriormente con microorganismos patógenos (Olsen *et al.*, 2000).

## 2.7. Metales pesados

### 2.7.1. Generalidades

Los metales pesados son los elementos químicos situados a la izquierda y centro de la tabla del sistema periódico. Se clasifican en metales alcalinos y alcalinotérreos de los grupos I y II A, los metales de transición y los grupos III y IV A. Algunos elementos intermedios como el Arsénico (As) del grupo VA se estudian habitualmente junto a los metales. En todos estos grupos se encuentran metales muy relevantes desde el punto de vista toxicológico (Ferrer, 2003).

Otra definición de estos es, elemento químico metálico que tenga una relativa densidad alta (elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63.55 Cobre (Cu) y 200.59 Mercurio (Hg), y que presentan un peso específico superior a 4 ( $\text{g.cm}^{-3}$ ) y sea tóxico o venenoso en concentraciones bajas (Ferrer, 2003).

Los ejemplos de metales pesados incluyen el Hg, Cadmio (Cd) el As, el Cromo (Cr) y el Plomo (Pb) siendo estos metales considerados los más reconocidos a nivel mundial por ser potencialmente tóxicos para el organismo humano, por los cuadros clínicos crónicos que producen, por su poder acumulativo y la gran afinidad por grupos biológicos endógenos como son los grupos sulfhídricos presentes en gran cantidad en los sistemas enzimáticos (Ferrer, 2003).

Sus características químicas se basan en su estructura electrónica que condiciona las preferencias de enlace en que predominan el enlace metálico que se establece entre átomos del mismo elemento, caracterizado por la formación de estructuras cristalinas en que cada átomo comparte los electrones de muchos de sus vecinos y el enlace iónico, sobre todo entre los metales alcalinos y alcalinotérreos y los no metales. Así, los elementos metálicos dan lugar a diferentes tipos de compuestos:

- Metales en estado elemental.
- Compuestos inorgánicos: halogenuros, hidroxilos, oxoácidos.
- Compuestos orgánicos: alquilos, acetatos, fenilos.

En un grado pequeño se incorporan a nuestros cuerpos vía el alimento, el agua potable y el aire. Algunos metales pesados (Cu, Se (Selenio), Zn (Zinc) son esenciales denominados oligoelementos para mantener el metabolismo del cuerpo humano. Sin embargo, en concentraciones más altas pueden conducir a una toxicidad (Nordberg, 2001).

Los oligoelementos son considerados imprescindibles para el correcto funcionamiento del organismo en concentraciones traza son metálicos: Hierro (Fe), Cu, Manganeseo (Mn), Zn, Cobalto (Co), Molibdeno (Mb), Se, Cr, Estaño (Sn), Vanadio (Va), Silicio (Si) y Níquel (Ni). Algunos de los alcalinos (Sodio (Na), Potasio (K) y alcalinotérreos (Calcio (Ca) y el Magnesio (Mg)) son cationes de extraordinaria importancia para el correcto funcionamiento celular y se encuentran en alta concentración. Una de las principales funciones de los oligoelementos metálicos es formar parte de las denominadas metaloenzimas en las que intervienen como coenzimas. En algunos casos, como el Zn, estabilizan estados intermedios. En otros como el Fe o el Cu en la citocromooxidasa actúan en reacciones redox como intercambiadores de electrones (Mathews y Van, 1998).

### **2.7.2. Fuentes de exposición**

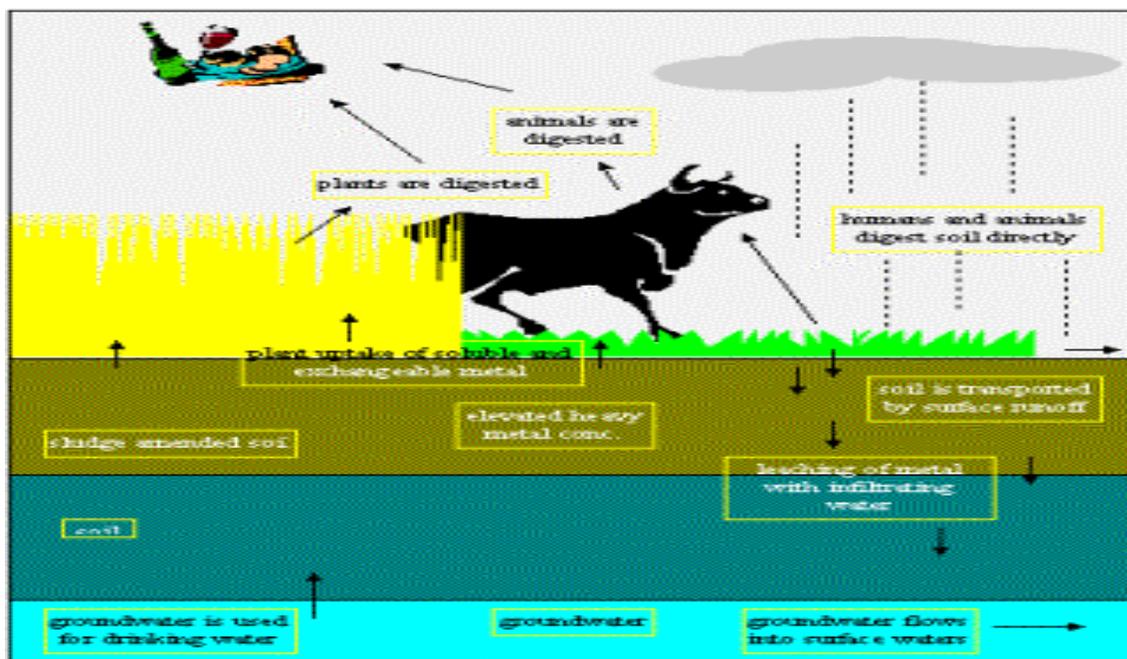
En la actualidad las fuentes de exposición a estas sustancias se han ampliado mucho en relación con la actividad agrícola e industrial. Para OMS los residuos de metales pesados se encuentran entre los principales problemas sanitarios que pueden tener los alimentos, considerando que estos pueden tener su origen o parte de su origen en la alimentación de los productos animales para consumo humano (FAO/OMS, 2000).

La Comisión conjunta FAO/OMS del Codex Alimentarius ha propuesto limitar los niveles máximos de todos estos peligros en algunos los alimentos. Los metales pesados encontrados en alimentos de origen animal provienen de diversas fuentes, las más importantes son: el suelo contaminado en el que se producen los alimentos para el hombre y los animales los lodos residuales, los fertilizantes químicos y plaguicidas empleados en agricultura, el uso de materiales durante el ordeño, almacenamiento y transporte de la leche, así como del agua que

ingieren los bovinos y las características particulares de ciertos terrenos, son las principales vías de entrada en la cadena alimenticia y/o acumulados por los animales. Para asegurar que las materias primas y piensos utilizados en alimentación animal no supongan un riesgo para el consumidor, es necesario implementar sistemas de control de puntos críticos o incluso planes de muestreo que verifiquen el cumplimiento de la legislación vigente. (FAO/OMS, 2000).

La contaminación de metales pesados en los alimentos es abiótica, debido a que se deriva de la presencia de sustancias químicas. (Gil, 2010).

La Association of American Feed Control Officials (AAFCO) clasifica los metales en altamente tóxicos, tóxicos, moderadamente tóxicos y ligeramente tóxicos y da unos valores máximos recomendables, que son en general bastante elevados. La Unión Europea, la FAO y OMS cuentan con una legislación que fija valores máximos para metales pesados en alimentación animal. (AAFCO 1996).



**Figura 5:** Diagrama del camino que siguen metales pesados desde su fuente primaria de contaminación hasta que ser ingeridos.

### 2.7.3. Toxicidad

Su toxicidad está caracterizada por el elemento metálico en cuestión pero se ve modificada por el tipo de compuesto, orgánico o inorgánico y sus características de hidro o liposolubilidad, que determina su toxicocinética y por tanto sus posibilidades de alcanzar sus dianas. Las biomoléculas más afectadas por los metales son las proteínas con actividad enzimática por lo que su patología es multisistema. La toxicidad por metal pesado podría resultar, de la contaminación del agua potable, las altas concentraciones en el aire cerca de fuentes de la emisión, o producto vía la cadena de alimento. Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse. La bioacumulación significa un aumento en la concentración de un producto químico en un organismo biológico en un cierto plazo, comparada a la concentración del producto químico en el ambiente, agua, los alimentos o el ambiente contaminados (Ferrer, 2003).

Los principales sistemas afectados son el gastrointestinal, neurológico central y periférico, hemático y renal. Algunos de los compuestos metálicos son carcinógenos. Los metales se benefician de un tratamiento condicionado por su reactividad química. Así también, las dianas de toxicidad de los metales son proteínas, muchas de ellas con actividad enzimática, afectando a diversos procesos bioquímicos, membranas celulares y orgánulos. Los efectos tóxicos de los metales se ejercen, salvo pocas excepciones, por interacción entre el ión metálico libre y la diana. Son tóxicos eminentemente lesionales que afectan gravemente a funciones celulares fundamentales para su supervivencia por mecanismos complejos, no siempre bien conocidos. Entre ellos destacan interacción con metales esenciales por similitud electrónica. Formación de complejos metal-proteína con inactivación de su función. Inhibición enzimática de proteínas con grupos sulfhídrico (SH). Afectación de orgánulos celulares: mitocondrias, lisosomas, microtúbulos. Pueden ser inactivados y eliminados mediante la administración de sustancias quelantes que producen con ellos moléculas complejas, atóxicas y excretables (Ferrer, 2003).

La vida media de los compuestos metálicos en el organismo es variable pero tiende a ser prolongada debido a su afinidad y acumulación en el hueso. Se acumulan, por ejemplo el Pb y el

Cd con vidas medias superiores a los 20 años, mientras que otros como el As o el Cr no se acumulan y tienen vidas medias de días, aunque pueden detectarse durante más tiempo en lugares considerados de eliminación como pelo y uñas. La sangre, orina y pelo son las muestras biológicas más empleadas para medir una exposición o dosis. Las dos primeras para determinar una exposición reciente y la última para determinar una exposición anterior y su evolución en el tiempo. Otro posible efecto a largo plazo es la carcinogénesis. La International Agency for Research on Cancer (IARC) ha incluido en el Grupo I (Agentes carcinógenos en humanos) a: arsénico, berilio, cadmio, cromo (VI) y níquel (Ferrer, 2003).

#### **2.7.4. Efectos a la salud del consumidor**

##### **Arsénico (As)**

Es un metaloide, es decir, con propiedades intermedias entre metales y no metales por ello forma aleaciones con metales, pero también enlaces covalentes con el carbono, hidrógeno y oxígeno. Forma compuestos trivalentes inorgánicos (trióxido arsenioso, arsenito de Na), y orgánicos (arsenamina) y pentavalentes inorgánicos (pentaóxido arsénico, arseniato de Pb, ácido arsénico). En la naturaleza está ampliamente distribuido en una serie de minerales como compuestos de Cu, Ni y Fe y sulfuro y óxido de arsénico. En el agua se suele encontrar en forma de arsenato o arsenito, ambas muy hidrosolubles. Por su alta toxicidad, ubicua presencia y propiedades organolépticas ha representado un papel central en la historia de la toxicología. Debido a que su uso ha disminuido mucho en los últimos años, el número de intoxicaciones y envenenamientos también se ha reducido considerablemente en los países desarrollados. Sin embargo, el consumo de agua de pozo con altas concentraciones de arsénico es un problema sanitario muy grave en algunos países como India. Los compuestos del arsénico se han empleado como plaguicidas en la agricultura, como conservantes de la madera y como aditivos alimentarios para el ganado, en la industria de vidrio y cerámica, en aleaciones de Cu y Pb y como medicamentos. Los alimentos marinos, ricos en As, son una fuente de cierta importancia en la dieta. La combustión de carbón y la fundición de metales son las principales fuentes de As en el aire (Manahan, 2007)

### **Cuadro clínico**

La toxicidad del arsénico depende de su estado de oxidación y su solubilidad. El As pentavalente es 5-10 veces menos tóxico que el trivalente y los derivados orgánicos son menos tóxicos que los inorgánicos. La dosis letal oral probable en humanos de trióxido de arsénico está entre 10 y 300 mg. La concentración considerada normal en sangre es inferior a 5 µg/l. La OMS fija el límite máximo del As en agua en 10 µg/l, aunque es frecuente que el agua subterránea exceda mucho esta concentración. El As se absorbe por todas las vías con la eficacia suficiente para producir toxicidad aunque la preferente es la vía digestiva con una eficacia superior al 90%. A través de la piel intacta la absorción es escasa aunque se facilita con la irritación que la propia sustancia produce. En la sangre se encuentra en el interior de los hematíes y unido a las proteínas plasmáticas. El aclaramiento desde la sangre se produce en tres fases: la primera rápida, con una desaparición del 90% en 2-3 h la segunda, de hasta 7 días y la tercera, más lenta (Manahan, 2007).

Tras una dosis aguda se produce una distribución a todos los órganos con una mayor concentración en hígado y riñón. Tras exposición crónica se alcanzan altas concentraciones en piel, pelo y uñas por su rico contenido en cisteínas. La vía metabólica de las formas inorgánicas es la metilación mediante metiltransferasas produciéndose ácido metilarsónico y dimetilarsínico. La forma pentavalente debe ser primero reducida a trivalente. La principal ruta de eliminación es la orina, y una pequeña cantidad lo hace por las heces, bilis, sudor, células descamadas, pelo y leche. La exposición al As inorgánico puede causar varios efectos sobre la salud, como es irritación del estómago e intestinos, disminución en la producción de glóbulos rojos y blancos, cambios en la piel, e irritación de los pulmones. Es sugerido que la toma de significantes cantidades de As inorgánico puede intensificar las posibilidades de desarrollar cáncer, especialmente las posibilidades de desarrollo de cáncer de piel, pulmón, hígado, linfa. A exposiciones muy altas de As inorgánico puede causar infertilidad y abortos en mujeres, puede causar perturbación de la piel, pérdida de la resistencia a infecciones, perturbación en el corazón y daño del cerebro tanto en hombres como en mujeres. Finalmente, el As inorgánico puede dañar el ADN. El Arsénico orgánico no puede causar cáncer, ni tampoco daño al ADN. Pero

exposiciones a dosis elevadas puede causar ciertos efectos sobre la salud humana, como es lesión de nervios y dolores de estómago (Manahan, 2007).

### **Plomo (Pb)**

El Pb ocurre de forma natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones que son encontradas en el ambiente son el resultado de las actividades humanas. Debido a la aplicación del Pb en gasolinas un ciclo no natural del Pb tiene lugar. En los motores de los coches el Pb es quemado, eso genera sales de Pb (cloruros, bromuros, óxidos) se originarán. Estas sales de Pb entran en el ambiente a través de los tubos de escape de los coches. Las partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la atmósfera. Parte de este Pb caerá de nuevo sobre la tierra cuando llueva. El ciclo del Pb causado por la producción humana está mucho más extendido que el ciclo natural. Este ha causado contaminación por Pb haciéndolo en un tema mundial no sólo la gasolina con Pb causa concentración de Pb en el ambiente. Otras actividades humanas, como la combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos, también contribuyen. El Pb puede terminar en el agua y suelos a través de la corrosión de las tuberías de Plomo en los sistemas de transportes y a través de la corrosión de pinturas que lo contenían. El Pb es uno de los cuatro metales que tienen un mayor efecto dañino sobre la salud humana. Este puede entrar en el cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%). Las comidas como fruta, vegetales, carnes, granos, mariscos, refrescos y vino pueden contener cantidades significantes de Pb. El humo de los cigarrillos también contiene pequeñas cantidades de Pb (Rubio *et al.*, 2011).

### **Cuadro clínico**

Este puede principalmente hacer daño después de ser tomado en la comida, aire o agua. El Pb puede causar varios efectos no deseados, como son:

- Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia

- Incremento de la presión sanguínea
- Daño a los riñones
- Abortos y abortos sutiles
- Perturbación del sistema nervioso
- Daño al cerebro
- Disminución de la fertilidad del hombre a través del daño en el espermatozoide
- Disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños
- Perturbación en el comportamiento de los niños, como es agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad (Manahan, 2007).

### **Berilio (Be)**

El Be entra en el aire, agua y suelo como resultado de procesos naturales y actividades humanas. Esto ocurre de forma natural en el medio ambiente en pequeñas cantidades. El hombre añade berilio a través de la producción de metal y de la combustión de carbón y aceite. El Be existe en el aire en pequeñas partículas de polvo. Entra en el agua durante los procesos de desintegración de suelos y rocas. Las emisiones industriales añaden Be al aire y al agua residual y éstas serán posteriormente trasladadas al agua. Normalmente precipita en el sedimento. El Be como elemento químico está presente en los suelos en pequeñas cantidades de forma natural, pero las actividades humanas han incrementado esos niveles de Be. Es probable que el berilio no se mueva hacia la zona profunda del suelo y no entre en contacto con el agua subterránea. Ciertos elementos químicos reaccionan con el Be en el agua haciéndolo insoluble. Esto es bueno, porque la forma insoluble del Be en agua causa mucho menos daño a los organismos que la forma soluble. El Be no se acumula en los cuerpos de los peces, pero algunas frutas y vegetales como son los frijoles y las peras pueden contener niveles significantes de Be. Estos niveles pueden entrar en los animales cuando esos alimentos son consumidos, pero por suerte la mayoría de los animales excretan el Be rápidamente a través de los órganos excretores como el sistema urinario y fecal (Lauwerys, 1994).

### **Cuadro clínico**

El efecto más comúnmente conocido del berilio es la llamada beriliosis, una peligrosa y persistente enfermedad de los pulmones que puede incluso dañar otros órganos, como el corazón. Alrededor del 20% de todos los casos de beriliosis terminan con la muerte del enfermo. La causa de la beriliosis es la respiración de berilio en el lugar de trabajo. Las personas con el sistema inmune debilitado son más susceptibles a esta enfermedad. El berilio puede también causar reacciones alérgicas en personas que son hipersensibles a los productos químicos. Estas reacciones pueden ser muy agudas y pueden hacer que la persona caiga fuertemente enferma, una afección conocida como enfermedad crónica por berilio. Los síntomas son debilidad, cansancio y problemas respiratorios. Algunas personas que sufren de esta enfermedad pueden desarrollar anorexia y las manos y pies se les ponen azules. En algunas personas puede causar la muerte. El berilio puede también incrementar las posibilidades de desarrollar cáncer y daños en el ADN. Es un metal que puede ser muy perjudicial cuando es respirado por los humanos, porque puede dañar los pulmones y causar neumonía (Lauwerys, 1994).

### **Calcio (Ca)**

Es menos reactivo químicamente que los metales alcalinos y que los otros metales alcalinotérreos. La distribución del Ca es muy amplia se encuentra en casi todas las áreas terrestres del mundo. Este elemento es esencial para la vida de las plantas y animales, ya que está presente en el esqueleto de los animales, en los dientes, en la cáscara de los huevos, en el coral y en muchos suelos. El cloruro de calcio ( $\text{Cl}_2\text{Ca}$ ) se halla en el agua del mar en un 0.15%. Es comúnmente encontrado en la leche y productos lácteos, pero también en frutos secos, vegetales, etc. Es un componente esencial para la preservación del esqueleto y dientes de los humanos. También asiste en funciones de los nervios y musculares (Cuadrado, 2000).

### **Cuadro clínico**

El uso de más de 2,5 gramos de calcio por día sin una necesidad médica puede llevar a cabo el desarrollo de piedras en los riñones, esclerosis y problemas en los vasos sanguíneos. La falta de calcio es una de las causas principales de la osteoporosis. Las principales fuentes de calcio son los productos lácteos. Entre las fuentes de origen vegetal se encuentran vegetales verdes como el brécol y las espinacas. También contienen calcio la col, la coliflor, las habichuelas, las lentejas y las nueces (Cuadrado, 2000).

