



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

CUANTIFICACION DE COLESTEROL EN QUESOS POR HPLC

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

HIRAM RUIZ MORALES

A S E S O R:

MC. JOSE LUIS SILENCIO BARRITA



MÉXICO DF

AÑO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Francisca Iturbe Chiñas

VOCAL: Josefina Elizalde Torres

SECRETARIO: José Luis Silencio Barrita

1er SUPLENTE: José Mariano Garibay

2do SUPLENTE: Leticia Gil Vieyra

Sitio donde se desarrolló el tema:

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN**

INCMNSZ

Asesor del tema: M. en C. José Luis Silencio Barrita. _____.

Sustentante: Hiram Ruíz Morales. _____.

Dedico este trabajo a mis Padres, hermanas y sobrina.
Y en especial al Master José Luis Silencio Barrita.
Gracias a sus enseñanzas y generosidad,
encontré un nuevo sentido a la Química
y a la vida mundana.

A mi tío Cenobio su gesto
fue fundamental para
mi formación académica.

INDICE

	Pág.
INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	2-3
ESTUDIOS PREVIOS.....	3-8
GENERALIADES DE LOS ESTEROLES.....	8
QUIMICA Y FUNCIONES DEL COLESTEROL.....	9-10
REGULACIÓN DE LA SINTESIS DE COLESTEROL.....	11-12
METABOLISMO DEL COLESTEROL.....	12-14
IMPORTANCIA CLINICA DEL COLESTEROL.....	13-14
REQUERIMIENTOS.....	15
LÍPIDOS DE LA LECHE	16-17
DEFINICIÓN DE QUESO.....	17-18
CLASIFICACIÓN.....	18-19
PRODUCCIÓN DE QUESO.....	20-21
OBJETIVOS.....	22
JUSTIFICACIÓN.....	23
BENEFICIOS.....	24

DISEÑO DEL ESTUDIO.....	25-26
▪ UNIVERSO DE TRABAJO.....	26
▪ CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	26-27
▪ TAMAÑO DE LA MUESTRA	27
▪ CRITERIOS DE SELECCIÓN DE MUESTRAS.....	28
▪ VARIABLES A MEDIR.....	28
▪ FRECUENCIA DE MEDICIONES Y CRITERIOS DE ÉXITO Y FALLA...28	
▪ ESTRATEGIA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	28-29
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	29-33
METODOLOGIA.....	33-36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
VALIDACIÓN.....	37-42
▪ LINEALIDAD.....	42-53
▪ EXACTITUD.....	54-60
▪ PRECISION.....	60-65
▪ ROBUSTEZ.....	65-70
▪ SENSIBILIDAD.....	71-72
▪ RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
RESULTADOS	
ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS DE QUESO.....	73-78
▪ CONTENIDO DE LÍPIDOS.....	79-91
▪ CUADRO DE CONTENIDO LIPIDICO.....	92
▪ CUADRO COMPARATIVO DE LIPIDOS.....	93
▪ CONTENIDO DE COLESTEROL.....	94-101
▪ CUADRO DE CONTENIDO DE COLESTEROL.....	102
▪ CUADRO COMPARATIVO DE COLESTEROL.....	103

RESULTADOS FINALES.....	104
CONCLUSIONES.....	105-106
BIBLIOGRAFÍA.....	107-113
ANEXOS	
▪ ENCUESTA DE CONSUMO DE QUESO.....	114
▪ RESULTADOS DELA ENCUESTA PARA CONSUMIDORES DE QUESO	115-117
▪ CONSTITUYENTES DE LOS QUESOS ANALIZADOS.....	118-120
▪ CONSUMO PER CAPITA DE QUESOS EN MEXICO.....	121