### **Cadmio (Cd)**

De forma natural grandes cantidades de Cd son liberadas al ambiente, sobre 25.000 toneladas al año. La mitad de este Cd es liberado en los ríos a través de la descomposición de rocas y algún Cd es liberado al aire a través de fuegos forestales y volcanes. El resto del Cd es liberado por las actividades humanas, como es la manufacturación. Las aguas residuales con Cd procedentes de las industrias mayoritariamente terminan en suelos. Las causas de estas corrientes de residuos son por ejemplo la producción de Zn, minerales de fosfato y las bioindustrias del estiércol. El Cd de las corrientes residuales puede también entrar en el aire a través de la quema de residuos urbanos y de la quema de combustibles fósiles. Debido a las regulaciones sólo una pequeña cantidad de Cd entra ahora en el agua a través del vertido de aguas residuales de casas o industrias. Otra fuente importante de emisión de Cd es la producción de fertilizantes fosfatados artificiales. Parte del Cd terminará en el suelo después de que el fertilizante es aplicado en las granjas y el resto del Cd terminará en las aguas superficiales cuando el residuo del fertilizante es vertido por las compañías productoras. El Cd puede ser transportado a grandes distancias cuando es absorbido por el lodo. Este lodo rico en Cd puede contaminar las aguas superficiales y los suelos. El Cd es fuertemente adsorbido por la materia orgánica del suelo. Cuando el Cd está presente en el suelo este puede ser extremadamente peligroso, y la toma a través de la comida puede incrementar. Los suelos que son ácidos aumentan la toma de Cd por las plantas. Esto es un daño potencial para los animales que dependen de las plantas para sobrevivir. Es un metal que

puede ser muy perjudicial cuando es respirado por los humanos, porque puede dañar los pulmones y causar neumonía (Lauwerys, 1994).

### **Cuadro clínico**

El Cd puede acumularse en sus cuerpos, especialmente cuando estos comen muchas plantas diferentes. Las vacas pueden tener grandes cantidades de Cadmio en sus riñones debido a esto (William, 2001).

Cuando las concentraciones de Cadmio en el suelo son altas esto puede influir en los procesos del suelo de microorganismos y amenazar a todo el ecosistema del suelo. La susceptibilidad algunas veces causa presión sanguínea alta, daños del hígado y daños en nervios y el cerebro.

Efectos sobre la salud que pueden ser causados por el Cadmio son:

- Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos
- Fractura de huesos
- Fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad
- Daño al sistema nervioso central
- Daño al sistema inmune
- Desordenes psicológicos

Posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer (Manahan, 2007).

### **Cobalto (Co)**

El Co es un elemento que ocurre de forma natural en el medio ambiente en el aire, agua, suelo, rocas, plantas y animales. Este puede también entrar en el aire y el agua y depositarse sobre la tierra a través del viento y el polvo y entrar en la superficie del agua a través de la escorrentía cuando el agua de lluvia corre a través del suelo y rocas que lo contienen. Los humanos lo añaden Co por liberación de pequeñas cantidades en la atmósfera por la combustión

de carbón y la minería, el procesado de minerales que contienen Co y la producción y uso de compuesto químicos con Co. El Co no puede ser destruido una vez que este ha entrado en el medioambiente. Puede reaccionar con otras partículas o ser absorbido por las partículas del suelo o el agua. El Co se mueve sólo bajo condiciones ácidas, pero al final la mayoría del Co terminará en el suelo y sedimentos los suelos que contienen muy bajas cantidades de Co puede que las plantas que crecen en ellos tengan una deficiencia de Co. Cuando los animales pastorean sobre estos suelos ellos sufren una carencia de Co, el cual es esencial para ellos. Por otra parte, los suelo cercanos a las minas y las fundiciones pueden contener muy altas cantidades de Co, así que la toma por los animales a través de comer las plantas puede causar efectos sobre la salud. El Co se acumulará en plantas y en cuerpos de animales que comen esas plantas, pero no es conocido que el Co sufra biomagnificación en la cadena alimentaria. Debido a que las frutas, vegetales, peces y otros animales que nosotros comemos usualmente no contienen altas cantidades de Co (Yépez, 2011).

El contacto cutáneo con suelo o agua que contenga Co puede también aumentar la exposición. El Co no está a menudo libremente disponible en el ambiente, pero cuando las partículas del Co no se unen a las partículas del suelo o sedimento la toma por las plantas y animales es mayor y la acumulación en plantas y animales puede ocurrir (Yépez, 2011).

### **Cuadro clínico**

Los efectos sobre la salud que son el resultado de la toma de altas concentraciones de Co son:

- Vómitos y náuseas
- Problemas de Visión
- Problemas de Corazón
- Daño del Tiroides

## **Cromo (Cr)**

Hay varias clases diferentes de Cr que difieren de sus efectos sobre los organismos. El Cr entra en el aire, agua y suelo en forma de Cr (III) y Cr (VI) a través de procesos naturales y actividades humanas. Las mayores actividades humanas que incrementan las concentraciones de Cr (III) son el acero, las peleterías y las industrias textiles, pintura y otras aplicaciones industriales del Cr (VI). Estas aplicaciones incrementarán las concentraciones del Cr en agua. A través de la combustión del carbón el Cr será también emitido al agua y eventualmente se disolverá. El Cr (III) es un elemento esencial para organismos que puede interferir en el metabolismo del azúcar y causar problemas de corazón, cuando la dosis es muy baja. El Cr (VI) es mayoritariamente tóxico para los organismo. Este puede alterar el material genético y causar cáncer. Los cultivos contienen sistemas para gestionar la toma de Cr para que esta sea lo suficientemente baja como para no causar cáncer. Pero cuando la cantidad de Cr en el suelo aumenta, esto puede aumentar las concentraciones en los cultivos. La acidificación del suelo puede también influir en la captación de Cr por los cultivos. Las plantas usualmente absorben sólo Cr (III). Esta clase de Cr probablemente es esencial, pero cuando las concentraciones exceden cierto valor, efectos negativos pueden ocurrir (William, 2001).

## **Cuadro clínico**

En animales el Cr puede causar problemas respiratorios, una baja disponibilidad puede dar lugar a contraer las enfermedades, defectos de nacimiento, infertilidad y formación de tumores. El Cr (VI) es un peligro para la salud de los humanos, mayoritariamente para la gente que trabaja en la industria del acero y textil. La gente que fuma tabaco también puede tener un alto grado de exposición al Cr. El Cr (VI) es conocido porque causa varios efectos sobre la salud. Cuando es un compuesto en los productos de la piel, puede causar reacciones alérgicas, como es erupciones cutáneas. Después de ser respirado el Cr (VI) puede causar irritación del nariz y sangrado de la nariz. Otros problemas de salud que son causadas por el Cr (VI) son:

- Erupciones cutáneas
- Malestar de estómago y úlceras

- Problemas respiratorios
- Debilitamiento del sistema inmune
- Daño en los riñones e hígado
- Alteración del material genético
- Cáncer de pulmón
- Muerte

### **Cobre (Cu)**

El Cu entra en el aire, mayoritariamente a través de la liberación durante la combustión de fuel. El Cu en el aire permanecerá por un período de tiempo eminente, antes de depositarse cuando empieza a llover. Este terminará mayormente en los suelos, como resultado los suelos pueden también contener grandes cantidades de Cu después de que esté sea depositado desde el aire. Ejemplo de fuentes naturales son las tormentas de polvo, descomposición de la vegetación, incendios forestales y aerosoles marinos. El Cu es a menudo encontrado cerca de minas, asentamientos industriales, vertederos y lugares de residuos. Cuando el Cu termina en el suelo este es fuertemente atado a la materia orgánica y minerales. Como resultado este no viaja muy lejos antes de ser liberado y es difícil que entre en el agua subterránea. En el agua superficial el Cu puede viajar largas distancias, tanto suspendido sobre las partículas de lodos como iones libres. El Cu no se rompe en el ambiente y por eso se puede acumular en plantas y animales cuando este es encontrado en suelos. El Cu puede seriamente influir en el proceso de ciertas tierras agrícolas, dependiendo de la acidez del suelo y la presencia de materia orgánica. A pesar de esto el estiércol que contiene Cu es todavía usado. Cuando los suelos de las granjas están contaminados con Cu, los animales pueden absorber concentraciones de Cu que dañan su salud. Principalmente las ovejas sufren un gran efecto por envenenamiento con Cu, debido a que los efectos se manifiestan a bajas concentraciones. El Cu es una substancia muy común que ocurre naturalmente y se extiende a través del ambiente a través de fenómenos naturales (William, 2001).

### **Cuadro clínico**

Exposiciones de largo periodo al Cu pueden irritar la nariz, la boca y los ojos y causar dolor de cabeza, de estómago, mareos, vómitos y diarreas. Una toma grande de Cu puede causar daño al hígado y los riñones e incluso la muerte. Si el Cu es cancerígeno no ha sido determinado aún. Hay artículos científicos que indican una unión entre exposiciones de largo término a elevadas concentraciones de Cu y una disminución de la inteligencia en adolescentes (William, 2001).

### **Hierro (Fe)**

El Fe puede ser encontrado en carne, productos integrales, patatas y vegetales. El cuerpo humano absorbe Fe de animales más rápido que el Fe de las plantas. El Fe es una parte esencial de la hemoglobina: el agente colorante rojo de la sangre que transporta el oxígeno a través de nuestros cuerpos (William, 2001).

### **Cuadro clínico**

Puede provocar conjuntivitis, coriorretinitis, y retinitis si contacta con los tejidos y permanece en ellos. La inhalación crónica de concentraciones excesivas de vapores o polvos de óxido de Fe puede resultar en el desarrollo de una neumoconiosis benigna, llamada sideriosis, que es observable como un cambio en los rayos X. Ningún daño físico de la función pulmonar se ha asociado con la sideriosis. La inhalación de concentraciones excesivas de óxido de Fe puede incrementar el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón en trabajadores expuestos a carcinógenos pulmonares. LD50 (oral, rata) =30 gm/kg. (LD50: Dosis Letal 50. Dosis individual de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal (William, 2001).

### **Litio (Li)**

El Li encabeza la familia de los metales alcalinos en la tabla periódica. En la naturaleza se encuentra como una mezcla de los isótopos  $Li_6$  y  $Li_7$ . Es el metal sólido más ligero, es blando, de bajo punto de fusión y reactivo. Muchas propiedades físicas y químicas son tan o más parecidas a las de los metales alcalinotérreos que a las de su grupo. El Li metálico reacciona con el Nitrógeno (N), el Oxígeno (O), y el vapor de agua en el aire. Consecuentemente, la superficie del Li se recubre de una mezcla de hidróxido de litio ( $Li_2OH$ ), carbonato de Li ( $Li_2CO_3$ ), y nitrato de litio ( $Li_3N$ ). El hidróxido de litio representa un peligro potencialmente significativo porque es extremadamente corrosivo. Se debe prestar especial atención a los organismos acuáticos.

### **Cuadro clínico**

Los efectos tóxicos del Li reflejan temblor, náusea, diarrea, visión borrosa, vértigo, confusión y en algunos hiperreflexia, complicaciones neurológicas más severas y eventualmente convulsiones, coma, arritmias cardíacas y muerte o daño neurológico permanente.

### **Magnesio (Mg)**

El Mg no ha sido testado, pero no es sospechoso de ser cancerígeno, mutagénico o teratógeno. La exposición a los vapores de óxido de Mg producidos por los trabajos de combustión, soldadura o fundición del metal pueden resultar en fiebres de vapores metálicos con los siguientes síntomas temporales: fiebre, escalofríos, náuseas, vómitos y dolores musculares. Estos se presentan normalmente de 4 a 12 horas después de la exposición y duran hasta 48 horas. Los vapores de óxido de Mg son un subproducto de la combustión del Mg.

## **Manganeso (Mn)**

Los compuestos del Mn existen de forma natural en el ambiente como sólidos en suelos y pequeñas partículas en el agua. Las partículas de Mn en el aire están presentes en las partículas de polvo. Estas usualmente se depositan en la tierra en unos pocos días. Los humanos aumentan las concentraciones de Mn en el aire por las actividades industriales y a través de la quema de productos fósiles. El Mn que deriva de las fuentes humanas puede también entrar en la superficie del agua, aguas subterráneas y aguas residuales. A través de la aplicación del Mn como pesticida el Mn entrará en el suelo (Nordberg, 2001).

### **Cuadro clínico**

Para los animales el Mn es un componente esencial sobre unas 36 enzimas que son usadas para el metabolismo de carbohidratos, proteínas y grasas. Cuando se exceden las dosis esenciales el Mn puede causar:

- disturbancias en los pulmones, hígado y vasculares,
- decremento de la presión sanguínea,
- fallos en el desarrollo de fetos de animales y daños cerebrales
- temblores y fallos en la coordinación
- desarrollo de tumores

Porque el Mn es un elemento esencial para la salud de los humanos la falta de este puede también causar efectos sobre la salud. Estos son los siguientes efectos:

- Engordar
- Intolerancia a la glucosa
- Coágulos de sangre
- Problemas de la piel
- Bajos niveles de colesterol
- Desorden del esqueleto

- Defectos de nacimiento
- Cambios en el color del pelo
- Síntomas neurológicos

### **Molibdeno (Mo)**

Basado en experimentación animal, el Mo y sus compuestos son altamente tóxicos. Se ha informado de alguna evidencia de disfunción hepática con hiperbilirubinemia en trabajadores crónicamente expuestos a una planta soviética de Mo y Cu. Además, se han encontrado signos de gota en trabajadores de fábricas y entre los habitantes de zonas de Armenia ricas en Mo. Las características principales fueron dolores de la articulación de las rodillas, manos, pies, deformidades en las articulaciones, eritemas, y edema de las zonas de articulación (William, 2001).

### **Níquel (Ni)**

El Ni es liberado al aire por las plantas de energía y las incineradoras de basuras. Este se depositará en el suelo o caerá después de reaccionar con las gotas de lluvia. Usualmente lleva un largo periodo de tiempo para que el Ni sea eliminado del aire. El Ni puede también terminar en la superficie del agua cuando es parte de las aguas residuales. La mayor parte de todos los compuestos del Ni que son liberados al ambiente se absorberán por los sedimentos o partículas del suelo y llegará a inmovilizarse. En suelos ácidos, el Ni se une para llegar a ser más móvil y a menudo alcanza el agua subterránea. No hay mucha más información disponible sobre los efectos del Ni sobre los organismos y los humanos. En pequeñas cantidades el Ni es esencial, pero cuando es tomado en muy altas cantidades este puede ser peligroso para la salud humana (William, 2001).

### **Cuadro clínico**

La toma de altas cantidades de Ni tienen las siguientes consecuencias:

- Elevadas probabilidades de desarrollar cáncer de pulmón, nariz, laringe y próstata.
- Enfermedades y mareos después de la exposición al gas de Ni.
- Embolia de pulmón.
- Fallos respiratorios.
- Defectos de nacimiento.
- Asma y bronquitis crónica.
- Reacciones alérgicas como son erupciones cutáneas, mayormente de las joyas.
- Desordenes del corazón.

### **Antimonio (Sb)**

El Sb se puede encontrar en los suelos, agua y aire en cantidades muy pequeñas. El Sb contamina principalmente los suelos. Pueden viajar grandes distancias con las aguas subterráneas hacia otros lugares y aguas superficiales. Las pruebas de laboratorio con ratas, conejos y conejillos de indias nos han mostrado que niveles relativamente altos de Sb pueden matar a pequeños animales. Las ratas pueden experimentar daños pulmonares, cardiacos, hepáticos y renales previos a la muerte. Los animales que respiran bajos niveles de Sb durante un largo periodo de tiempo pueden experimentar irritación ocular, pérdida de pelo y daños pulmonares. Todavía no ha podido ser totalmente especificado si el Sb produce cáncer o no. El Sb se da naturalmente en el medio ambiente (Nordberg, 2001).

### **Cuadro Clínico**

La exposición de los humanos al Sb puede tener lugar por medio de la respiración, del agua potable y de la comida que lo contenga, pero también por contacto cutáneo con tierra, agua y otras sustancias que lo contengan. Respirar Sb enlazado con hidrógeno en la fase gaseosa es lo

que produce principalmente los efectos sobre la salud. La exposición a cantidades relativamente altas de Sb ( $9 \text{ mg/m}^3$  de aire) durante un largo periodo de tiempo puede provocar irritación de los ojos, piel y pulmones. Si la exposición continúa se pueden producir efectos más graves, tales como enfermedades pulmonares, problemas de corazón, diarrea, vómitos severos y úlceras estomacales (Nordberg, 2001).

### **Selenio (Se)**

El Se se presenta naturalmente en el medio ambiente es liberado tanto a través de procesos naturales como de actividades humanas. En forma natural el Se como elemento no puede ser creado ni destruido, pero tiene la capacidad de cambiar de forma. Bajos niveles de Se pueden terminar en suelos o agua a través de la erosión de las rocas (William, 2001).

### **Cuadro clínico**

Existe evidencia de que el Se puede acumularse en los tejidos corporales de los organismos y puede ser transportada en la cadena alimenticia hacia niveles superiores. Normalmente esta biomagnificación de Se comienza cuando los animales ingieren muchas plantas que han estado absorbiendo enormes cantidades de Se, antes de la ingestión. Debido a la irrigación, las concentraciones de Se en la escorrentía tienden a ser muy altas en organismos acuáticos en muchas zonas. Cuando los animales absorben o acumulan concentraciones de Se extremadamente grandes, puede causar fallo reproductivo y defectos de nacimiento. Los humanos pueden estar expuestos al Se de varias formas diferentes. La exposición al Se tiene lugar bien a través de la comida o el agua, o cuando nos ponemos en contacto con tierra o aire que contiene altas concentraciones de Se. Esto no es muy sorprendente, porque el Se se da naturalmente en el medio ambiente de forma muy amplia y está muy extendido. La exposición al Se a través del aire suele ocurrir en el lugar de trabajo. Puede provocar mareos, fatiga e irritaciones de las membranas mucosas. Cuando la exposición es extremadamente elevada, puede ocurrir retención de líquido en los pulmones y bronquitis, pelo quebradizo y uñas deformadas, a

sarpullidos, calor, hinchamiento de la piel y dolores agudos. Cuando el Se acaba en los ojos las personas experimentan quemaduras, irritación y lagrimeo (William, 2001).

### **Estroncio (Sr)**

El Sr en su estado elemental ocurre de forma natural en muchos compartimentos del medio ambiente, incluyendo rocas, suelo, agua y aire. Los compuestos del Sr pueden moverse a través del medio ambiente con bastante facilidad, porque mucho de los compuestos son soluble en agua. El Sr está siempre presente en el aire como polvo, en un cierto nivel. Las concentraciones en el aire son incrementadas por las actividades humanas, como es la combustión de carbón y aceite partículas de polvo que contiene Sr precipitan en las aguas superficiales, en el suelo o en las superficies de las plantas en algún lugar. Cuando las partículas no precipitan estas volverán a caer a la tierra cuando llueve o nieve. Todo el Sr eventualmente terminará en los suelos o en los fondos de las masas de aguas, donde se mezcla con el Sr que está ya presente.

### **Cuadro clínico**

La gente puede estar expuesta a pequeños niveles de Sr por respirar aire o polvo, comer comida, beber agua, o por contacto con el suelo que contiene Sr. Es más probable para nosotros entrar en contacto con el Sr comiendo o bebiendo. La toma de alta concentraciones de Sr no es conocida generalmente como un gran peligro para la salud humana. En algún caso alguien experimenta una reacción alérgica hacia el Sr, pero no ha habido casos desde entonces. Para los niños una toma excesiva puede ser un riesgo para la salud, debido a que puede causar problemas en el crecimiento de los huesos.

### **Talio (Tl)**

El Tl es soluble en agua en parte y consecuentemente este puede esparcirse en el agua subterránea cuando los suelos contienen grandes cantidades de este. El Tl también puede esparcirse por la absorción del lodo. Hay indicadores de que el Tl es muy móvil en los suelos. El Tl es muy tóxico para las ratas y es aplicado como raticida por esta cualidad. El Tl también tiene efectos negativos sobre las plantas, como el cambio de color en las hojas y la disminución del crecimiento. Mamíferos, como los conejos, son susceptibles a los efectos tóxicos del Tl como los humanos. El Tl ocurre de forma natural en pequeñas cantidades. No es muy usado por los humanos, solamente en venenos de rata y como sustancias en las químicas. Estas aplicaciones pueden causar exposiciones para los humanos a sustancias del Tl (Sunderman, 2001).

### **Cuadro clínico**

El cuerpo humano absorbe el Tl muy eficientemente, especialmente a través de la piel, los órganos respiratorios y el tracto digestivo. El envenenamiento por Tl es mayormente causado por una toma accidental de veneno de rata, el cual contiene grandes cantidades de sulfato de Tl. Consecuentemente, dolores estomacales aparecerán y el sistema nervioso será dañado. En algunos casos los daños son irreversibles y la muerte sigue pronto. Cuando los humanos sobreviven al envenenamiento por Tl a menudo las consecuencias son la perturbación del sistema nervioso, así como son temblores, parálisis y cambios en el comportamiento que permanecerán para siempre. Debido a la acumulación de Tl en los cuerpos de los humanos se presentan efectos crónicos, como es cansancio, dolores de cabeza, depresiones, pérdida del apetito, dolor de piernas, pérdida del pelo y problemas en la vista (Sunderman, 2001).

### **Vanadio (V)**

El V puede ser encontrado en el ambiente, en algas, plantas, invertebrados, peces y muchas otras especies. En mejillones y cangrejos se acumula fuertemente, el cual puede ser acumulado en concentraciones de  $10^5$  a  $10^6$  veces mayores que las concentraciones que son

encontradas en el agua salada. El V causa la inhibición de ciertas enzimas de animales, lo cual tiene varios efectos neurológicos. Próximo a los efectos neurológicos el V puede causar desordenes respiratorios, parálisis y efectos negativos en el hígado y los riñones (Sunderman, 2001).

### **Cuadro clínico**

El V puede tener un número de efectos sobre la salud humana, cuando la toma es muy alta. Cuando el V es acumulado a través del aire, puede causar bronquitis y neumonía. Los efectos graves del V son irritación de pulmones, garganta, ojos y cavidades nasales. Otros efectos sobre la salud cuando se toma V son:

- Daño cardíaco y vascular.
- Inflamación del estómago e intestinos
- Daño en el sistema nervioso
- Sangrado del hígado y riñones
- Irritación de la piel
- Temblores severos y parálisis
- Sangrado de la nariz y dolor de cabeza
- Mareos
- Cambios de comportamiento

### **Zinc (Zn)**

El Zn ocurre de forma natural en el aire, agua y suelo, pero las concentraciones están aumentando por causas no naturales, debido a la adición de Zn a través de las actividades humanas. La mayoría del Zn es adicionado durante actividades industriales, como es la minería, la combustión de carbón y residuos y el procesado del acero. El agua es contaminada con Zn, debido a la presencia de grandes cantidades de Zn en las aguas residuales de plantas industriales estas aguas residuales no son depuradas satisfactoriamente. Una de las consecuencias es que los ríos están depositando fango contaminado con Zn en sus orillas (Sunderman, 2001).

### Cuadro clínico

El Zn es un elemento traza que es esencial para la salud humana. Cuando la gente absorbe demasiado poco Zn estos pueden experimentar una pérdida del apetito, disminución de la sensibilidad, el sabor y el olor. Pequeñas llagas, y erupciones cutáneas. La acumulación del Zn puede incluso producir defectos de nacimiento (William, 2001).

Rodríguez Sánchez en el 2003, menciona que se ha comprobado que la leche de bovinos que pastorean e ingieren agua a las orillas de lagos y ríos contaminados con desechos industriales y aguas negras contienen metales pesados como plomo, cadmio, mercurio y Zn en estos estudios se ha encontrado que la concentración de metales pesados ingeridos por las vacas tienen influencia sobre las concentraciones de dichos elementos en la leche, además demostraron que una parte de estos elementos son excretados en la leche, unidos a compuestos orgánicos, principalmente en las proteínas, mientras que otros se asocian a una baja porción de grasa (William, 2010).

**Cuadro 2:** Metales pesados LMP, DL<sub>50</sub>, fuentes de contaminación y toxicidad.

PARÁMETROS	LMP (mg/L mg/L)	FUENTE DE CONTAMINACION	CUADRO CLÍNICO
Aluminio	0,20 – 3.0	Abundante en la Tierra pero nunca se encuentra en forma libre en la naturaleza. Se halla ampliamente distribuido en las plantas y en casi todas las rocas.	La toma de Aluminio puede tener lugar a través de la comida, respirarlo y por contacto en la piel. La toma de concentraciones significantes de Aluminio puede causar un efecto serio en la salud como: Daño al sistema nervioso central, Demencia, Pérdida de la memoria, Apatía, Temblores severos
Arsénico	0,01- 0,05- 0.2	Plaguicidas en la agricultura, como conservantes de la madera y como aditivos alimentarios para el ganado, en la industria de vidrio y cerámica, en aleaciones de cobre y plomo y como medicamentos.	Irritación del estómago e intestinos, disminución en la producción de glóbulos rojos y blancos, cambios en la piel, e irritación de los pulmones. Posibilidades de desarrollo de cáncer de piel, pulmón, hígado, linfa. Puede causar infertilidad y abortos en mujeres, puede causar perturbación de la piel, pérdida de la resistencia a infecciones,

**Determinación de Peligros Químicos en Queso Cotija**

			perturbación en el corazón y daño del cerebro tanto en hombres como en mujeres. Finalmente, el Arsénico inorgánico puede dañar el ADN. Lesión de nervios y dolores de estómago.
Bario	0,70	Pueden ser suelos agua y en comida, como son los frutos secos, algas, pescados y ciertas plantas	Puede causar parálisis y en algunos casos incluso la muerte. Pequeñas cantidades de Bario soluble en agua puede causar en las personas dificultad al respirar, incremento de la presión sanguínea, aritmia, dolor de estómago, debilidad en los músculos, cambios en los reflejos nerviosos, inflamación del cerebro y el hígado. Daño en los riñones y el corazón.
Magnesio	150	Elemento abundante en la corteza terrestre, la principal fuente es la leche, aguas duras	Fiebre, escalofríos, náuseas, vómitos y dolores musculares.
Zinc	Hasta 5.00	Alimentos para ganado, pastizal, suelo, algunos materiales utilizados para la ordeño o elaboración de queso	Puede también causar problemas de salud eminentes, como es úlcera de estómago, irritación de la piel, vómitos, náuseas y anemia. Niveles alto de Zinc pueden dañar el páncreas y disturbar el metabolismo de las proteínas, y causar arterioesclerosis. Exposiciones al clorato de Zinc intensivas pueden causar desordenes respiratorios
Fierro	0.3-3.5	Alimentos para ganado, pastizal, suelo, algunos materiales utilizados para la ordeño o elaboración de queso	conjuntivitis, coriorretinitis, y retinitis si contacta con los tejidos y permanece en ellos, cáncer de pulmón
Plomo	0.01-0.2	Resultado de las actividades humanas, gasolinas, partículas grandes precipitarán en el suelo o la superficie de aguas, las pequeñas partículas viajarán largas distancias a través del aire y permanecerán en la	Perturbación de la biosíntesis de hemoglobina y anemia, incremento de la presión sanguínea, daño a los riñones, abortos y abortos sutiles, perturbación del sistema nervioso, daño al cerebro, disminución de la fertilidad del hombre a través del

**Determinación de Peligros Químicos en Queso Cotija**

		atmósfera y caen en la precipitación pluvial, corrosión de tuberías, humo de cigarro	daño en el esperma, disminución de las habilidades de aprendizaje de los niños, perturbación en el comportamiento de los niños, como es agresión, comportamiento impulsivo e hipersensibilidad. (Manahan, 2007)
Cadmio	0.005-0.2	Los ríos a través de la descomposición de rocas y algún Cadmio es liberado al aire a través de fuegos forestales y volcanes, puede también entrar en el aire a través de la quema de residuos urbanos y de la quema de combustibles fósiles, en el suelo después de que el fertilizante es aplicado en las granjas y el resto del Cadmio terminará en las aguas superficiales	Diarreas, dolor de estómago y vómitos severos, fractura de huesos, fallos en la reproducción y posibilidad incluso de infertilidad, daño al sistema nervioso central, daño al sistema inmune, desordenes psicológicos, posible daño en el ADN o desarrollo de cáncer
Cobre	Hasta 3.0	Ríos, aire por la combustión, suelos, aerosoles, producción de fertilizantes fosfatados	Iritar la nariz, la boca y los ojos y causar dolor de cabeza, de estómago, mareos, vómitos y diarreas. Una toma grande de cobre puede causar daño al hígado y los riñones e incluso la muerte
Cromo	0.05	Alimentos para ganado, pastizal, suelo, algunos materiales utilizados para la el ordeño o elaboración de queso	Erupciones cutáneas, malestar de estómago y úlceras, problemas respiratorios, debilitamiento del sistema inmune, daño en los riñones e hígado , alteración del material genético, cáncer de pulmón, muerte
Manganeso	0.05-0.15	Suelos y aguas	Disturbancias en los pulmones, hígado y vasculares, decremento de la presión sanguínea, fallos en el desarrollo de fetos de animales y daños cerebrales. Temblores y fallos en la coordinación
Berilio	0.004	El aire, agua y suelo como resultado de procesos	Beriliosis, una peligrosa y persistente enfermedad de los

		naturales y actividades humanas, entra en el agua durante los procesos de desintegración de suelos y rocas.	pulmones que puede incluso dañar otros órganos, como el corazón, causar reacciones alérgicas en personas que son hipersensibles a los productos químicos, debilidad, cansancio y problemas respiratorios. Algunas personas que sufren de esta enfermedad pueden desarrollar anorexia y las manos y pies se les ponen azules, también incrementar las posibilidades de desarrollar cáncer y daños en el ADN
Calcio		La distribución del calcio es muy amplia se encuentra en casi todas las áreas terrestres del mundo. Este elemento es esencial para la vida de las plantas y animales, ya que está presente en el esqueleto de los animales, en los dientes, en la cáscara de los huevos, en el coral y en muchos suelos, es comúnmente encontrado en la leche y productos lácteos, pero también en frutos secos, vegetales	Neutraliza la absorción de otros minerales necesarios para el organismo, tales como el hierro y el zinc, además puede depositarse en los riñones, pudiendo producir cálculos renales, esclerosis y problemas en los vasos sanguíneos
Cobalto	Hasta 1.0	El medio ambiente en el aire, agua, suelo, rocas, plantas y animales. Este puede también entrar en el aire y el agua y depositarse sobre la tierra a través del viento y el polvo y entrar en la superficie del agua a través de la escorrentía cuando el agua de lluvia corre a través del suelo y rocas	Asma y neumonía, vómitos y náuseas, problemas de Visión, problemas de Corazón, daño del Tiroides
Litio		Presente en suelo, plantas, agua	Temblor, náuseas, diarrea, visión borrosa, vértigo, confusión y en algunos hiperreflexia, complicaciones neurológicas más severas y eventualmente convulsiones, coma, arritmias

## Determinación de Peligros Químicos en Queso Cotija

			cardíacas y muerte o daño neurológico permanente
Molibdeno	0.07-0.4	Suelos, agua, plantas	Dolores de la articulación de las rodillas, manos, pies, deformidades en las articulaciones, eritemas, y edema de las zonas de articulación
Níquel	0.02-4.0	Suelo, agua, plantas	Elevadas probabilidades de desarrollar cáncer de pulmón, nariz, laringe y próstata, enfermedades y mareos después de la exposición al gas de níquel, embolia de pulmón, fallos respiratorios, defectos de nacimiento, asma y bronquitis crónica, reacciones alérgicas como son erupciones cutáneas, desordenes del corazón
Antimonio	19	Suelos, agua y aire en cantidades muy pequeñas	Irritación ocular, pérdida de pelo y daños pulmonares, problemas de corazón, diarrea, vómitos severos y úlceras estomacales
Selenio	Hasta 20 ppb	Presente naturalmente en el ambiente principalmente en suelo	Puede ocurrir retención de líquido en los pulmones y bronquitis, pelo quebradizo y uñas deformadas, a sarpullidos, calor, hinchamiento de la piel y dolores agudos. Cuando el selenio acaba en los ojos las personas experimentan quemaduras, irritación y lagrimeo
Estroncio	Hasta 4	Ocurre de forma natural en muchos compartimentos del medio ambiente, incluyendo rocas, suelo, agua y aire	Anemia y falta de oxígeno, y en extremadamente altas concentraciones puede incluso causar cáncer como resultado de dañar el material genético de las células
Talio	15	Agua, suelo	Dolores estomacales aparecerán y el sistema nervioso será dañado, efectos crónicos, como es cansancio, dolores de cabeza, depresiones, pérdida del apetito, dolor de piernas, pérdida del pelo y problemas en la vista.
Vanadio	0.5	Encontrado en el ambiente y animales marinos	Desordenes respiratorios, parálisis y efectos negativos en el hígado y los riñones

Norma Oficial Mexicana, PROY-127-SSA1-250-2007; OMS 1985, Nordberg, 2001 William, 2001, EPA 2002 Normativa para plantas de tratamiento de agua, 2005 Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA), 2009.

## **2.8. Hormonas promotoras del crecimiento**

### **2.8.1. Generalidades**

Se conoce como hormonas del crecimiento a los estimulantes o anabólicos con actividad no hormonal del crecimiento, debido a una acción sobre el anabolismo proteico, que prácticamente se traduce en una mayor cantidad de músculo o carne en proporción apreciable, con un contenido menor de grasa, o mayor producción de algún producto alimenticio. Por el cual, la naturaleza íntima del crecimiento y desarrollo, se ve modificada en una medida que puede controlarse y conducir a una mayor producción (Sumano *et al.*, 2002).

El uso de agentes anabólicos con actividad no hormonal es uno de los métodos no genéticos para modificar el potencial de crecimiento de los animales (Sumano *et al.*, 2002).

Se define como anabólico esteroide cualquier compuesto o mezcla de compuestos que afectan la función metabólica del animal para incrementar la cantidad de proteína corporal (Sumano *et al.*, 2002).

### **2.8.2. Clasificación de los anabólicos**

Los anabólicos pueden ser de origen endógeno (naturales) o sintéticos. Entre los primeros se encuentran las hormonas naturales que incluyen el estradiol (17 beta y 17 alfa), la testosterona, la progesterona, la somatotrofina y los factores liberadores de esta última (Dabove, 1984).

En este mismo grupo se encuentran los agonistas Beta adrenérgicos, como la epinefrina y norepinefrina, secretadas por la médula adrenal y las terminaciones nerviosas simpáticas. Su mecanismo de acción consiste en aumentar la ganancia de peso y la retención de nitrógeno. (Dabove, 1984).

Los anabólicos esteroides sintéticos abarcan: el grupo de los estilbénicos (dietilestilbestrol y dienestrol) y los no estilbénicos (menengestrol, zeranol y trenbolona) y los betadrenérgicos (clembuterol, cimaterol y fenoterol). (Gimeno, 1985).

◆ Estilbénicos. Están prohibidos en casi todo el mundo, y su componente más difundido es el dietilestilbestrol (DES). Este producto, como todas las sustancias estrogénicas, están prohibidas en la Argentina, a través del Decreto N° 4224/61, para su utilización como engordador. Desde el año 1988 también está prohibido su empleo en uso terapéutico. La prohibición se basa en que este producto, pese a ser barato y eficaz como engordador, tiene una alta acción estrogénica, es decir feminizante, y además acción hepatotóxica, así como probablemente cancerígena (Gimeno, 1985).

◆ No estilbénicos. Varios son los productos que contienen estas sustancias; los más conocidos son, dentro de los sintéticos, el zeranol (cuya marca más popular es Ralgro un producto norteamericano) y la trenbolona (de origen francés.) que es una hormona no natural, con leve acción estrogénica, y la trembolona cuyo núcleo químico es de origen masculino (Gimeno, 1985).

◆ Agonistas beta-adrenérgicos de naturaleza sintética. Actúan incrementando las masas musculares, especialmente en animales de carne. Producen un cambio en el balance energético que cambia la relación carne-grasa. El clembuterol fue el primer agonista sintético. Otros son el cimaterol y el fenoterol (Gimeno, 1985).

### **2.8.3. Clenbuterol**

El Clorhidrato de Clenbuterol conocido comúnmente como Clenbuterol tiene la capacidad de interactuar con receptores adrenérgicos del sistema nervioso autónomo. En medicina veterinaria los  $\beta$ -agonistas han sido utilizados como broncodilatadores, anabólico, agente lipolítico y tocolíticos especialmente en equinos y pequeñas especies (Sumano *et al.*, 2002).

El clenbuterol es un medicamento que se presta al mal uso por la interacción entre su eficacia promotora del rendimiento productivo y su lenta velocidad de depuración. Al administrar una dosis de 10 µg/Kg. de peso corporal durante 10 días se puede observar un efecto anabólico, identificando cambios metabólicos, disminuyendo la deposición de grasa y aumentando la masa muscular, efecto que pudiera padecer deseable, pero conlleva a problemas de salud pública al ingerir el humano dosis acumulativas de clenbuterol junto con la proteína animal (Sumano *et al.*, 2002).

#### **2.8.4. Efectos del Clenbuterol en la salud humana**

Existen medicamentos utilizados en medicina veterinaria y en medicina humana mucho más peligrosos y con un enorme potencial tóxico, pero como sucede con los medicamentos, el problema no es su uso sino el abuso motivado por ignorancia y ambición. En el caso del clenbuterol se pueden inducir algunos efectos colaterales en el consumidor como son: Dolor de cabeza, temblores musculares, náuseas, taquicardia, nerviosismo, cefaleas, mialgias, astenia, fiebre.

Síntomas asociados por no respetar los tiempos de retiro señalados de cuando menos dos semanas y de preferencia un mes para disminuir los residuos (Sanz, 1995).

#### **2.8.5. Problemática actual del clenbuterol**

En México existe poco control y/o vigilancia por parte de las autoridades correspondientes, por lo tanto no se cuenta con un programa efectivo supervisado por veterinarios oficiales. En humanos donde la ingesta de alimentos contaminados sea mayor a 40mcg/día, puede presentarse un cuadro de intoxicación, de una a seis horas posterior a su ingestión (Hernández *et al.*, 2006).

En México, entre los años 2002 a 2008, se han notificado 2130 casos de intoxicación por clenbuterol. En Jalisco se sabe de su uso clandestino como promotor de la producción de carne en ganado bovino de engorda y se han reportado más de 200 casos de intoxicación en lo que va del año 2006, y esto a pesar de los de los esfuerzos desarrollados por las entidades gubernamentales involucradas (Jiménez *et al.*, 2011).

En Europa, Canadá, y (Estados Unidos de América (EUA) a partir de 1988, se he considerado ilegal su uso. En México la NOM-061-ZOO-1999 prohibió su empleo en el mismo año, pero no obstante se siguen presentando casos de intoxicación en humanos (Hernández *et al.*, 2006).

En vacas produce un sustancial rendimiento en la producción y una marcada mejora en la persistencia de la lactancia. Frecuentemente se observaron aumentos de 4 a 6 kg de leche/día. (Bavera *et al.*, 2002).

El tiempo de espera para ir al matadero de los animales que han sido tratados es de 16 a 20 días (cuando se dan casos de intoxicación humana, es porque no se ha dejado pasar este plazo o porque las dosis eran muy elevadas) (Sumano *et al.*, 2002).