INTRODUCCION

Existen evidencias que consideran al colesterol como uno de los principales factores de riesgo en las enfermedades cardiovasculares (Bourges, 1984), por lo que es recomendable que las personas con este tipo de padecimientos controlen su ingestión de colesterol. Para esto es necesario conocer el contenido de colesterol de los alimentos comúnmente incluidos en la dieta. Al respecto pocas tablas de composición de alimentos incluyen el contenido de colesterol en alimentos mexicanos así por ejemplo la tabla del valor nutritivo de los alimentos de Muñoz (2002), solo tiene referencias de otros países como España, Estados Unidos (CODEX, USDA) que no se pueden extrapolar y usar como tal en México, por el simple hecho de que es diferente el tipo de alimentación y que no existen equivalencias entre quesos nacionales con los quesos informados en las tablas mencionadas anteriormente.

La cuantificación de colesterol en alimentos se realizaba por métodos colorimétricos, pero se ha demostrado que estos métodos son en general poco eficientes, debido a interferencias por otros esteroides presentes. Sin embargo los métodos cromatográficos han dado buenos resultados en la cuantificación de colesterol en alimentos. Existen métodos enzimáticos pero su uso es limitado debido a su alto costo y solo se utilizan en química clínica (Bender 1987).

ANTECEDENTES

En los últimos años, se ha incrementado la necesidad de analizar y estudiar el colesterol en los alimentos ya que un elevado consumo de grasa en la dieta se asocia con obesidad y con hiperlipidemia (niveles excesivamente altos de lipoproteínas en sangre). Se considera que la hiperlipidemia es un factor de riesgo que predispone a las enfermedades cardíacas. Por esta razón, en numerosos países unos de los puntos esenciales de los programas de medicina preventiva es la reducción del consumo de grasa. En algunos países la industria láctea ha sido capaz de responder a estos requerimientos introduciendo en el mercado productos como la leche descremada, los yogurts de bajo contenido graso, etc. (Casanueva, 1994).

Tanto la ingestión de colesterol como de ácidos grasos saturados en la dieta se ha asociado con niveles elevados de colesterol en sangre, se considera como un factor de riesgo de enfermedades cardiovasculares.

El colesterol tiene una importancia clínica muy importante ya que también está asociado con la aterosclerosis, que es la forma más común de la arteriosclerosis (endurecimiento de las arterias). La aterosclerosis es una enfermedad progresiva que inicia en forma de depósitos de lípido intracelular en las células del músculo liso de la pared interior de la arteria. Estas lesiones acaban transformándose en placas fibrosas calcificadas que estrechan e incluso bloquean las arterias. (Devlin T. 1989).

El descubrimiento de la presencia de colesterol en los ateromas despertó la sospecha de que la aterosclerosis tuviera un origen alimentario. Se conjeturó sobre la posibilidad de que una ingestión excesiva de colesterol produjera concentraciones exageradas de esta sustancia en la sangre y que, a la larga, se precipitara en la pared de las arterias.

El efecto de la grasa láctea sobre los niveles de colesterol en sangre se ha estudiado por separado de los otros factores de la dieta. La grasa láctea sola, por ejemplo, puede causar un incremento de los niveles de colesterol en sangre, mientras que la leche entera puede dar lugar a una ligera reducción. (Spreer, 1992).

La situación general con respecto a la grasa láctea y consumo de las diferentes variedades de queso y la enfermedad, es habitualmente confusa por la controversia entre argumentos a favor y en contra y tanto la industria láctea como sus competidores hacen uso de pruebas científicas muy parciales. Una de las mayores dificultades para llegar a un acuerdo, es que el debate se ha centrado en las propiedades de los componentes individuales de la dieta, ignorando la importancia de la dieta global, y sobre todo, del estilo de vida. No hay duda de que muchas personas se beneficiarían de un menor consumo de grasa, pero otros factores como el ejercicio, la reducción del consumo de tabaco y alcohol y la eliminación del estrés tienen la misma o mayor importancia.