Actualmente se ha establecido un límite máximo de residuos en equinos y bovino es de 0.1 µg/kg en músculo, 0.5 µg/kg en hígado y riñón, y de 0.05 µg/kg en la leche procedente de vacas tratadas con el fármaco (Sumano *et al.*, 2002).

Se han realizados estudios en los cuales se les a aplicado una dosis determinada al ganado bovino, en el cual se ha determinado que la excreta de clenbuterol es posible por leche que produce el ganado (Sumano *et al.*, 2002).

Los primeros casos de intoxicación humana por el consumo de hígado de animales tratados con clenbuterol son posiblemente los que acaecieron en 1989 en las provincias de Cordoba y Vizcaya, sin embargo el brote más llamativo fue el que se extendió de marzo a junio de 1990 por ocho comunidades autónomas y afectó a 43 familias con un total de 135 casos.

El clenbuterol puede concentrarse en diferentes tejidos, las muestras más representativas del problema son: orina, hígado, riñón y retina, siendo la retina del ojo una de las muestras que no requiere un laborioso proceso de extracción previo al análisis, y sin embargo puede retener el clenbuterol durante más de 5 de meses después de suspender el suministro del mismo. Además debido a la alta afinidad del fármaco con la melanina (compuesto celular responsable de la fijación del clenbuterol), este órgano puede alcanzar concentraciones de hasta 10 veces mayores a las encontradas en hígado (Hernández *et al.*, 2006).

Actualmente el método más utilizado para la detección de clenbuterol es el Ensayo por Inmuno-Absorción Ligado a Enzimas( Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)), ya que este método además de ser confiable, posee la característica de poder trabajar con un número elevado de muestras simultáneamente y obtener resultados en un corto espacio de tiempo (Hernández. *et al.*, 2006).

### **3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Debido a la naturaleza artesanal del queso Cotija y al proceso de elaboración, existen variaciones de calidad. De tal manera que, puede exhibir diferencias en la producción, las cuales están dadas por las costumbres particulares de cada familia; como son: la temperatura al tiempo de cuajar, la concentración de sal y cuajo adicionada, el tipo de pasto que se consume, aunado a que su alimentación es de libre pastoreo, la aplicación de antimicrobianos sin respetar tiempos de eliminación y el posible uso de hormonas de crecimiento, la localización de la región de origen, ya que se encuentra ubicada en una zona neovolcánica, son factores que pueden favorecer a peligros químicos.

#### **4. JUSTIFICACIÓN**

Es importante determinar la presencia de peligros químicos que pudieran estar presentes en el proceso de elaboración del queso Cotija de tal manera que los resultados obtenidos puedan ser de utilidad para la aceptación de la NMX-F-735-COFOCALEC-2009.

## **5. HIPÓTESIS**

Debido a la elaboración artesanal del queso Cotija, existe el riesgo de la presencia de residuos químicos, lo cual puede afectar la calidad e inocuidad del queso Cotija.

## 6. OBJETIVOS

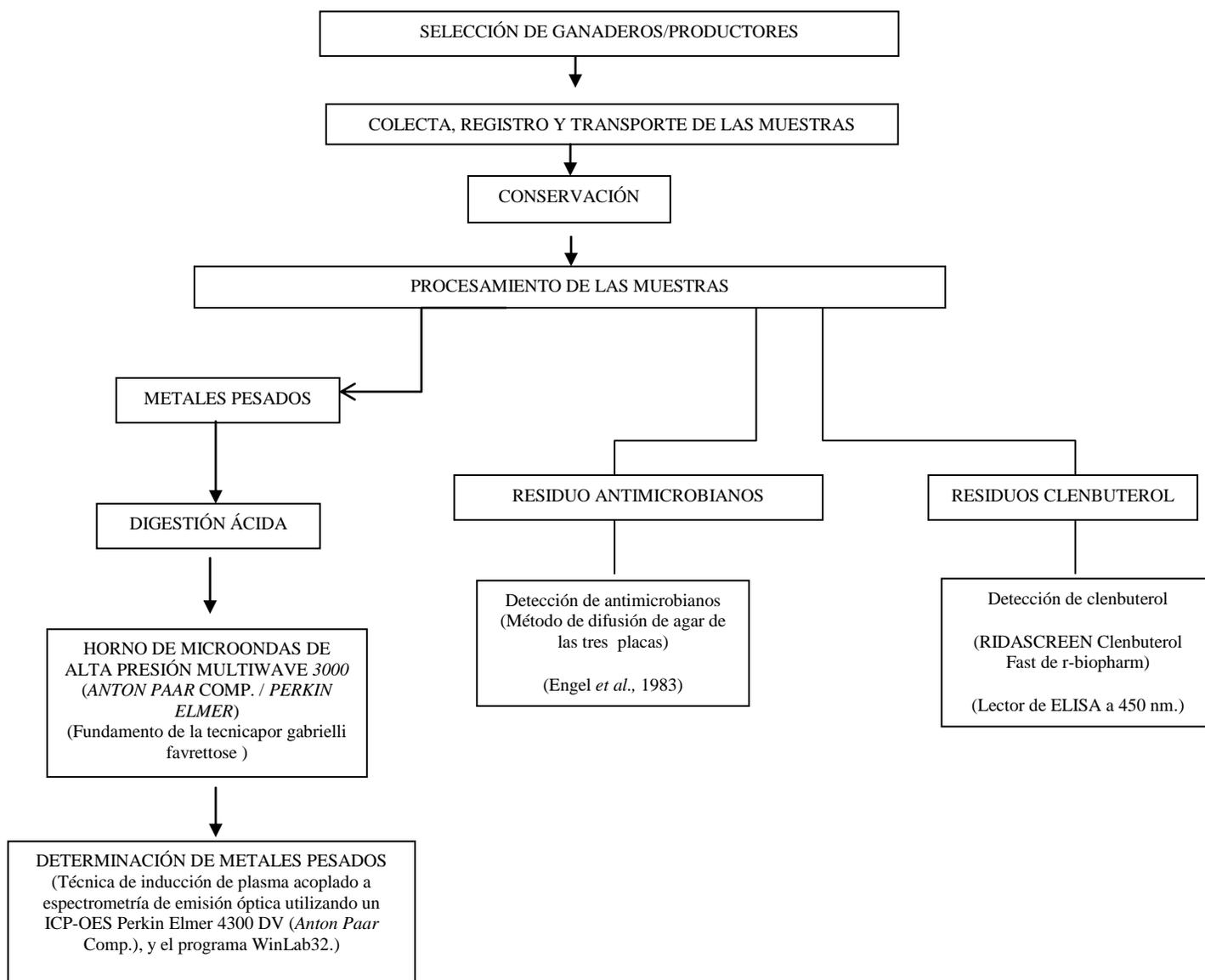
### 6.1. Objetivo General

Determinar la presencia de residuos químicos en el proceso de elaboración de Queso Cotija.

### 6.2. Objetivo particulares

- Determinar la presencia de algunos metales pesados en el proceso de elaboración de Queso Cotija.
- Determinar la presencia de residuos antimicrobianos en el proceso de elaboración de Queso Cotija.
- Determinar la presencia de hormonas de crecimiento (clenbuterol) en el proceso de elaboración de Queso Cotija.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS



**Figura 6:** Esquema general de la metodología para determinar la presencia de peligros químicos en el queso Cotija

## 7.1. Zona de colecta

La zona de la región de origen presenta forma de herradura orientada al norte, abarca una superficie aproximadamente de 2,400 km<sup>2</sup>, de los 19<sup>0</sup>15 a los 19<sup>0</sup>40 de latitud norte y de los 102<sup>0</sup>30 a los 103<sup>0</sup>50 de longitud oeste. Es una zona continua, ubicada en la sierra Jalisco-Michoacán, ubicada entre los estados de Jalisco y Michoacán, incluyendo principalmente los municipios de Santa María del Oro (Jalisco) y por parte sur de los municipios de Cotija y Tocuambo (Michoacán). Además se extiende a territorio de los municipios siguientes: norte de Jilotlan de los Dolores, oriente de Tamazula, sur de Valle de Juárez y Quitupán (Jalisco); suroeste de los Reyes, Periban y Tancitaro, y norte de Buena Vista Tomatlán (Michoacán). Los municipios que se involucran y cuentan con productores participando en el proceso de elaboración y calificación del queso Cotija son seis: Santa María del oro, Jilotlan de los Dolores y Quitupan (Jalisco); Cotija, Tocuambo y Buena Vista Tomatlan (Michoacán).

## 7.2. Selección de productores de queso Cotija

Este proyecto se realizó en los municipios de Cotija y Quitupan de la región de origen de los estados Jalisco-Michoacán; donde fueron muestreados 60 talleres de elaboración y producción del queso Cotija.

- **Criterios de inclusión y exclusión**

Inclusión:

1. Productores dispuestos a proporcionar muestras de queso para el análisis químico (Residuos de antimicrobianos; Metales pesados; Hormonas de crecimiento).
2. Productores con características similares en cuanto al manejo en las unidades de producción (número de quesos producidos, instalaciones, equipo, utensilios).
3. Piezas de queso con tres meses de maduración.

Exclusión:

1. Productores que no tienen la disponibilidad para mejorar el proceso de elaboración del queso Cotija.

Nota: Los sesenta productores son miembros de la Asociación de Productores de Queso Cotija región de origen Jalisco-Michoacán.

### **7.3. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche y queso**

#### **7.3.1. Preparación de la cepa de *Bacillus subtilis* Colección de Cepa Tipo Americano (ATCC) 6633**

- 1.- En tres tubos de cultivo en forma inclinada con agar de Antibiótico Número 1, se sembró la cepa de *Bacillus subtilis*, se incubó a una temperatura de  $35 \pm 1$  °C durante 24 h.
- 2.- Una vez transcurrido el tiempo de incubación a los seis tubos se les agregó de 1 a 2 mL de Solución Salina Fisiológica Estéril (SSFE) para resuspender las células.
- 3.- Después de resuspender las células, éstas fueron inoculadas en una botella de Roux que contenía 250 mL de agar para antibióticos Número 1, distribuyéndose en la superficie con perlas de vidrio estériles hasta cubrir totalmente la superficie del medio y posteriormente se incubó a  $35 \pm 1$  °C durante 24 h.
- 4.- Cumplido el tiempo de incubación el paquete de células fue resuspendido en 50 mL de SSFE.
- 5.- Los 50 mL obtenidos fueron transferidos a tubos de vidrio estériles depositando en cada uno de ellos 6 mL del paquete de células.
- 6.- El lavado del paquete celular se realizó a 1500 rpm durante tres minutos y se realizó la actividad por lo menos 3 veces con SSFE hasta eliminar el medio de cultivo residual, separándolo por centrifugación y decantación, al final se reconstituyó el sedimento, el cual se resuspendió en 50 mL de SSFE.
- 7.- El paquete celular de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ya lavado fue calentado durante 30 minutos en baño maría a 70 °C para favorecer la esporulación.

La suspensión de esporas de *Bacillus subtilis* se conservó en un frasco con tapón de rosca en refrigeración evitando la contaminación, después del proceso de esporulación.

- **Determinación de la concentración del medio-inoculo**

- 1.- Se prepararon 4 concentraciones de la suspensión Stock de esporas de *Bacillus subtilis* diluyendo 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 mL en 100 ml del medio de Antibiótico Número 1.
- 2.- Posteriormente la prueba fue ensayada con solución de referencia de Lincomicina (0.5 µL/mL de leche; pH 8.0 ±0.1)
- 3.- En cajas de petri estériles de 25 x 100 mm, se colocaron 20 ml de medio para Antibióticos Número 1 como capa base, se dejó solidificar y se incubó a 35 °C por 24 h.
- 4.- Posteriormente fueron colocados seis sensibilizadores impregnados de la solución de referencia de lincomicina a las concentraciones siguientes: tres a la concentración mínima inhibitoria y tres a su valor inmediato superior, sobre la capa de agar (0.25 y 0.50 µg/mL), el volumen utilizado para impregnar los discos dependió de la concentración de la solución utilizada para tal fin.
- 5.- Todas las cajas fueron incubadas a una temperatura de 35 ± 1 °C durante 24 h.
- 6.- La elección sobre la concentración del inoculo fue la que presentó mejores zonas de inhibición con diámetro entre 14 y 16 mm.

- **Procedimiento para el ensayo microbiológico**

En el cuadro 3 se presenta el medio y la bacteria utilizada en la producción de la prueba microbiológica. En la placa N° 3 al final se usó solamente dos placas de prueba (Anon, 1982), en la placa N° 2 se utilizaron cuatro placas de prueba (Bogaerts *et al.*, 1982) y en la placa N° 1 ambos métodos. Las placas fueron modificadas, ya que se agregaron 100 µL de la suspensión de esporas de *Bacillus subtilis* ATCC 663.

- **Preparación de las placas utilizadas para el ensayo microbiológico**

1. En la preparación de las placas se adicionó 1 mL de la suspensión de células con una concentración de  $5 \times 10^4$  UFC/mL por cada 100 mL del medio.
2. La cantidad de agar que se adiciono fue de 8 mL, las placas fueron refrigeradas por un lapso de 5 días.

**Cuadro 3:** Medio y bacteria utilizada en la producción de la prueba microbiológica.

<i>Placa N°</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Medio</i>	<i>Suplemento</i>
1	<i>Bacillus subtilis</i>	pH 6.0	
2	<i>Bacillus subtilis</i>	pH 7.5	Trimetoprim 0.5 µg/MI
3	<i>Bacillus subtilis</i>	pH 8.0	

- **Discos control**

- 1.- Los discos fueron colocados en cada N° de placa.
- 2.- Los discos estuvieron compuestos de las siguientes cantidades:
  - Lincomicina (LIN)
  - Penicilina (P) 5 µg
  - Sulfonamidas (SA) 240 µg

### 7.3.2. Recolección de muestras de leche y queso

Fueron recolectadas 42 muestras de leche y 42 muestras de queso, las cuales fueron transportadas en bolsas de plástico estéril y transportadas en una hielera a 5°C hasta su procesamiento en el laboratorio.

### **7.3.3. Método de difusión en agar bacteriológico empleando las tres placas**

La detección se realizó mediante el sistema microbiológico de difusión en agar utilizando *Bacillus subtilis* ATCC 6633, con una concentración de esporas de  $10^6$  UFC/mL como microorganismo de referencia. El pH del medio se ajustó a tres valores: 6.0, 7.5 y 8.0. El ajuste de los valores de pH se selecciona considerando que la penicilina, tetraciclina y cloramfenicol tienen su óptima difusión a pH 6.0, los aminoglucósidos y macrólidos a pH 8.0, y las sulfonamidas a pH 7.5 (Engel *et al.*, 1983) Se consideran positivas las muestras con zonas de inhibición mayores a 1mm y negativos cuando las zonas de inhibición fueron inferiores a 1mm.

## **7.4. Determinación de metales pesados en leche y queso en leche y queso**

### **7.4.1. Recolección de muestras**

Fueron recolectadas 60 muestras de leche de las cuales se tomaron 300 ml. y colocaron en bolsas de plástico estériles y 60 muestras de queso de las que se tomaron 500 gr. En bolsas estériles, y fueron transportadas en una hielera a una temperatura de 5 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Cabe mencionar que el trabajo de muestreo se realizó entre los meses de julio-diciembre que es la temporada de producción del queso Cotija.

Dada la ubicuidad de estos y para evitar contaminaciones, el proceso de la toma de muestra requirió precauciones para que las muestras mantuvieran las mismas características que tenía al lugar de procedencia, por lo que para el análisis de metales pesados que se encuentran a niveles trazas, es necesario tener un especial cuidado con el material que se utiliza y con su manipulación para evitar la contaminación.

### 7.4.2. Tratamiento de la muestras

Los métodos de digestión se usan para reducir interferencias debido a la presencia de materia orgánica, y convertir los metales a una forma en que si se puedan analizar: generalmente el metal puro. Consiste en la transformación de la matriz orgánica o inorgánica en sales minerales solubles que provienen de la acción de la temperatura y la adición mineral sobre la muestra. Por consiguiente se pierden constituyentes orgánicos que no pueden mineralizar (ejemplo el carbono) (Gabrielli, 1990).

### 7.4.3. Digestión acida asistida por microondas

1. Para las muestras de queso se colocó un peso de 0.3 mg. en los recipientes de PTFE-TFM de la unidad de microondas.
2. Añadir 5.0 ml de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) bajo campana de extracción de gases y esperar (dejar reposar) hasta que cese la reacción.
3. Añadir 0.5 ml de ácido perclórico ( $\text{HClO}_4$ ) bajo campana de extracción de gases y esperar (dejar reposar) hasta que cese la reacción.
4. Añadir 2.0 ml de peróxido de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) bajo campana de extracción de gases y esperar (dejar reposar) hasta que cese la reacción.
5. Tapar el tubo PTFE-TFM y colocar en la chaqueta de cerámica según las instrucciones del fabricante.
6. Colocar los recipientes dentro del rotor del horno.
7. Colocar en el plato giratorio del microondas para efectuarse el programa elegido de descomposición de la muestra.
8. Correr el programa elegido en la calibración del equipo



Figura 7: Horno de microondas

9. Dejar enfriar por un mínimo de 60 min y sacar los tubos del equipo. Cuidadosamente destapar los recipientes bajo la campana de extracción de gases, transferir a un matraz aforado de 10 ml, lavado con ácido.
10. Enrasar con agua destilada, bidestilada o desionizada.

#### **7.4.4. Filtración de las muestras**

Si digerido contiene material en suspensión proceder según las siguientes alternativas:

- Centrifugar a 2000-3000 rpm por 10 min, o
- Dejar decantar durante la noche, o
- Filtrar usando un filtro fino y un aparato de filtración prelavado con HNO<sub>3</sub>

#### **7.4.5. Conservación de las muestras**

Las muestras para su conservación y evitar posible contaminación se colocan en recipientes de plástico los cuales recibieron un adecuado lavado con ácido nítrico diluido al 10% dejándolos 24 horas sumergidos en esta preparación, para eliminar trazas metálicas y evitar posteriores resultados erróneos por contaminación de estos recipientes. (Rauret *et al.*, 1989.; Thomas *et al.*, 1994; Gonsior *et al.*, 1997; Yan *et al.*, 1997; Bilos *et al.*, 1998; Siaka *et al.*, 1998). Posteriormente fueron refrigeradas a 4°C hasta ser requeridas para la operación de su lectura en el equipo de absorción atómica.

#### **7.4.6. Método por espectrometría**

Mediante la espectroscopia de emisión con plasma de acoplamiento inductivo es posible determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultratrazas, partiendo de muestras en disolución acuosa. A continuación un detector mide

la intensidad de cada una de las radiaciones relacionando ésta con la concentración de cada elemento en la muestra.

1. Someter la muestra a una digestión acida.
2. Realizar el precalentamiento del equipo y realizar la calibración del programa WinLab32.
3. Colocar el digerido por la manguera de absorción del equipo de inducción de plasma acoplado a espectrometría de emisión óptica utilizando un ICP-OES Perkin Elmer 4300 DV (Anton Paar Comp.), y el programa WinLab32.



**Figura 8:** ICP-OES Perkin Elmer 4300 DV (Anton Paar Comp.)

4. Anotar las lecturas obtenidas por la lectura del equipo registrada en el programa WinLa32.
5. Para obtener los resultados de las concentraciones en mg/kg del elemento en la muestra, realizar los cálculos empleando la siguiente fórmula:

$$\text{mg/ kg} = \frac{A \times B}{C}$$

en donde:

A = Concentración en mg/L para las muestras de queso Cotija y muestras de leche

B = Volumen final al que se llevó la muestra (ml.).

C = Peso de la muestra (gr.) o volumen de la muestra (ml.) en el caso de agua.