Se han realizado estudios y metodologías para determinar y cuantificar el colesterol, entre ellos se encuentran la electroforesis capilar en medio no acuoso (NACE) que fue propuesta por Xu (2001), que ha sido extensamente aplicado en componentes lípidicos y a lipoproteínas, se basa en un medio no acuoso de comunicación, que consta de un electrolito conductor en un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes orgánicos. Las ventajas del método NACE es que tiene una alta sensibilidad en la detección de colesterol. También se han utilizado métodos simplificados con cromatografía de gases propuestos por varios autores entre ellos se encuentra Paterson (1997), el análisis simplificado consistió en la modificación y reducción del peso de la muestra y la cantidad de extracto en obtenido en un factor de diez.

El método propuesto represento un sistema simple ya que ahorro tiempo, fue exacto, preciso y permitió la determinación cuantitativa de colesterol y el contenido de ácidos grasos sobre la misma muestra.

Los métodos en los cuáles se han determinado los lípidos totales, colesterol y ácidos grasos han sido estudiados ampliamente. Bragagnolo (2002), realizó varios estudios en carne de cerdo (adultos y en etapa de lactancia) para saber si la edad, el tipo de dieta y la genética tienen influencia sobre la cantidad de lípidos colesterol y ácidos grasos.

Se observó que la cantidad de colesterol disminuyó con la edad tanto en la carne como en la piel. Los lípidos totales en la carne disminuyeron ligeramente con la edad pero aumentó considerablemente en la piel. En la carne y en la piel de cerdos en etapa de lactancia y en cerdos adultos, los ácidos grasos encontrados no presentaron diferencias aunque sí se presentaron diferencias en las cantidades.

Los porcentajes de ácidos grasos saturados no variaron con la edad, pero en el caso de los ácidos grasos monoinsaturados sí se presentaron ciertas variaciones, eran un poco más altos y en el caso de los ácidos grasos poliinsaturados fueron muy bajos en la carne de los cerdos adultos. En la piel, los porcentajes de ácidos grasos saturados aumentaron, mientras los ácidos grasos poliinsaturados disminuyeron ligeramente con la edad.

En conclusión se observó que los ácidos grasos y el colesterol se ven influenciados por la edad, la dieta y la genética.

Los métodos fluorométricos han sido muy importantes en el estudio y cuantificación del colesterol. Amundson (1999) diseñó un método en el cual utilizó un procedimiento enzimático y fluorométrico para la determinación de colesterol, éste método consistió en utilizar ésteres de colesterol que fueron hidrolizados por la colesterol esterasa (CE), el colesterol se oxidó por la enzima oxidasa (CO) para producir cetona como producto principal e hidrógeno como producto secundario.

El éxito del método enzimático depende de las propiedades y medición del hidrógeno. Hay dos tipos de métodos para la determinación enzimática con H_2O_2 : El cromométrico y el fluorométrico. En general, el método cromométrico es más sensible que el método fluorométrico. En este caso se utilizó el método, fluorométrico que es sensible en la determinación del contenido de colesterol en suero y en muestras de alimentos.

Park (1998) cuantificó el colesterol por colorimetría en quesos de cabra. Se ocuparon cinco variedades americanas y diez variedades importadas (nueve de Francia y una de Noruega) de quesos blandos y leches de cabra. Para la determinación de grasa total se empleó el método de Babcock (Richardson 1985).

Para la extracción de lípidos se empleó el método de Roese - Gottlieb (AOAC, 1980) y para la extracción de colesterol se emplearon los métodos de Searcy y Bergquist (1960) y Rudel y Morris (1973). Se realizó un análisis estadístico mediante un análisis de varianza.

Los quesos de leche de cabra tuvieron una mayor cantidad de colesterol con respecto a los quesos elaborados con leche de vaca. Por otro lado los quesos de cabra importados tuvieron mayor cantidad de colesterol con respecto a los nacionales (americanos), esto puede deberse a diferentes condiciones como la alimentación, hábitat, tipo de raza y condiciones de manufactura.

Richardson (2003) comparó dos técnicas, la primera consistió en saponificar el extracto lípidico y tomar la parte insaponificable que es donde se encuentra el colesterol y esterificarla y cuantificarla por cromatografía de gases. La segunda técnica consistió en realizar la extracción de la parte lípidica y esterificar directamente sin saponificar y cuantificar por cromatografía de gases.

Los lípidos fueron extraídos con cloroformo - metanol (2:1) de acuerdo con el método de Folch, Lees, y Stanley (1957).

La saponificación se llevó a cabo con KOH en etanol y éter de petróleo, para la esterificación se utilizó trimetilsilil y se utilizó como estándar interno el estigmasterol. El colesterol se cuantificó por cromatografía de gases.

Al comparar los dos métodos se vio que las muestras que se saponificaron tuvieron una precisión un poco más alta con respecto al método que no utiliza la saponificación.

Nielsen (1995) estudio los óxidos de colesterol provenientes de diversos alimentos para observar la actividad en la sangre. Aisló y cuantifico los óxidos de colesterol por cromatografía líquida de alta resolución acoplado a un sistema de espectroscopia de masas.

El aislamiento y la cuantificación se realizaron en muestras de productos lácteos. Los productos de oxidación del colesterol se basaron a partir de un método de extracción en combinación con métodos cromatográficos como HPLC y espectroscopia de masas, donde se monitoreo un isótopo característico de los productos de oxidación de colesterol. Este método tuvo una precisión y recuperación aceptable de 0.3 a 35 pg/L y puede llegar a detectar y cuantificar las diferentes formas isoméricas de los óxidos de colesterol como epóxidos de colesterol, colestaneol, 7- cetocolesterol y oxiesteroles.

Razzazi Fazeli. (2000) desarrolló y aplicó el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a un equipo de espectroscopia de masas para la determinación simultánea de siete óxidos de colesterol relevantes como (7- hidroxicolesterol, 7β - hidroxicolesterol, 25 hidroxicolesterol y 7- cetocolesterol, $5,6\beta$ - epoxicolesterol y colestano - 3β , 5α , 6β - triol). El método de HPLC se optimizo para llegar a la mejor separación de todos compuestos evaluados.

La extracción se realizo con hexano, se purifico sobre una columna de sílice. Para la separación cromatografica de los óxidos de colesterol se utilizo una columna Aquasil C como fase móvil se uso acetonitrilo - metanol (60: 40). Para la medición con el equipo de espectroscopia de masas se monitoreo los diferentes fragmentos moleculares de los diferentes óxidos de colesterol.

El método desarrollado mostró una buena linealidad, repetibilidad y recuperación para todos lo óxidos de colesterol evaluados. El método se aplico para la determinación de siete productos de oxidación en productos alimenticios seleccionados como la mantequilla y manteca.

Volin Pirkko. (2001) realizó un análisis de lípidos y esteroides por cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución. Describió los procedimientos más comúnmente usados y las metodologías más recientes del laboratorio como la cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Se compararon varios métodos de separación y cuantificación de lípidos y esteroides de grasas comestibles, aceites y alimentos con alto contenido de grasa. El análisis de los diferentes esteroides y componentes no saponificables se realizaron mediante extracción de los lípidos de las muestras de los diferentes alimentos, después se saponificaron y se tomaron las fracciones no saponificables a éstas fracciones se esterificaron para analizarse, ya sea por cromatografía de gas o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Hasta el momento se han desarrollado una gama importante de métodos para el aislamiento y cuantificación de diversos esteroides, pero al momento de comparar los resultados entre métodos se encontró que existe variabilidad. Un mal almacenamiento de las muestras de estudio puede causar que se formen compuestos que puedan causar interferencia al momento de analizar los diferentes esteroides. La cromatografía de gases y la cromatografía líquida de alta resolución son métodos muy buenos para el análisis y cuantificación de diversos esteroides como el colesterol y sus respectivos óxidos.

Fenton (2001) demostró que la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es muy útil para cuantificar colesterol en diversos alimentos.