## **7.5. Determinación de Clenbuterol en leche y queso Cotija**

### **7.5.1. Recolección de muestras**

Fueron recolectadas 60 muestras de leche de las cuales se tomaron 300 ml. y colocaron en bolsas de plástico estériles y 60 muestras de queso de las que se tomaron 500 gr. En bolsas estériles, y fueron transportadas en una hielera a una temperatura de 5 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

### **7.5.2. Tratamiento de la muestra**

### **7.5.3. Método RIDASCREEN (ELISA)**

El procedimiento de la muestra se llevó a cabo bajo el método RIDASCREEN®. Clenbuterol Fast la prueba se basa en la reacción antígeno-anticuerpo, los pozos de la placa son cubiertos con anticuerpos específicos al clenbuterol. El conjugado enzima clenbuterol, los estándares de clenbuterol y la muestra son adicionados a la placa, la enzima del conjugado y el clenbuterol compiten por los sitios de unión de los anticuerpos. Cualquier enzima conjugada no unida es eliminada con lavados. La enzima substrato y el cromógeno son adicionados a los pozos y se incuban. El enlace de la enzima conjugado se convierte con el cromógeno de color transparente a azul, posteriormente hay un cambio de color azul al amarillo tras adicionar el reactivo stop. La medición es hecha fotométricamente a 650 nm.

1. Determinar el número de pozos a usar de acuerdo al número de muestras, controles y blanco. Por cada set de muestras, preparar 2 controles del kit (positivo y negativo), 1 blanco y 2 controles fortificados.
2. Preparar la disolución de Enzima Conjugada (diluir 1 µL de la Enzima Conjugada 180 X en 180 µL de Buffer EIA y mezclar). Ejemplo: para 16 pozos agregar 20 µL de la Enzima Conjugada 180X en 3580 µL de Buffer EIA (siempre se prepara calculando 2 ó 3 pozos de más).

3. Agregar 20  $\mu\text{L}$  de muestra o control en los respectivos pozos.
4. Agregar 180  $\mu\text{L}$  de la Enzima Conjugada diluida en cada pozo. Use una pipeta multicanales para mayor rapidez.
5. Agitar manualmente y sobre una superficie plana el plato que contiene las muestras con cuidado.
6. Incubar el plato con las muestras a temperatura ambiente y protegido de la luz, durante 1 hora.
7. Diluir el Buffer de lavado 10 veces, Ejemplo: 20 ml de Buffer en 180 ml de agua destilada.
8. Vaciar el líquido de los pozos, una vez completada la incubación. Golpear suavemente el plato contra una superficie cubierta con papel absorbente, con el fin de secar completamente los pozos.
9. Lavar cada pozo con 300  $\mu\text{L}$  del Buffer de Lavado, repita esta acción 2 veces más, secando cada vez por completo los pozos, tal como se detalla en el punto 7.5.8.
10. Agregar 150  $\mu\text{L}$  del Sustrato K-Blue a cada pozo. Mezclar con cuidado el contenido de los pozos.
11. Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos. Mezclar el contenido de los pozos periódicamente, sobre todo antes de llevar a cabo la lectura de la absorbancia.
12. Leer los resultados en el lector de ELISA a una longitud de onda de 650 nm.

## 8. ANALISIS ESTADISTICO

- **Residuos de antimicrobianos**

Para la variable de residuos de antimicrobianos se utilizó un diseño factorial AXBXC completamente al azar, donde el factor A corresponde a la leche y queso, B pH con tres niveles (6.0, 7.5, 8.0) y C los halos de inhibición. Para la comparación de promedios entre tratamientos se utilizará la prueba de diferencia mínima significativa un nivel de significancia de 0.05.

- **Metales pesados y Clenbuterol**

En el análisis estadístico de las variables frecuencia de clenbuterol y metales pesados se utilizó estadísticas descriptivas.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSION

### 9.1. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche y queso Cotija

#### 9.1.1. Determinación de las curvas de calibración de residuos de antimicrobianos

Los LMRs deben establecerse en todos los antimicrobianos que son empleados en la producción de alimentos de origen animal (Anadon *et al.*, 1999).

La investigación de rutina en muestras para determinar la presencia de residuos de sustancia inhibitorias puede ser determinado por varios métodos, como por ejemplo el de Cromatografía, sin embargo, es demasiado extensivo, ya que en la práctica se requiere de un diferente procedimiento de extracción y detección, para cada familia de antibióticos (Okerman, 2001).

Así mismo, los LMRs en leche pueden ser detectados por métodos microbiológicos, ya que los resultados son confiables en cuanto a inhibición de crecimiento de la bacteria (Johnston *et al.*, 1981).

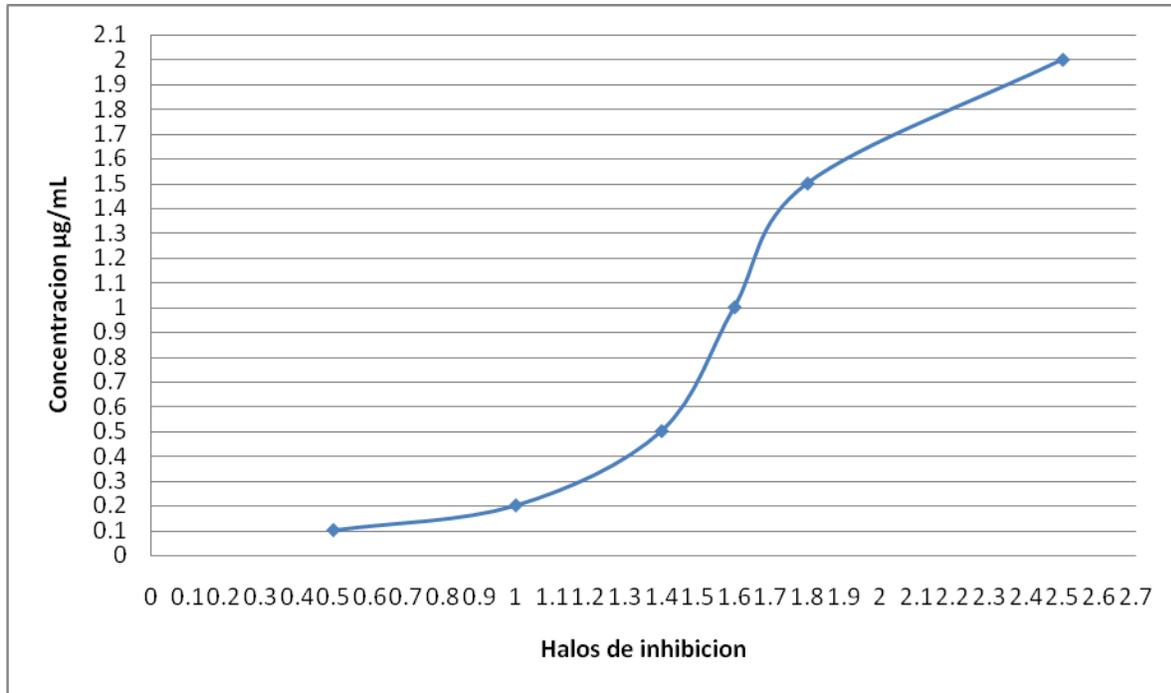
En la figura 9 se presenta la curva de calibración de la Penicilina (5 UI) en la cual se observa que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) fue la de 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con halos de inhibición de 0.8 mm y la Concentración Máxima Inhibitoria (CMaxI) fue la de 2.0  $\mu\text{g/mL}$  y los halos registrados para esta concentración fueron mayores a 2.5 mm.

Respecto a la Lincomicina la CMI fue 0.1  $\mu\text{g/mL}$  con halos de inhibición de 0.5 mm muy similar a la penicilina, y la CMaxI fue la de 2.0  $\mu\text{g/mL}$  con halos de 3.0 mm (Figura 10). Para el caso de la Sulfonamida la tendencia fue similar a los dos antimicrobianos ya mencionados, ya que la CMI fue la de 0.1  $\mu\text{g/mL}$  y la CMaxI fue la de 2.0  $\mu\text{g/mL}$  con halos de 0.7 mm y 3.0 mm respectivamente (Figura 9 y 10).

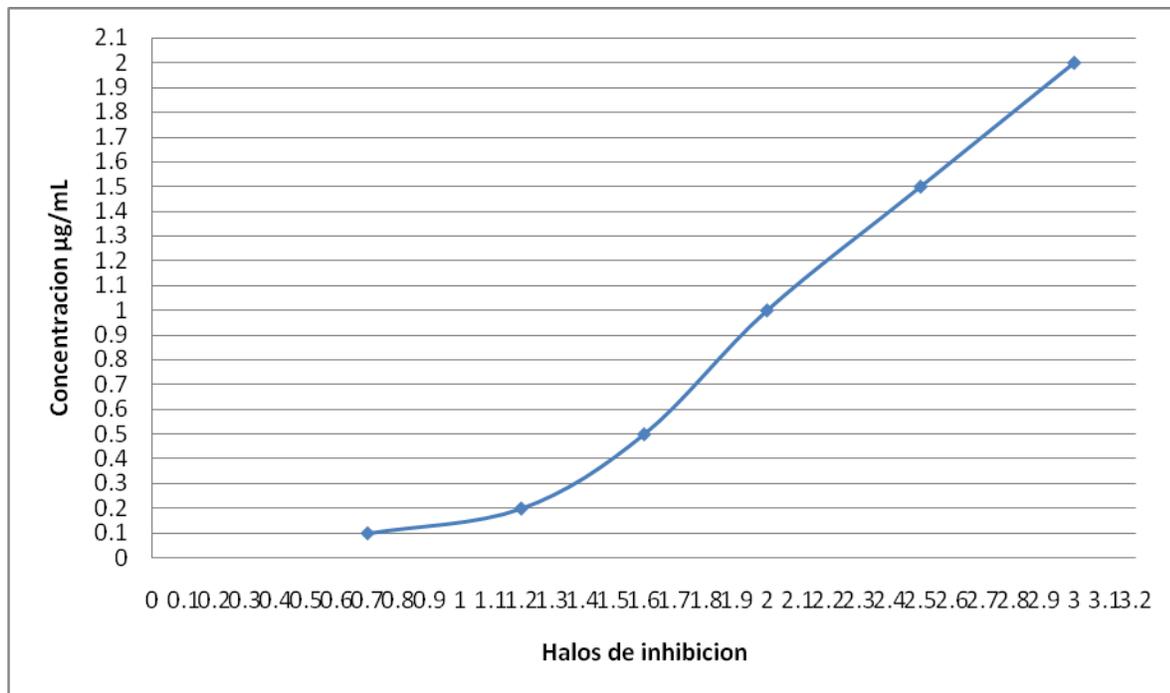
La finalidad de haber realizado las curvas de calibración radica en que estas van a permitir ubicar tentativamente la cantidad de antimicrobiano que se está eliminando, ya que como se menciono en la metodología las muestras que presenten halos de inhibición inferior a 1.0 mm se consideran negativas.



**Figura 9:** *Curva de calibración de la Penicilina*



**Figura 10:** Curva de calibración de la Lincomicina



**Figura 11** Curva de calibración de la Sulfonamida

**9.1.2. Determinación de la concentración del medio-inoculo**

En el cuadro 4 y figura 12 se muestran los resultados obtenidos en la determinación de la concentración de inóculo al medio de cultivo, en la cual se puede apreciar que en la adición de 1.5 ml de la concentración de esporas de *Bacillus subtilis* ATCC 6633 fue la que presentó un mejor crecimiento de la bacteria.

**Cuadro 4:** *Determinación de la concentración del inóculo al medio de cultivo*

Concentración de esporas de <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Zonas de inhibición
0.5 ml	No hubo zonas de inhibición
1.0 ml	0.5 mm
1.5 ml	0.9 mm
2.0 ml	2.5 mm



**Figura 12** *Determinación de la concentración del inóculo al medio*

**9.1.3. Determinación de los discos control**

En el cuadro 5 se presenta los resultados obtenidos de las zonas de inhibición ocasionadas por los discos control, en la cual se aprecia que las Sulfonamidas (SA) fueron las que presentaron mayor diámetro, representada por las zonas de inhibición 2 y 4 con diámetros de 22.5 mm, las lecturas de inhibición 1 y 3 representan la inhibición que produce la solución estándar.



**Figura 13:** Halos de inhibición producidos por los discos control

**Cuadro 5:** Inhibición del crecimiento de *B. subtilis* ocasionado por los diferentes antimicrobianos

<i>Antimicrobiano</i>	<i>Disco control</i>	<i>Zonas de inhibición en el medio (mm)</i>	<i>N</i>
Penicilina	P	17.7	20
Sulfonamidas	SA	22.5	20
Lincomicina	LIN	20.0	20

N= número de muestras, P: penicilina 5 µg., SA: Sulfonamidas 240 µg., LIN: Lincomicina 80 µg.

Así mismo, en la prueba realizada para determinar la sensibilidad de la bacteria sobre la Lincomicina se obtuvieron zonas de inhibición 20.0 mm. Johnston *et al.*, 1981, refiere a *Bacillus subtilis* como una bacteria altamente sensible para Lincomicina.

En el cuadro 6 se presentan los diámetros que se obtuvieron en las zonas de inhibición de las muestras de leche, las cuales contenían residuos de Penicilina G, Lincomicina y Sulfonamida.

La estimación de las zonas de inhibición de las muestras correspondientes a 200 µg/Kg para la suma de Lincomicina y Sulfonamidas son de 20 mm, sin embargo el límite de confianza es bajo (95%) ya que estos oscilan entre 0.4 y 1.3 mm, respectivamente. Esto se debe muy probablemente a que la lincomicina y sulfonamidas sus concentraciones de los LMRs no son detectados en muestras de leche cruda, con lo que respecta a las muestras de las categoría ≤ 100 µg/Kg contenían 38, 48, 78 y 83 µg/Kg de lincomicina y sulfonamida.

**Cuadro 6:** *Detección microbiológica de residuos de Penicilina G, Lincomicina y Sulfonamidas en muestras de leche*

<i>Antimicrobianos</i>	<i>Rango de concentración µg/ml</i>	<i>Zona de inhibición/mm</i>
Penicilina G	≤ 50	1.0
	50 – 100	1.5
	100 – 200	2.0
	≥ 400	2.5
Sulfonamidas	≤ 100	1.5
	100 – 200	2.0
	200 – 400	2.5
	≥ 800	3.0

	$\leq 100$	1.3
Lincomicina	200 – 400	1.8
	400 – 800	2.0
	$\geq 800$	2.8

Boison *et al.*, 1991, mencionan que la *Bacillus subtilis* presenta mayor sensibilidad en placas de pH 7.5 y pH 8.0, esto se debe al bajo pH y el tiempo de incubación de las pruebas microbiológicas; ya que el pH bajo tiene el poder de disminuir el pH alrededor de las muestras y proporcionar más actividad que favorezca a la Lincomicina.

## 9.2. Determinación de residuos de antimicrobianos en leche

Se analizó un total de 126 muestras en leche cruda de dos municipios de la región de origen (Cotija y Quitupán). De las 126 muestras analizadas en leche en la primera etapa 77 muestras resultaron positivas representando el (61.11%) mientras que las restantes 49 (38.88%) fueron negativas (Cuadro 7). El estudio efectuado revela la presencia de residuos de antimicrobianos en la leche cruda con que se elabora el queso Cotija.

**Cuadro 7:** Porcentaje de muestras de residuos de antimicrobianos en leche cruda con que se elabora el queso Cotija

<i>Municipio</i>	<i>Muestras analizadas</i>		<i>Muestras positivas</i>	
	<i>Numero</i>	<i>Porcentaje</i>	<i>Numero</i>	<i>Porcentaje</i>
Cotija	126	100	23	30.00
Quitupán	126	100	54	70.00

En el cuadro 7 se muestran los resultados obtenidos por afinidad de pH (6.0, 7.5 y 8.0) de los municipios muestreados, en el cual se observa que el municipio de Quitupán fue el que presento un mayor porcentaje de muestras positivas, así mismo el medio que presentó un porcentaje alto fue el de pH 6.0. Lo cual indicaría tentativamente que se están eliminando antimicrobianos como penicilina, cloranfenicol o tetraciclina, ya que estos tienen su óptima

difusión a pH 6.0. Por lo anterior, es de suponer que los tiempos de eliminación marcados por los laboratorios fabricantes no son respetados por el productor, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor, lo que sugiere que los principales factores de riesgo, son la falta de conocimiento sobre el manejo de los antimicrobianos por parte de los productores y la ausencia de un programa de control de estos en la ganadería. Otro aspecto a considerar es el hecho de que los productores no están dispuestos a desechar la leche procedente de animales bajo tratamiento, debido a la pérdida económica que ello significa. A este factor se añade el hecho de que el tratamiento de bovinos en la mayoría de las unidades productivas de pequeña escala, depende de la disponibilidad económica así como también de la disponibilidad de los medicamentos y no de la epidemiología de las enfermedades (Keyyu *et al.*, 2003).

**Cuadro 8:** Residuos de antimicrobianos en leche de los municipios de Cotija y Quitupán.

<i>Municipio</i>	<i>pH 6.0</i>	<i>pH 7.5</i>	<i>pH 8.0</i>	<i>Total</i>
Cotija	12	6	5	23
Quitupán	34	16	4	54
<i>Total</i>	<i>46</i>	<i>22</i>	<i>9</i>	<i>77</i>

En un estudio realizado en la región noroeste del estado de Michoacán en 1999 por Flores *et al.*, se encontró una presencia de residuos de antimicrobianos del 58%, lo cual indicó que la problemática de la presencia de residuos de antimicrobianos era grave. Para el año 2000 Flores y Carrión, implementaron algunas medidas de control, preventivas, correctivas, entre las cuales se implementó la de aplicar antimicrobianos con intervalos de seguridad observando los tiempos de retiro del animal tratado del hato, lo que contribuyó a disminuir la presencia de estos en leche, encontrándose una incidencia del 34%. Sin embargo, estos resultados demostraron que no se respetan los tiempos de eliminación, llegando a la conclusión de que no existe un manejo adecuado sobre el uso de antimicrobianos en dichos hatos ganaderos.

Los resultados anteriores, así como los encontrados en el presente estudio, son muy elevados si se comparan con los obtenidos en países donde existe reglamentación al respecto, así tenemos, por ejemplo, que en Alemania solo existe un 2 % de residuos de antimicrobianos en

leche (Grether *et al.*, 1994) y en Suecia el 1.8 % (Mellgren *et al.*, 1996). Mientras que en México no existe normatividad vigente que establezca los niveles máximos de residuos (MRL).

En México, Cruz *et al.*, (1986), analizando 125 muestras de leche pasteurizada de diferentes marcas mediante el método de cilindro en placa, encontraron que solamente el 9.6% de las muestras resultaron libres de antibióticos, el 25% contenían penicilina, el 60% estreptomicina, el 70% tetraciclina y más del 80% contenían 2 o los 3 antibióticos. Chombo (1999), analizó muestras de leche en los estados Mexicanos de Jalisco y Michoacán, encontrando 12% y 4% de positividad en dos zonas de Jalisco, mientras que en Michoacán no se detectaron muestras positivas.

En un trabajo realizado en la población de Cajamarca en Perú, se encontró que en cinco rutas de distribución de leche, se obtuvo un 11,5% de positividad a la presencia de residuos de antimicrobianos en la leche fresca (Benzunce, 1988). La diferencia con el presente estudio, podría deberse también a las formas de interpretación de las pruebas de determinación de residuos de antimicrobianos en la leche cruda. El resultado del presente estudio es más alto, en vista de que se empleó un método cualitativo, donde se consideró positiva, la formación del halo de inhibición. Sin embargo, al analizar el trabajo de Benzunce (1988) ruta por ruta, se observa que una de las rutas (la No. 73) presentó un 25.75% de positividad la cual es superior a los resultados del presente trabajo para toda la región de Tierra Caliente, pero es inferior al 37.5 % de positividad que presentó el municipio de Ajuchitlán del progreso, que fue el municipio con más elevado número de muestras positivas, mientras que el municipio de Cutzamala, tuvo un 0 % de positividad.

Si se comparan los porcentajes de positividad encontrados en otros estudios para los mercados (20.67%), tiendas y fondas (21.21%), tales resultados tienen similitud, lo que es indicativo de que el nivel de contaminación es indiferente a los lugares mencionados, esto indica que la mayoría de expendedores son pequeños ganaderos o revendedores, los mismos que no cuentan con asesoría técnica y aplican fármacos indiscriminadamente en forma empírica. El resultado del presente estudio, difiere de los obtenidos por Pozo *et al.*, (1987), quienes trabajaron en dos pasteurizadoras de la ciudad y una provincia de La Habana (Cuba); allí encontraron

49.43% y 36.11% de positividad a la presencia de residuos antimicrobianos en leche fresca, resultados muy superiores a los nuestros.

Se encuentra también pequeña diferencia con los resultados obtenidos anteriormente, por Pozo *et al.*, (1986), en Cuba, donde 12 establos de la periferia de La Habana, resultaron positivas en un 17.5% de las muestras estudiadas. Esta cercana coincidencia, puede deberse a que en su estudio se efectuó la determinación de residuos de Estreptomicina, empleando para tal efecto un método cuantitativo.

El nivel de contaminación de leche cruda con residuos antimicrobianos del 18.60% obtenidos en este trabajo, resulta perjudicial para la salud humana. Veisseyre en 1980 reporta que la ingestión de leche con penicilina puede provocar una antibioresistencia con infecciones ulteriores complicadas en los lactantes que la ingieren.

De igual modo, se encuentran marcadas diferencias con los reportes de Technical Management Communications (1991), en Grecia y Dinamarca donde 2,0 y 0,0035% de muestras de leche son positivas a residuos de antibióticos. Estos resultados son inferiores a los nuestros, debido, entre otros factores, al control estricto y a las condenas y/o castigos impuestos a la leche contaminada en dichos países. Así mismo los criterios de rechazo y/o castigo de la leche con antibióticos en países como Alemania es considerada no detectable.

En el cuadro 9 se presentan los resultados obtenidos de acuerdo a los halos de inhibición en cada uno de los pH's, en el cual se puede apreciar que a pH 6.0 el promedio determinado como mínimo fue de 1.8 el cual correspondería a una concentración de eliminación de aproximadamente 150 µg/mL y el halo de inhibición mayor fue de 2.7 mm lo cual corresponde a una concentración mayor a 400 µg/mL.

**Cuadro 9:** *Determinación de las concentraciones de antimicrobianos eliminados en leche de acuerdo a los halos de inhibición*

<i>Municipio</i>	<i>Promedios pH 6.0</i>		<i>Promedios pH 7.5</i>		<i>Promedios pH 8.0</i>	
	Halos de inhibición		Halos de inhibición		Halos de inhibición	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Cotija	1.8	2.7	1.5	2.5	1.9	2.9
Quitupán	1.7	3.5	1.5	2.9	1.9	3.0

En un estudio realizado en el 2005, se analizaron 4 marcas comerciales farmacéuticos para el tratamiento de bovino que se venden en la ciudad de México, encontraron un 44.7% como mínimo y 58.3% como máximo en todas las marcas, sobre el contenido de residuos de sulfonamidas, estos valores aunque se refieren solo a sulfonamidas son muy altos tal vez por el método de análisis empleado ya que ellos utilizaron la cromatografía líquida de alta presión (HPLC, por su siglas en inglés), incluso encontraron residuos de cloranfenicol a niveles de 27.2 µg/kg en una muestra, lo cual es grave ya que el cloranfenicol, es una droga que se ha prohibido en ganado lechero, lo que demuestra que se sigue utilizando en forma clandestina (Gutiérrez *et al.*, 2005). En otro estudio muy similar al anterior Ramírez *et al.*, (2001), encontraron también en 102 muestras de cuatro marcas comerciales de productos farmacéuticos en México, la presencia de residuos de ampicilina, dicloxacilina, eritromicina, penicilina G y cloranfenicol en frecuencias superiores al 50%.

### 9.3. Determinación de residuos de antimicrobianos en queso

La presencia de sustancias extrañas e inhibidoras constituye en la actualidad un problema particularmente difícil en el momento de elaboración y la calidad de los productos terminados en general y en particular de los quesos.

En el cuadro 10 se presentan los resultados obtenidos en las 126 muestras de quesos analizados en la cual se puede apreciar que en el municipio de Quitupán fue donde se detecto el mayor porcentaje de muestras positivas.

**Cuadro 10:** *Porcentaje de muestras positivas a residuos de antimicrobianos en queso Cotija*

<i>Municipio</i>	<i>Muestras analizadas</i>		<i>Muestras positivas</i>	
	<i>Numero</i>	<i>Porcentaje</i>	<i>Numero</i>	<i>Porcentaje</i>
Cotija	126	100	13	44.82
Quitupán	126	100	16	57.18

Como se puede apreciar al realizar comparación de cuadro 9 y 10 se observa que en queso la presencia de residuos de antimicrobianos fue inferior a la detectada en leche. El municipio de Cotija fue el que presento el mayor porcentaje de muestras positivas y en el medio ajustado a pH 6.0, lo cual indicaría tentativamente que se están eliminando antimicrobianos como penicilina, tetraciclina o cloranfenicol. Como se menciona anteriormente el hecho de que se detecte un mayor porcentaje de residuos de antimicrobianos a este pH puede ser por la falta de información del productor además de que productos como penicilina, ampicilina entre otros son de más fácil acceso para el productor.

Los residuos de antimicrobianos en la leche independientemente de acciones biológicas (alergias en consumidores, resistencia bacteriana) tienen repercusiones tecnológicas importantes en la elaboración de otros productos lácteos como el yogurt (Tornadijo *et al.*, 1998). Su acción tecnológica principal es la provocación en la transformación en la capacidad de acidificación de la leche. Los cultivos iniciadores, responsables primeramente de la acidificación de la leche después de los cambios bioquímicos que tienen lugar durante la maduración (transformación de la cuajada en queso), se ven inhibidos por la presencia de residuos de antimicrobianos, fallan y se altera el queso obtenido, o al menos no presenta las características organolépticas esperadas (Tornadijo *et al.*, 1998)

**Cuadro 11:** *Residuos de antimicrobianos en queso de los municipios de Cotija y Quitupán*

<i>Municipio</i>	<i>pH 6.0</i>	<i>pH 7.5</i>	<i>pH 8.0</i>	<i>Total</i>
Cotija	6	3	4	13
Quitupan	8	4	4	16
<i>Total</i>	<i>14</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>29</i>

Respecto a los halos de inhibición detectados en quesos se puede apreciar que en pH 6.0 fue donde se detectaron los mayores halos de inhibición que en promedio van de 1.0mm a 2.8 los cuales corresponderían a concentraciones de  $\leq 50$  a  $\geq 400$  mg/mL respectivamente.

El hecho de haber elaborado la curva de calibración permitió establecer concentraciones a las cuales probablemente se estén eliminando estos antimicrobianos, y de esta manera ponen en evidencia que no se están respetando los tiempos de eliminación de los antimicrobianos, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor.

**Cuadro 12:** *Determinación de las concentraciones de antimicrobianos eliminados en queso de acuerdo a los halos de inhibición*

<i>Municipio</i>	<i>Promedios pH 6.0</i>		<i>Promedios pH 7.5</i>		<i>Promedios pH 8.0</i>	
	Halos de inhibición		Halos de inhibición		Halos de inhibición	
	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo	Mínimo	Máximo
Cotija	1.0	2.5	1.2	2.0	1.5	2.4
Quitupán	1.2	2.8	1.2	2.4	1.3	2.6

### 9.4 Determinación de metales pesados en leche y queso Cotija

#### Digestión de alimentos por microondas

En el cuadro 13 se presenta el programa de digestión en horno de microondas utilizado en el presente estudio para la determinación de metales pesados en queso y en el cuadro 14 el programa para leche. Este método, resultó ser más efectivo que la técnica tradicional, lográndose reducir el tiempo de digestión a unas cuantas horas. La modificación al método de digestión que consistió en agregar peróxido de hidrógeno a la muestra para ser digerida con ácido nítrico, permitió tener una oxidación más completa de la muestra y una adecuada mineralización del queso y leche, evitando pérdidas por volatilización del analito.

**Cuadro 13:** Programa de digestión por microondas para muestras de queso Cotija.

Etapa	Reactivo(ml)	Peso(g)	Power (watts)	Tiempo(min)	Rampa (min)
1	a. (HNO <sub>3</sub> ) 0.5(HClO <sub>4</sub> ) 2.0 (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	0.3	600	3	2
1			900	3	1
1			1200	5	1
2			0	15	0

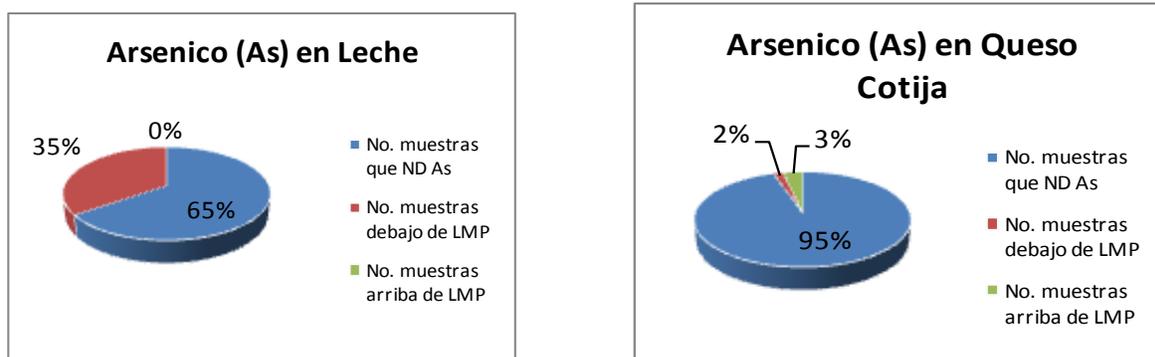
Nota: el digerido se aforo a 10 ml.

**Cuadro 14:** Programa de digestión por microondas para muestras de leche

Etapa	Reactivo(ml)	Volumen (ml)	Power (watts)	Tiempo(min)	Rampa (min)
1	5.0 (HNO <sub>3</sub> ) 0.5(HClO <sub>4</sub> ) 2.0 (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	5.0	600	3	2
1			700	3	1
1			950	5	1
2			0	15	0

Nota: el digerido se aforo a 20 ml.

Contenido de metales pesados en queso y leche



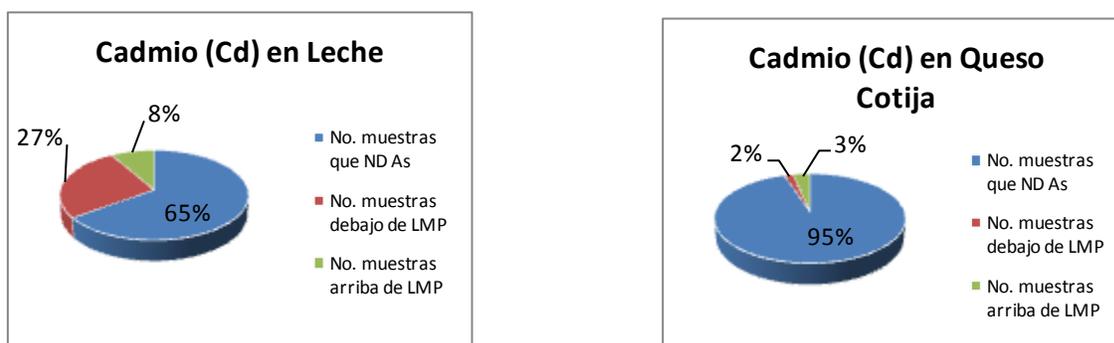
**Figura 14:** *Contenido de Arsénico (As) en queso Cotija y Leche*

Los resultados respecto a los niveles de concentración de As en queso Cotija arrojan que es solo el 3% de las muestras presentan niveles por encima de los LMP y otro 2% presentan niveles por debajo de los LMP y comparando con los resultados obtenidos de las muestras de leche para la producción del queso, se puede apreciar estas muestras de leche no presentan alguna muestra que supere los LMP, sino solamente presenta un 35% de muestras que presentan una concentración por debajo de los LMP, hecho que sugiere que el arsénico puede llegar al queso Cotija por un inadecuado manejo de productos o utensilios, algunos investigadores sostienen que el principal origen de la presencia de As es a través de animales que comen pastos u otros alimentos en zonas contaminadas, debido a que este elemento se encuentra naturalmente en el suelo y por lo cual, los suelos volcánicos constituyen otra fuente de arsénico, suelo característico de la zona de la alimentación del ganado del cual se obtiene la producción del queso Cotija. También puede entrar al agua escorrentía o en agua que se filtra a través del suelo, agua de pozos, o los llamados ojos de agua, de los cuales algunos productores usan esta agua para lavar sus utensilios para la fabricación.



**Figura 15:** Contenido de Plomo (Pb) en queso Cotija y Leche

Todas las muestras de leche presentaron contenido de plomo de las cuales el 98% presentan niveles por debajo de LMP y solo un 2% presentaron niveles por arriba de los LMP, en lo referente a las muestras de queso Cotija todas ellas también presentaron concentraciones de este metal, mas sin embargo, en esta ocasión todas ellas presentan niveles superiores a los LMP. Como consecuencia del análisis de estos resultados se puede comentar que, bajo condiciones normales de producción y procesamiento, no debería tener presencia este elemento, salvo en el caso en que su transporte se haga en tarros con soldaduras de plomo o que se envase en latas. De lo anterior se desprende que en la detección de niveles muy altos de plomo en la leche, con seguridad deberán atribuirse a contaminaciones con recipientes o aguas de lavado antes, durante o posteriormente al proceso de industrialización. De acuerdo a lo anteriormente expresado, deben tomarse precauciones como, por ejemplo, evitar el uso de equipos o tarros lecheros que tengan soldaduras de plomo y el empleo de aguas contaminadas con este metal.



**Figura 16:** Contenido de Cadmio (Cd) en queso Cotija y Leche

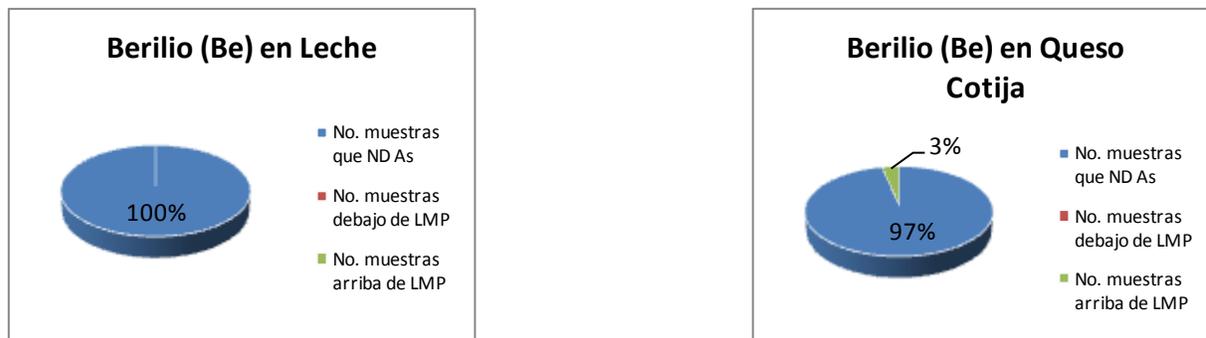
El análisis de cadmio muestra que el queso Cotija presenta solo un 5% de muestras que presentan concentración de este elemento del cual solo el 3% superan los LMP, este análisis comparado con las muestras de leche es muy variable, ya que, en estas muestras se da un resultado del cual 35% de las muestras presentan una concentración de este elemento del cual el 8% de las muestras supera los LMP, la presencia de este elemento puede darse debido a encuentran en la naturaleza y por ello y aunado al libre pastorear del ganado puede darse la presencia de este elemento, así como que es empleado en la fabricación de algunos pesticidas y fertilizantes, aumentando con ello el riesgo de contaminación. Es un veneno de carácter acumulativo y la contaminación de la leche frecuentemente se produce cuando la vaca consume alimentos y aguas contaminados con este elemento. El cadmio tiene la particularidad de combinarse con la crema, caseína y proteínas del suero, razón por la cual, se muestra un resultado de mayor porcentaje encontrado en leche en lugar de el queso.



**Figura 17:** *Contenido de Cobre (Cu) en queso Cotija y Leche*

El Cobre (Cu) se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y es esencial en la nutrición. La presencia de este metal no se vincula con problemas toxicológicos, sino con problemas de tipo organoléptico debido a su influencia en los procesos de oxidación de las grasas. De acuerdo al análisis de resultados de este metal en queso y en leche solo se presento en un 22% (de las cuales el 5% rebasan los LMP) y un 10% (de las cuales ninguna presenta concentraciones por encima de los LMP) respectivamente. Con el objeto de reducir la contaminación directa o indirecta de la leche con este metal, deberían tomarse las siguientes precauciones:

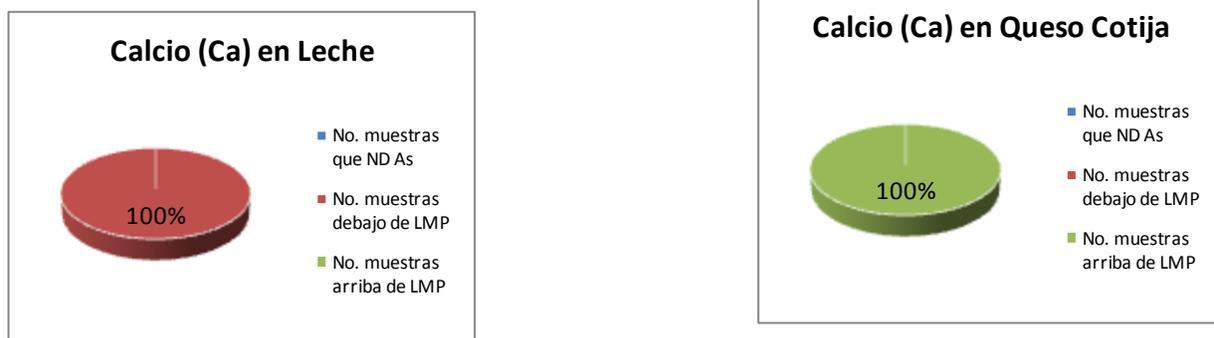
• evitar el uso de utensilios y otros elementos capaces de contaminar el agua, evitar la presencia de materiales de cobre en todas aquellas partes que entran en contacto directo con la leche en las operaciones de limpieza y desinfección, emplear solamente soluciones que eviten la absorción de cobre en paredes de tuberías y tanques de almacenamiento y emplear solución de ácido cítrico diluido (0,03 a 0,04%) en limpieza de tuberías y equipos de ordeño, al final de cada limpieza de rutina.



**Figura 18:** *Contenido de Berilio (Be) en queso Cotija y Leche*

El berilio es un elemento natural. Está presente en una variedad de materiales como por ejemplo rocas, carbón y petróleo, en el suelo y en polvo volcánico, el berilio entra al agua proveniente del desgaste de rocas y del suelo, considerando por este análisis que esta pudiera ser causa de la presencia de Be en queso cuando los productores pudieran estar usando agua que contenga este metal en alguna etapa del proceso de elaboración, más sin embargo como se refleja solo el 3% de las muestras estudiadas reflejan concentraciones de Be y estas concentraciones se encuentran por debajo de exceder los niveles LMP. La mayor parte del berilio que es ingerido por el ganado es eliminado rápidamente en la orina y las heces. La concentración de berilio en zanahorias y maíz crudos cosechados en Estados Unidos es menos de 25 µg por kg de verdura. De este modo, comparado con otros elementos perjudiciales, como el plomo o el cromo, a los cuales estamos obligadamente expuestos diariamente, la exposición al berilio no es significativa, más sin embargo, tanto la enfermedad de berilio aguda como la crónica pueden ser fatales cuando los niveles de exposición asociados con estas enfermedades son más de 100,000 veces más altos que los niveles normales de berilio en el aire. Esto ha sido demostrado en algunos estudios en exposiciones prolongadas al berilio en las cuales han producido cáncer en animales

de laboratorio y en trabajadores han descrito un aumento en el riesgo de desarrollar cáncer del pulmón.