La extracción se realizó con hexano, para la separación cromatográfica del colesterol se utilizó una columna LC₁₈ como fase móvil se usó acetonitrilo - metanol (60: 40).

Zhang (1998) también demostró que la cromatografía líquida de alta resolución es un buen método para determinar colesterol en diversos productos alimenticios como por ejemplo la yema de huevo que fue el tema principal de éste estudio.

Se realizó una extracción del material lípidico con una mezcla de éter etílico y éter de petróleo, éste material lípidico se saponificó con hidróxido de potasio en metanol. La fracción insaponificable (donde se encuentra el colesterol) se esterificó para analizarse por cromatografía líquida de alta resolución.

El colesterol se cuantificó por cromatografía y colorimetría para poder hacer una comparación y ver cuál de los métodos es mejor.

Al comparar los resultados se vio que el método cromatográfico tiene mucha mayor precisión y exactitud con respecto al método colorimétrico y también se vio que el método cromatográfico es mucho más rápido que el método colorimétrico.

Los esteroides son sustancias integradas por un grupo químico llamado *ciclopentano perhidrofenantreno* una cadena hidrocarbonada y un alcohol. Se encuentran en el reino vegetal, como en el animal, en el primer caso reciben el nombre genérico de fitoesteroides, entre los que destacan el sitosterol y el estigmasterol; en el caso de los esteroides animales, el colesterol es el más abundante e importante. Está formado por 27 átomos de carbono, 47 de hidrógeno y 1 de oxígeno ($C_{27}H_{47}O_1$), dispuestos en tres ciclos hexagonales, 1 pentagonal y 1 cadena ramificada. (Figura 1)

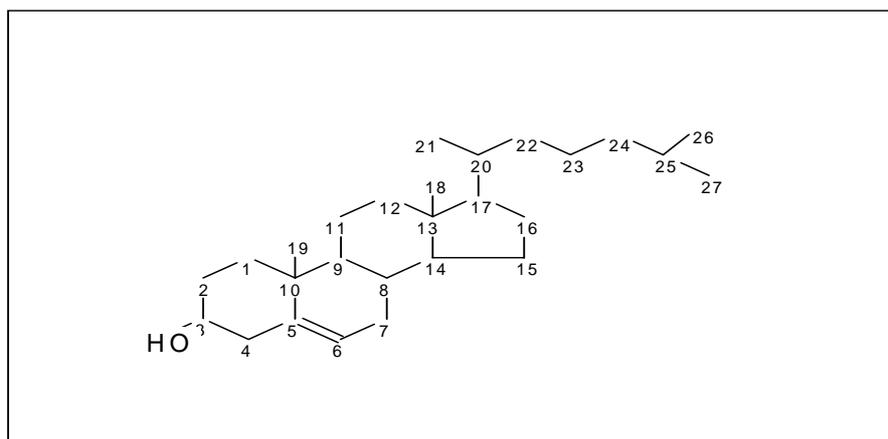


Figura 1. Estructura del colesterol

QUIMICA DEL COLESTEROL

- Estructura del colesterol: En la estructura del colesterol el grupo "OH" se encuentra en la posición del carbono 3 y orientado en posición β y el hidrógeno en posición α , esto da el nombre de β colesterol (Fig. 1). Los enlaces del colesterol están conectados en la posición alfa, el peso molecular del colesterol es de 384.64 g/mol esta constituido por 83.87% C, 11.99% de H y 4.145 % de O₂. El nombre sistemático del colesterol es colest-5-en-3 β -ol, esta molécula contiene 8 centros asimétricos y aproximadamente puede tener 240 isómeros, tiene 2 centros quirales, lo que permite formar los diferentes isómeros.
- Química: Sus cristales son blanco brillante, insaponificable, insoluble en agua a no más 0.2 mg/100mL, es soluble en alcohol, (y aumenta su solubilidad al aumentar la temperatura), benceno, hexano, éter de petróleo, aceites, grasas y soluciones de sales biliares; la molécula por tener doble enlace puede sufrir reacciones de adición principalmente por halógenos y en cuanto a su solubilidad este compuesto tiene una parte hidrofílica que es la parte de la molécula donde se sitúa el OH, en el carbono 3 y el resto de la molécula tiene características hidrofóbicas.