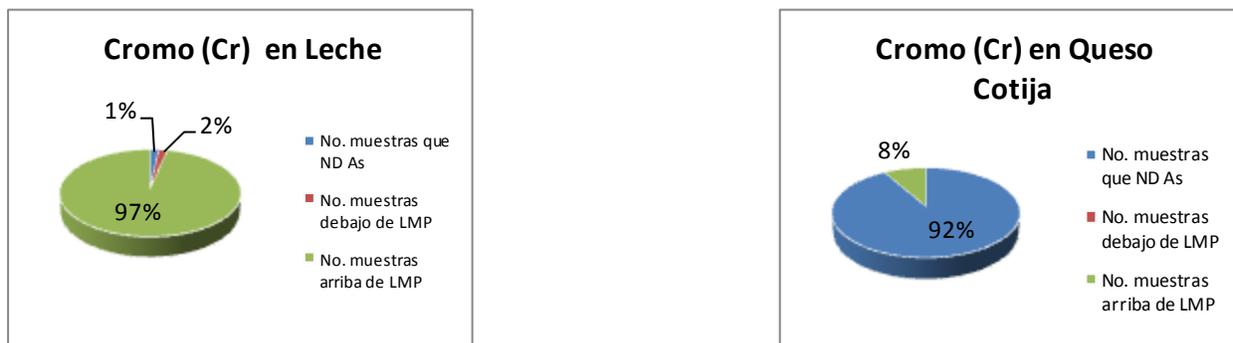
**Figura 19:** *Contenido de Calcio (Ca) en queso Cotija y Leche*

El Calcio (Ca) en leches presenta niveles por debajo de los LPM, pero en queso presenta concentraciones por encima de los LMP, esto puede deberse a que el contenido de minerales en queso es mayor que en leche, destacando que en quesos maduros puede ser de hasta 10 veces mayor (Gil H. A. 2010) Por ello la importancia de consumir lácteos debido a que proporciona un lugar importante en la alimentación. El contenido de calcio en los quesos depende del procedimiento de fabricación en el momento del secado, así el contenido puede variar de 800mg/100g hasta 1200mg/100g (Fricker J. 2004)



**Figura 20:** *Contenido de Cobalto (Co) en queso Cotija y Leche*

El análisis de Co en las muestras de queso presento solamente un 2% de muestras que presentan concentraciones por debajo de los LMP en las muestras referentes a las muestras de leche ellas no mostraron presencia de concentraciones de este metal. Los suelos y el agua son las fuentes principales de exposición al cobalto para la población general siendo ellas también posibles fuentes de contaminación de la presencia de estas concentraciones de Co en el queso.



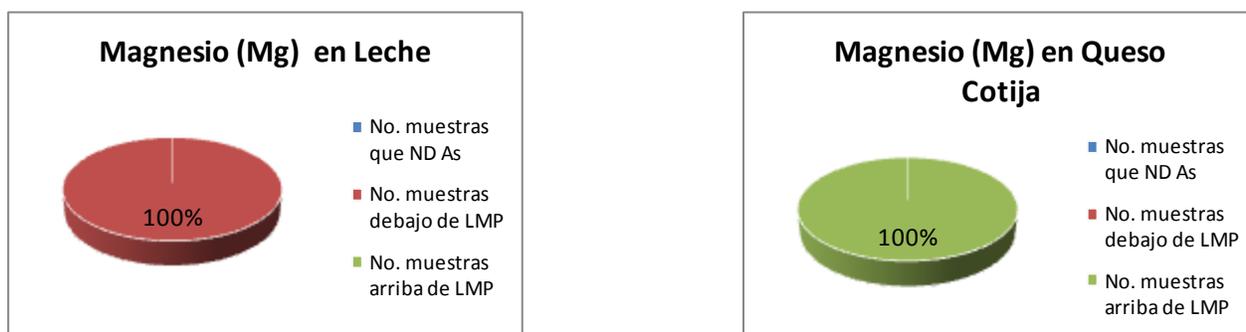
**Figura 21:** Contenido de Cromo (Cr) en queso Cotija y Leche

Los resultados obtenidos demuestran que los niveles de cromo en queso se encuentran por arriba de los LMP tanto en queso como en leche en un 8% y 97% respectivamente y aunque el cromo es un mineral traza considerado como un nutrimento indispensable en humanos y en animales y se requiere para el funcionamiento normal del metabolismo de carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos. Lo anterior sugiere que la ingesta de cromo en leche es elevada, pero en la ingesta de queso no es de la misma consistencia.



**Figura 22:** Contenido de Hierro (Fe) en queso Cotija y Leche

De acuerdo a los resultados obtenidos el queso presenta un 90% de las muestras con niveles superiores a los LMP y la leche presenta un 25% de las muestras por que superan los LMP y aun que el hierro es un elemento necesario en el cuerpo para que se forme la sangre. Estos niveles aunque puede ser procedente de la contaminación de la alimentación del libre pastoreo por la región neovolcánica en donde se alimentan los ganados, la contaminación casi siempre se debe por siempre después del ordeño por contacto de la leche o queso de utensilios oxidados. El hierro es uno de los metales esenciales para el hombre y el más abundante en su cuerpo, resultando deficitario en la mayor parte del mundo. La leche es muy pobre en hierro y cuando no está contaminada, pueden encontrarse cantidades aproximadas de 0,20 - 0,30 mg/kg, sufriendo variaciones entre vacas y durante la lactación, no influyendo en ningún caso la alimentación. En la leche, este metal se encuentra unido a la membrana del glóbulo graso, a la lactoferrina y en menor porcentaje a la transferrina y lactoperoxidasa. La presencia de hierro en la leche es menos peligrosa que la del cobre, debido a que resulta menos acusada su incidencia en la oxidación de los lípidos. Si bien FAO/OMS no consideran al hierro desde un punto de vista toxicológico, deben tomarse precauciones para prevenir problemas



**Figura 23:** *Contenido de Magnesio (Mg) en queso Cotija y Leche*

El Mg, tan necesario en la alimentación del ganado bovino en muchos pozos de agua y suelos se encuentra en exceso, combinado con el sulfato otorgando al agua y al suelo una alta carga de sales totales y el sabor amargo característico en el agua. Se consideran límites máximos: para vacas lecheras de 0,25 g/l, para terneros destetados 0,4 g/l y vacunos adultos 0,5 g/l. (L. Sager R 2004), mas sin embargo los LMP en alimentos son de 150ppm, lo cual, en los porcentajes obtenidos en las muestras de leche reflejan que el 100% de ellas presentan una

concentración de LMP por debajo de estos, en el caso de las muestras de queso observamos que todas las muestras presentan un 100% de concentración por arriba de los LMP



**Figura 24:** Contenido de Manganeso (Mn) en queso Cotija y Leche

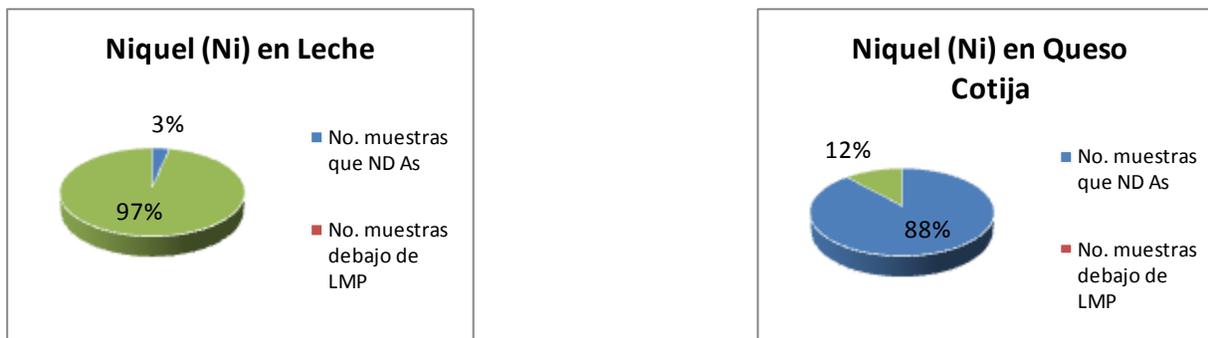
El Manganeso (Mn) presentó concentración por debajo de los LMP en leche hasta en un 95% de las muestras, concentraciones que pueden deberse a la alimentación del ganado por libre pastoreo o el beber agua de corrientes de agua que pasan con algún arrastre de lodo, el queso presentó un 13% en concentraciones por debajo de LMP, pero presentó también un 52% de concentraciones por arriba de los LMP, esto podría deberse al uso de agua de pozo contaminada o utilización de agua subterránea.



**Figura 25:** Contenido de Molibdeno (Mo) en queso Cotija y Leche

El análisis del metal Mo dio como resultado un 93% de muestras que contienen concentraciones de este metal por debajo de los LMP en leche, en queso se presentó solamente un 8% de muestras que presentaban este metal de las cuales solamente el 3% rebasan el LMP. Pruebas de estudios de la ingesta diaria real y de toxicidad en animales de laboratorio a los que

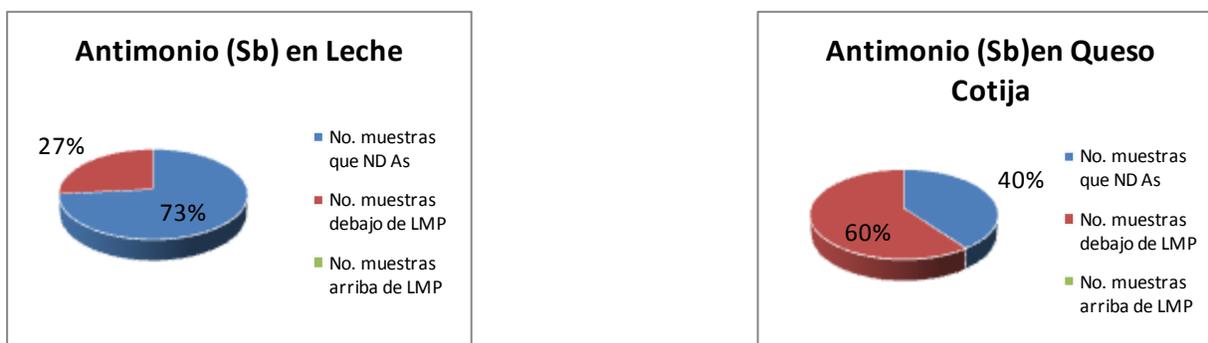
se suministró manganeso en el agua de bebida, un valor de referencia provisional basado en efectos sobre la salud de 0,5 mg/l debería ser adecuado para proteger la salud pública. (OMS, 2003).



**Figura 26:** Contenido de Níquel (Ni) en queso Cotija y Leche

### El Níquel (Ni)

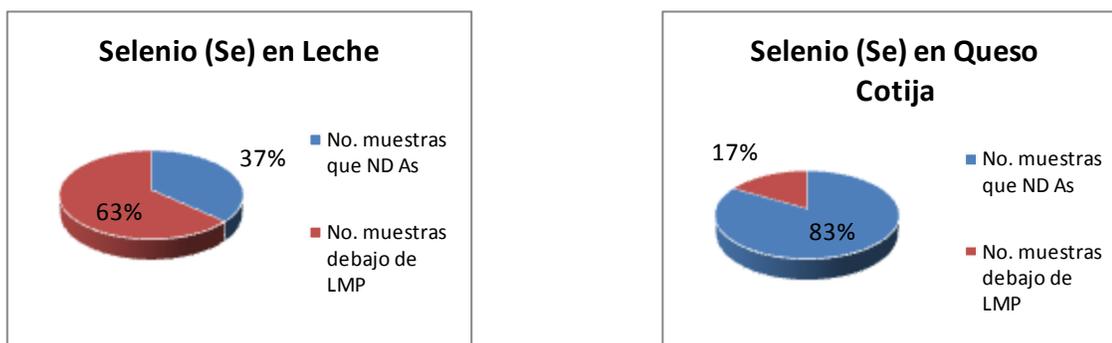
El níquel es uno de los metales pesados, que si bien no es de los más tóxicos, su presencia es indeseable



**Figura 27:** Contenido de Antimonio (Sb) en queso Cotija y Leche

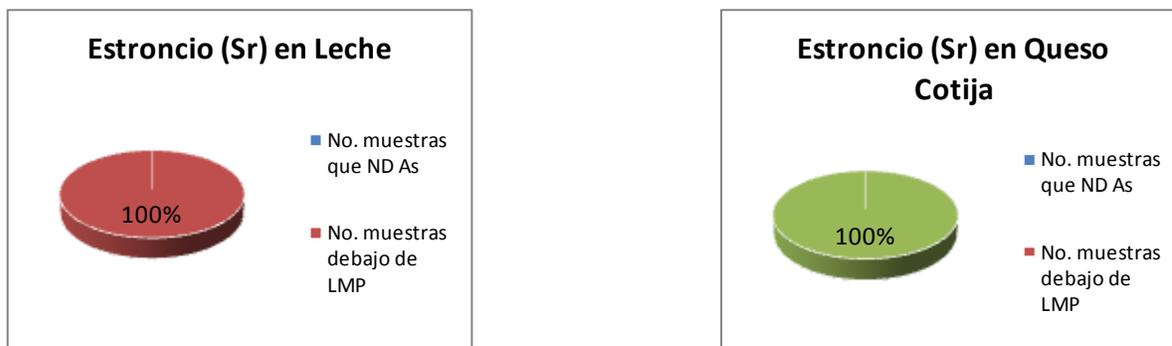
El análisis de las muestras de queso y leche referente a la determinación de Antimonio (Sb) presentaron concentraciones por debajo de los LMP en ambos casos, siendo en un 27% en leches debido probablemente a una contaminación por alimentación de libre pastoreo o el beber agua con arrastre de lodos, y siendo en quesos un porcentaje de muestras del 60% que presentan concentraciones esta mayor cantidad de muestras que presentaron concentración de antimonio

puede ser referida a que algunos utensilios presenten este compuesto, como lo suelen ser los utensilios de hierro esmaltados.



**Figura 28:** Contenido de Selenio (Se) en queso Cotija y Leche

Los resultados del estudio de Se muestran que ninguna muestra sobrepasa los LMP presentándose en un 63% de las muestras de leche y en un 17% de las muestras de queso por lo cual el consumo de ambos productos puede verse como productos que ofrecen un gran antioxidante que, protege a las células de los radicales libres, que interviene manteniendo la salud celular y evitando su degeneración.



**Figura 29:** Contenido de Estroncio (Sr) en queso Cotija y Leche

De acuerdo a los resultados de Sr este presenta en un 100% de las muestras concentraciones por debajo de los LMP, y en el caso también se presenta en un 100% de las muestras, pero en este caso todas ellas sobrepasan los LMP. Las rocas, el suelo, el agua superficial y subterránea, el aire, las plantas de los cuales se alimenta el ganado pueden

contienen diversas cantidades de estroncio. Las cantidades típicas de estroncio que se encuentran en la mayoría de los materiales son del orden de partes por millón (ppm), por lo cual pudiese considerarse estas fuentes de contaminación como vectores por los cuales entra este metal y se va bioacumulando hasta tener presencia en dichos productos.

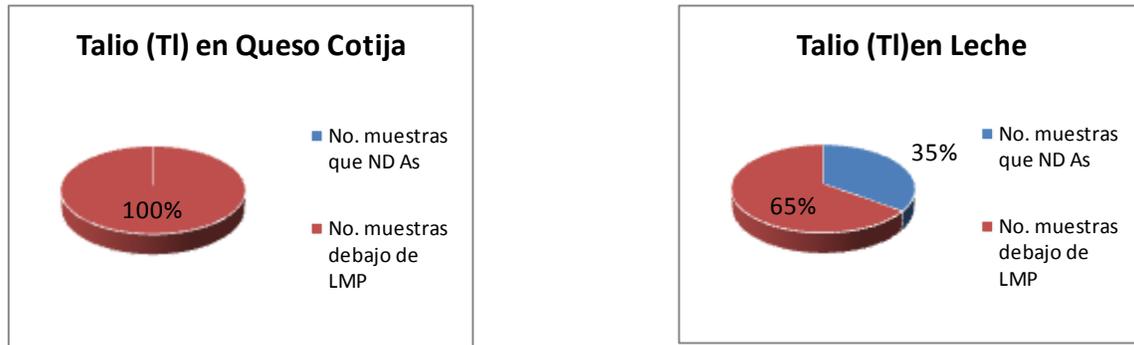


Figura 30: Contenido de Talio (TI) en queso Cotija y Leche

El resultado de este Talio (Ti) en el presente estudio arrojó como resultado que el 100% de las muestras de queso presentan concentraciones por debajo de los LMP y para el caso de las muestras de leche solamente un 35% de las muestras mostraron dichas concentraciones.

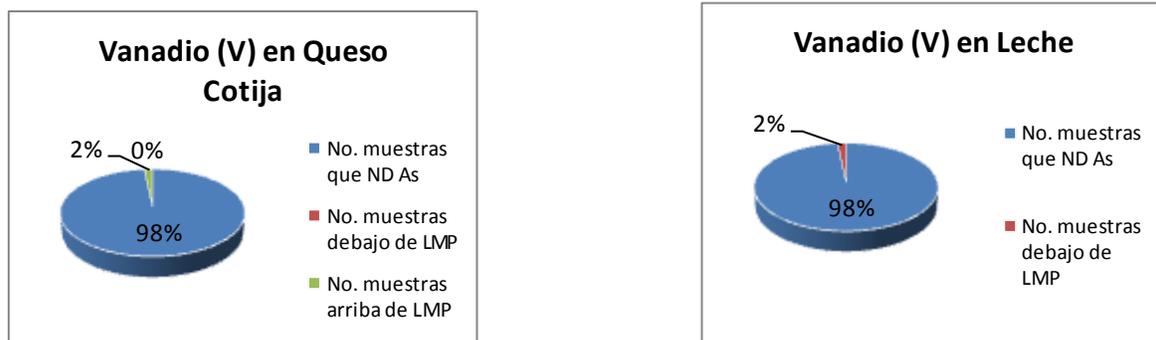


Figura 31: Contenido de Vanadio (V) en queso Cotija y Leche

El estudio del metal Vanadio (V) solamente reporta un 2% de presencia en las muestras de leche estas concentraciones se encuentran por debajo de los LMP, en queso también se presenta solamente el 2% de la presencia de este metal pero en queso sobrepasa los LMP, dado a que la mayoría de las personas están expuestas diariamente a cantidades muy pequeñas de

vanadio en los alimentos, el agua potable y el aire, y donde las mayores cantidades ingeridas provienen de la presencia natural de esta sustancia química en las rocas y el suelo, en leche y queso Cotija no presentan un riesgo potencial el consumo de estos productos.



**Figura 32:** Contenido de Zinc (Zn) en queso Cotija y Leche

Los resultados de Zinc (Zn) fueron que en el caso de las muestras de leche se presentó una concentración debajo de los LMP en un 98% de las muestras y en un 2% de las muestras superaron los LMP, en queso las concentraciones resultantes fueron que en el 100% de las muestras se superan los LMP. Siendo el zinc importante para el crecimiento y para tener una piel saludable, puede optarse por ver al queso Cotija como un producto que es rico en brindar el aporte necesario de este oligoelemento para la salud.

### 9.3. Determinación de Clenbuterol en leche

De 126 (100%) leche analizadas, el 4.75% (6) presentó concentraciones altas (400, 500,600 y 637 ppb), 120 (95.75%) muestras presentaron concentraciones menores a 0, 1.5 y 50 ppb.

En el cuadro 15 se presentan las concentraciones que se obtuvieron de 126 muestras de leche, en la cual se aprecia que la concentración de 400 ppb (2.38%) fue la que presentó el mayor número de positivos, seguido de la concentración de 500 ppb (1.58%) y con un menor porcentaje la concentración de 637 ppb (0.79%). Así mismo, en las leches analizadas se encontró el 69.84% negativos a la presencia de clenbuterol.

Estos resultados son el reflejo de la falta de vigilancia que existe, las cantidades que están reportadas son altas, sin embargo, es una evidencia de que no se respeta lo estipulado por la normatividad.

**Cuadro 15:** *Concentraciones de Clenbuterol en muestras de leche*

Concentraciones ppb	Frecuencia	% de positividad
400	3	2.38
500	2	1.58
600	0	0.00
637	1	0.79
0	88	69.84
1.5	25	19.84
50	7	5.55

En la República Mexicana, se tiene reportados varios brotes de intoxicación, los cuales se presentaron en enero del 2001, en los estados de Jalisco y Querétaro. En Morelia Michoacán en octubre se presentaron 39 casos, por el consumo de hígado de bovino contaminado, procedente de Jalisco y Guanajuato (Beltran, 2003).

Por otro lado Manzano *et al.*, 2006, reportan los resultados que obtuvieron en un estudio realizado en el estado de Hidalgo en 32 rastros municipales, los cuales reportan haber encontrado el 16.98%.

Los alimentos de origen pecuario que contengan residuos de Clenbuterol puede causar trastornos a la población humana, así mismo el hígado es el órgano más peligroso para su consumo por contener cantidades más elevadas de residuos y poder provocar intoxicación en los humanos.

Existe un gran interés económico por parte de los ganaderos ya que si incluyen en la dieta de sus animales productos anabólicos, obtienen mayores ganancias en el rendimiento de la canal

al comercializar carne con menor contenido de grasa y, por otro lado, tienen también ahorros en la alimentación y cuidados de los animales por la reducción en el tiempo para su envío al sacrificio.

Las sanciones que hasta el momento la legislación indica para los productores que utilizan clenbuterol, no son lo suficientemente fuertes ya que con facilidad se cubren las multas y muy difícilmente se procede a un encarcelamiento debido a que aunque sí representa una infracción a la ley y sí tenga repercusiones de salud, aún no se registran muertes por el consumo de carne contaminada con clenbuterol, los abogados son hábiles en el manejo de la interpretación de la legislación y además, existen las “influencias” que tanto afectan a la aplicación equitativa de las sanciones legislativas. En este punto cabe aclarar, que la Ley Federal de Sanidad Animal se encuentra en revisión y se ha propuesto incluir lo siguiente: “aquél que por cualquier medio, utilice sustancias para el uso o consumo de animales que perjudiquen la salud de éstos o la humana, se le impondrá una pena de 2 a 6 años de prisión y multa hasta por 1000 veces el salario mínimo vigente. (Art. 63).

La ambición y la falta de ética hacen que algunos productores continúen con la inclusión de clenbuterol en la dieta de sus animales con el argumento de que si la carne no es magra, los introductores (sobre todo de la parte central del país), les castigan el precio de compra. Los consumidores pueden dejar de comer carne, principalmente de hígado, como ya ha sucedido, pero también puede ayudar el que los responsables de comprar de los rastros o centros de distribución canales completas para su posterior venta en cortes, incluyan en su programa de control de proveedores, el envío de muestras a laboratorios autorizados para verificar la ausencia de residuos de clenbuterol, y en caso de encontrarlos, notificar a las autoridades para que investiguen el origen del producto y apliquen las sanciones correspondientes.

## 10. CONCLUSIONES

- Para la elaboración de cualquier producto lácteo, es importante conocer los procesos básicos que fundamentan la transformación de la leche y las actividades a realizar por las personas, además de los cuidados de higiene y sanidad desde la alimentación y cuidados del ganado, su proceso de elaboración y hasta el cuidado del producto hasta su consumo, lo que permiten mantener a los productos con una calidad e inocuidad que garantice una calidad garantizada.
- La frecuencia de residuos de antimicrobianos en leche fue alta, esto se debe muy probablemente a la falta de observación del periodo de los antimicrobianos que son utilizados en bovinos con fines terapéuticos.
- La frecuencia de residuos de metales en quesos y leches es alta, y aunque muchas muestras de quesos y leche muestran LMP superiores hay que considerar que algunos de estos residuos corresponden a oligoelementos que pueden ser benéficos para el funcionamiento del organismo; para metales considerados tóxicos como As y Pb que están contemplados en la NOM-735-COFOCALEC con concentraciones de 0.5 ppm para As y 0.1 ppm para Pb y que en el análisis de resultados obtenidos superan estas concentraciones es necesario continuar con estudios para lograr llegar a determinar la procedencia de la fuente de contaminación para garantizar su ausencia tanto en queso Cotija como en la leche utilizada para su elaboración, para que estos productos no representen un riesgo a la salud del consumidor.
- Con lo que respecta a la presencia de residuos de Clenbuterol en leche el 4.57% presentó concentraciones elevadas, lo cual pone en manifiesto que no se están respetando los tiempos de eliminación, los cuales pueden causar efectos dañinos a la salud del consumidor.

## 11. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. AAFCO. 1996. Association of American Feed Control Officials. Official Publication. pp.: 230. American Academy of Pediatrics (1996) Pediatrics 97(3): 413-416.
2. Alais C. 2001. Ciencia de la leche. CECSA. México. pp 95-109.
3. Álvarez B. R., Barragán L. E. y Chombo M P. 2004. Reglas de uso de la Marca Colectiva Queso Cotija, Región de Origen, Zamora, El Colegio de Michoacán. pp 20.
4. Anadón A, Martínez-Larrañaga MR. 1999.. Residues of antimicrobial drugs and feed additives in animal products: regulatory aspects.
5. Ares C. JL. 2002. Calidad de los Quesos: Fundamentos y aspectos generales. Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. 15 (1) 139-159.
6. Barragán E. 2003. “Por una orientación plural del porvenir. Proceso de certificación y patrimonio cultural en la Sierra de Jalmich”. En: Oscar González (Coord) Estudios Michoacanos X. Zamora. El Colegio de Michoacán. pp. 17 y anexos.
7. Barragán L. E. 1990. Más allá de los caminos, los rancheros del Potrero de Herrera, Zamora. El Colegio de Michoacán. pp. 4-220.
8. Barragán L. E. 1997. Con un pie en el estribo. Formación y deslizamientos de las sociedades rancheras en la construcción del México moderno. Zamora, El Colegio de Michoacán-Red Neruda. Pp. 4-67.
9. Barragán L. E. y Chávez T. M. 1998. El queso Cotija se nos va de las manos en: OIKIÓN, Verónica (Coord) Manufacturas de Michoacán.. México, El Colegio de Michoacán/Gobierno del Estado. Pp. 4-67
10. Barragán L. E., Chávez T. M. y Linck T. 2007. “Choix technique et patrimonialisation: les enjeux de la qualification du fromage Cotija”. Pp. 22.
11. Barragán López E. 1997. “La Rancherada en México, S.A. de C.V. 18(69):121-162
12. Barrios C. HX. 2006. Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada, elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Tesis de licenciatura. Pp. 8-35

13. Bavera,G., Bocco O., Beguet H., Petryna A. 2002 Promotores del crecimiento y modificadores del metabolismo. Cursos de Producción Bovina de Carne, F.A.V. UNRC. Pp. 1-4
14. Bertullo E. y Pollak A. 2001. Análisis de peligros y evaluación de riesgos en productos pesqueros sensibles comercializados en el Uruguay. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria Instituto de Investigaciones Pesqueras. Pp.1-4
15. Bilos C., Colombo JC, Presa MJR. 1998. Trace metals in suspended particles, sediments and Asiatic clams (*Corbicula fluminea*) of the Río de la Plata Estuary, Argentina. Environ. Pollut. 99:1-11
16. Boggio J. C. y Litterio N. J. 2010. Farmacocinetica y residuos de antimicrobianos. Asociación Pro Calidad de la Leche y sus Derivados. Pp. 1-17
17. Caldas I. LC. y Ogeerally O. PA. 2008. Microorganismos indicadores de interés sanitario en queso artesanal tipo “Telita”. Upata, municipio Piar, estado Bolívar. Universidad de Oriente Núcleo Bolívar Escuela de Ciencias de la Salud “Dr. Francisco Virgilio Battistini Casalta”. Pp. 1-14
18. Chombo M. P. 2005. “Experiencia de un encuentro inesperado. La apropiación de una propuesta tecnológica para la producción artesanal con certificación de origen y calidad del queso Cotija.”. En: E. Barragán (ed), Gente de campo. Patrimonios y dinámicas rurales en México. El Colegio de Michoacán. pp. 481-500
19. Chombo M. P. 2003 “Queso Cotija. El queso que busca la certificación de su origen”. Curso-taller sobre los Sistemas Agroindustriales Localizados. Pp. 11
20. COFOCALEC. 2011. Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. Citado en: <http://cofocalec.org.mx/interna.php?tipo=1&id=178>.
21. Cruz, A.M, Pérez D.M, y Velázquez Q.F. 1986. Frecuencia de la contaminación de la leche disponible en el Valle de México con estreptomycin, tetraciclina y penicilina. Salud Pública de México. 28(4): 432-438
22. Cuadrado V. MaC. 2000. Ingesta de Contaminantes-Metales pesados- y nutrientes potencialmente tóxicos vía dieta total en Andalucía, Galicia, Madrid y Valencia.

- Departamento de nutrición facultad de farmacia universidad complutense Madrid. Tesis Doctoral. Pp. 4-167.
23. Dabove, O. 1984. Estimulantes del crecimiento. Centro de Investigación y Tecnología de Carnes. Instituto Nacional de Tecnología Industrial. 14(81):14.
  24. Decreto supremo 2009 minam aprueba los límites máximos permisibles (LMP) de emisiones atmosféricas y efluentes líquidos para la industria siderúrgica.
  25. Errecalde J. O. 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo “incidencia del desarrollo de resistencias en la salud pública. Pp. 2-44
  26. FAO (2000) *Infections and intoxications of farm livestock associated with feed and forage*. [www.fao.org/es/ESN/animal/animapdf/annex4.pdf](http://www.fao.org/es/ESN/animal/animapdf/annex4.pdf).
  27. FAO. 1966. Código de principios referentes a la leche y productos lácteos. Programa conjunto FAO/OMS. Normas alimentarias. Roma, Italia.
  28. FAO/OMS (2000) *Informe de la 32ª reunión del comité codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos*. [www.codexalimentarius.net](http://www.codexalimentarius.net).
  29. FAO/OMS Consulta de Expertos de Expertos en la Aplicación del Análisis de Riesgos a Cuestiones de normas Alimentarias (1995), Ginebra.
  30. FAO/OMS. 2003. Garantía de la inocuidad y calidad de los alimentos: directrices para el fortalecimiento de los sistemas nacionales de control de los alimentos. Pag. 4-74.
  31. Fernandez E E. 2000. Microbiología e Inocuidad de los Alimentos, “Lacteos”. pp 590 – 592.
  32. Fernández S. A. 2003. Residuos de medicamentos veterinarios en alimentos de origen animal. Énfasis alimentación. IX (1): 40-47
  33. Ferrer A. 2003. Intoxicación por metales. ANALES Sis San Navarra, . 26(1): 141-153.
  34. Gabrielli Favretto, L. 1990. Investigation of trace element content of chesse. Food addit. Contam. Vol. 7: 425-432.
  35. Gil Hernández Ángel. 2010 Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos Editorial panamericana, 2ª ed. Tomo II cap. 26-30: 490-697
  36. Gimeno, M. J. 1985. Anabólicos y toxicidad. Centro de Estudios para el Desarrollo de la Industria Químico-Farmacéutica Argentina. Nº 51.
  37. Gonsior SJ, Sorci JJ, Zoellner MJ, Landenberger BD. 1997. The effects of EDTA on metal solubilization in river sediment/water systems. J Environ Qual 26:957–966

38. Gutiérrez R, Noa M, Díaz G, Vega S, González M, Prado G. 2005. Determination of the presence of 10 Antimicrobial Residues In Mexican Pasteurized Milk. *Interciencia.*; 30(5): 291- 294
39. Hernández C. L., Pacheco G. C., González A. D. G., Ramírez A. A.. 2006. Clenbuterol en retina de bovino. *Avances en la investigación científica en el CUCBA*. ISBN 970—27-27-1045-6. pp. 742-747.
40. ICMSF. 1998. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods. In: *Microbial ecology of Foods Communities*. Blackie Acad. & Profess. Press. London.
41. IMPI, 2006. Guía del usuario de signos distintivos. 48 pp.
42. Jiménez S. de la M., Garza R. J., Sumano L. H. 2011. Vigilancia sanitaria en el uso ilícito del clenbuterol y su coordinación intersectorial en dos entidades de México *Sanitary surveillance on illegal use of clenbuterol and its intersectoral coordination in two states of Mexico* *rVet. México*. 42 (1):1-12
43. Johnston, R. W., Reamer, R. H., Harris, E. W., Fugate, H. G., and Schwab, B., 1981, A new screening method for the detection of antibiotic residues in meat and poultry tissues. *Journal of Food Protection*, 44: 828- 831.
44. Keyyu, J.D., Kyvsgaard, N.C., Kassuku, A.A. y Willingham, A.L. (2003). Worm control
45. Kosikowski F V. 1977. *Cheese and Fermented Milk Foods*. 2nd Edn. Edwards Brothers Inc., Ann Arbor, MI. pp: 44.
46. Lauwerys R. 1994 *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales II*. ed. MAsson. cap. 1, pp. 115-119.
47. Límites Máximos Permisibles (LMP) a las descargas de aguas residuales en los sistemas de recolección de alcantarillado sanitario republica de Perú Decreto Supremo.
48. Lixcea Hernández Contreras, Carlos Pacheco Gallardoy I.. 2006. Aplicación de la técnica de elisa para la determinación de clenbuterol en retina de bovino. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*.
49. Magariños H. 2000. Producción higiénica de la leche cruda “Una guía para la pequeña y mediana empresa” 11-71
50. Manahan S. E. 2007. *Introducción a la Química Ambiental*. Editorial Reverté. Primera edición.

51. Martín B. 1998. Antibióticos y sulfas en sistemas de crianza intensiva TecnoVet, Norteamérica. Disponible en: <http://www.revistas.uchile.cl/index.php/RT/article/viewArticle/6245/6101>.
52. Mathews CK y Van Holde K. E.. 1998. Bioquímica. 2ª Ed. Madrid: McGraw-Hill.
53. Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, Salud ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/m127ssa14.html>
54. NOM-121-SSA1-1994 Bienes y Servicios. Quesos: frescos, madurados y procesados. Especificaciones sanitarias
55. Nordberg Gunnar. 2001 Metales propiedades químicas y toxicidad Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo, Cap. 63, vol. III Ministerio y asuntos sociales. 63.2-63.28
56. Okerman L, Croubels S, De Baere S, Van Hoof J, De Backer P, De Brabander H. 2001 Inhibition tests for detection and presumptive identification of tetracyclines, beta-lactam antibiotics and quinolones in poultry meat. 18(5):385-93
57. Olsen S. E., MacKinnon I. C., Goulding. 2000. Surveillance Summaries. 49 (1):1-63.
58. Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (World Organization for Animal Health (OIE)). 2006
59. Pérez F. N., Vega y León S., Gutiérrez T. R., Díaz G. G., Monroy y H. C., Coronado H. M. . 2001. Residues of Veterinary Drugs and organophosphorus pesticides in milk and milk products. Pp:1-9
60. Pérez J. I. 2005. Ensayos de familiarización en la técnica de detección de residuos de antibióticos y sulfamidas en músculo esquelético animal por el método de las cuatro placas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales Carrera de Licenciatura en Tecnología de Alimentos. Pp 13-20
61. Poméon T. 2007. El Queso Cotija México, “Un producto con marca colectiva queso “Cotija Región de origen”, en proceso de adquisición de una Denominación de Origen”. Universidad Autónoma de Chapingo. CIESTAM. Pp. 9-42
62. practices and anthelmintic usage in traditional and dairy cattle farms in the southernhighlands of Tanzania. *Veterinary Parasitology*, 114: 51-61.

63. PROY-NMX-F-735-COFOCALEC Sistema producto leche-alimentos-lacteos-alimento lacteo regional-queso Cotija artesanal madurado-denominacion, especificaciones y metodos de prueba.
64. PROY-NOM-243-SSA1-2005 Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba
65. PROY-NOM-243-SSA1-2005 Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
66. Rauret, G.; Rubio, R.; López-Sánchez, J.F.1989. Optimization of Tessier procedure for metal solid speciation in river-sediments. *Intern. Environ. Anal. Chem.* 36, 69-83.
67. Rey A. M., Silvestre A. A. 2001. Comer sin riesgo 2. Las enfermedades transmitidas por alimentos. Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur. Pp. 235-242.
68. Rimblas C. ME y col. 2004 Los compuestos Químicos en los alimentos desde la perspectiva de la seguridad alimentaria. Consejería de Sanidad, Dirección General de Salud Pública Servicios de Seguridad Alimentaria y Zoonosis. Pp. 23-32
69. Rodríguez Sánchez, M. 2003. Determinación de presencia y concentración de metales pesados en leche bronca. Tesis de Licenciatura. Ingeniero en industrias Alimentarias. Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 86p.
70. Roig S. AX.. 2011. Riesgos y peligros en los productos lácteos. Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos Universidad Autónoma de Barcelona. Disponible en: [http://www.portalechero.com/innovaportal/v/739/1/innova.front/riesgos\\_y\\_peligros\\_en\\_los\\_productos\\_lacteos\\_.html?page=2](http://www.portalechero.com/innovaportal/v/739/1/innova.front/riesgos_y_peligros_en_los_productos_lacteos_.html?page=2)
71. Rubio C., Gutiérrez A. J., Martín R. E.,Revert C., Lozano G.Hardisson A. 2011. El plomo como contaminante alimentario. *Rev. Toxicol.* 21:72-80.
72. Sanz P. B. 1995. Problemas de salud pública ocasionados por el empleo en alimentación del clenbuterol y otros agentes promotores de crecimiento (1ª parte. Eurocarne. No. 37. pp 23-34
73. Sanz P. B. 1995. Problemas de salud pública ocasionados por el empleo en alimentación del clenbuterol y otros agentes promotores de crecimiento (2ª parte. Eurocarne. No 38. pp. 57-66.

74. Siaka, M., C.M. Owens, and G.F. Birch. 1998. Evaluation of some digestion methods for the determination of heavy metals in sediments samples by flame-AAS. *Anal. Lett.* 31:703–718.
75. Silvestre, A. A. 1995. *Toxicología de los alimentos*, Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur. Pag. 391-398
76. Sumano L. H., y Cols. 1997. *Farmacología veterinaria* 2da. Ed. México, Mc graw Hill, Interamericana, pp.396-459.
77. Sunderman WF. 2001 Metales propiedades químicas y toxicidad *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*, Cap. 63, vol. III Ministerio y asuntos sociales. Pp. 63.35-63.51.
78. Thomas J. A., Pedley M. H., Weidmann P., Weidmann P., R., y Boggio JC.. 2008. Análisis de riesgo (HACCP) antimicrobianos en leche cruda (comunicación). *revista argentina de producción animal.* 28 (2). 99-110.
79. Vasek O. M, Cardozo M. C., Fusco A. J V. 2008. *Producción Artesanal de Quesos. Sistema de Transformación Agroalimentario en la Región Correntina (Argentina)*. IV Congreso Internacional de la red SIAL. Pp. 32
80. Villegas G. A.. 2004. *Tecnología quesera*. México. Editorial Trillas. pp. 398.
81. Yépez D. J. F. 2011. *Estudio de impactos ambientales ocasionados por la construcción de la planta de tratamiento biológico de aguas residuales para las parroquias de Chaltura y Natsbuela*. Pp 20-32