Las reacciones químicas del colesterol se deben principalmente al grupo OH, éste permite la formación de ésteres, oxidación y otras reacciones típicas de este grupo; el doble enlace situado entre los carbonos 5 y 6 da lugar a reacciones de halogenación.

FUNCIONES DEL COLESTEROL

Casi todo el colesterol producido por el hígado (aprox. 80 %) se utiliza en forma de ácidos biliares, que ayudan a la digestión de los lípidos en el intestino formando gotas de lípidos más pequeños y más solubles en agua, y por tanto, más susceptibles a la acción hidrofílica de las lipasas.

El colesterol se encuentra como parte integral de las membranas celulares y también es el precursor metabólico de las hormonas esteroideas, que incluyen la aldosterona (encargada de mantener el balance de sodio, cloro e indirectamente de agua), el cortisol (que regula algunas interrelaciones del metabolismo de glúcidos, lípidos y aminoácidos), la progesterona (necesaria durante el embarazo y el ciclo menstrual) y los andrógenos y estrógenos (responsables, respectivamente de los caracteres sexuales secundarios masculinos y femeninos) (DevlinT. 1989).

Se emplea sobre todo para formar ácido cólico en el hígado. El 80 % del colesterol absorbido en el tubo digestivo termina transformándose en ácido cólico. Este se combina con otras sustancias para dar origen a las sales biliares que facilitan la digestión y la absorción de grasas, otra función es la formación de hormonas corticosuprarrenales (Bourges, 1984).

Esto es así, porque el colesterol y los otros lípidos son inertes frente a ácidos y disolventes de otro modo podrían penetrar con facilidad en el organismo.

Además estos lípidos disminuyen la evaporación del agua por la piel; de no ser por ellos es probable que la evaporación diaria alcanzara los 5 - 10 litros diarios, en vez de los 300 - 400 mL que constituyen el valor habitual y por último su principal uso es la formación de membranas celulares.

Del colesterol se forma la vitamina D₃, (Figura 2) que en su forma activa es más bien una hormona, la cual tiene a su cargo la regulación de la absorción intestinal del calcio y de varios aspectos de su metabolismo (Bourges, 1990).

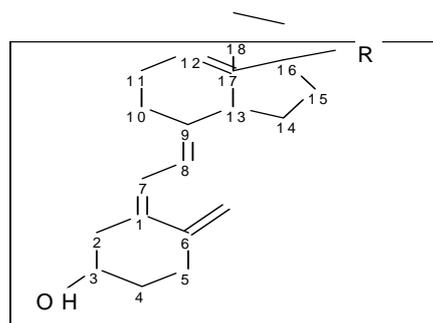


Figura 2. Estructura de la vitamina D₃

REGULACIÓN DE LA BIOSÍNTESIS DE COLESTEROL

La biosíntesis del colesterol está regulada por varios factores entre ellos, por el colesterol ingerido en la dieta, ciertas hormonas y los ácidos biliares.

Los estrógenos, hormonas sexuales femeninas, regulan la biosíntesis porque reducen la síntesis de la 3-hidroxi -3- metilglutaril coenzima A reductasa (HMGC_oA reductasa).

El ayuno también disminuye la síntesis de colesterol ya que disminuye la disponibilidad de acetil Co A, NADPH y ATP, pero en los individuos que tienen el colesterol alto no es bueno ya que cuando ayunan hay un aumento de triglicéridos en sangre (Bourges, 1990).

Los ácidos biliares tienen una acción inhibitoria directa sobre la síntesis de colesterol en la mucosa intestinal pero inhiben solo de manera indirecta la biosíntesis en el hígado.

El colesterol ingerido en la dieta (colesterol exógeno) no inhibe la síntesis de colesterol en el intestino, pero tiene un fuerte efecto inhibitorio sobre el mecanismo de síntesis en el hígado.

El transporte del colesterol del hígado a los tejidos extrahepáticos se realiza primordialmente a través de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) también transportan colesterol y es el principal vehículo de transporte de los tejidos del hígado (ver cuadro 2)

COMPONENTE	QUILOMICRONES (%)	VLDL (%)	LDL (%)	HDL (%)
triglicéridos	90	60	10	3
proteína	1	10	25	50
colesterol	3	10	7	2
esteres de colesterol	4	5	37	14
fosfolípidos	2	14	20	30
Hidratos de carbono	trazas	1	1	1

Cuadro.-1 Composición de las lipoproteínas (Devlin, T 1992),

Lipoproteína Electroforética	Densidad (g/mL)	Peso molecular (daltonX10 ⁻⁶)	Diámetro (Å)	Movilidad
Quilomicrones	<0.95	10 ⁻³ – 30 ⁻⁴	10 ³ – 10 ⁴	Original
VLDL	0.95-1.006	5	250-750	pre-β
IDL	1.006-1.019	4.5	250	pre-β ₁
LDL	1.019-1.063	2	200-250	β
HDL	1.063-1.120	0.39	70-120	α ₁

Cuadro.- 2 Características físicas del plasma lipoproteico en humanos.
(Devlin T. 1992)

METABOLISMO DEL COLESTEROL:

El colesterol presente en el organismo tiene dos orígenes: Dieta y síntesis.

La síntesis del colesterol parece ocurrir en todas las células del organismo, pero se produce en mayor cantidad por el hígado e intestino. La biosíntesis del colesterol se lleva a cabo según la ruta del ácido mevalónico y se origina a partir de 18 unidades de acetil CoA. La secuencia de reacciones se describe en tres fases:

- (A) Acetil - CoA ----- mevalonato (C6)
- (B) Mevalonato ----- escualeno (C30)
- (C) Escualeno ----- Colesterol (C27)

El colesterol presente en el organismo tiene dos orígenes: el de la dieta (exógena) que proviene únicamente de fuentes animales que aumentan el nivel sanguíneo cuando se consume en grandes cantidades de alimentos de origen animal.

Como el organismo puede sintetizar el colesterol, no se requiere de éste en la dieta. No obstante, si la dieta tiene productos de origen animal contendrá colesterol el cuál se agrega al que se sintetiza en el organismo. (Casanueva E. 1990).

El escualeno es un intermediario en la síntesis del colesterol hepático (Figura 3).

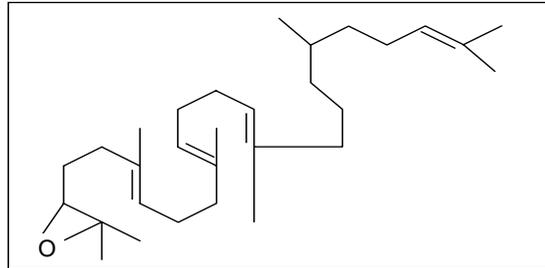


Fig. 3 Estructura del escualeno

La autooxidación del colesterol, se acelera por los radicales peróxido de los ácidos grasos poliinsaturados, se produce principalmente vía los hidroperóxidos intermediarios 3 β -hidroxicoles-5-en-7 α y 7 β , de los cuales es el epímero 7 β el que se produce en mayor cantidad, debido a su conformación casi ecuatorial más estable. A diferencia de la autooxidación, en la oxidación fotosensibilizada del colesterol (reacción con O₂ -singulete) se forma el hidroperóxido 3 β -hidroxicolest-6-en-5 α -ol. Entre los numerosos productos formados a partir del hidroperóxido, los más abundantes por autooxidación del colesterol son el colest-5-en-3 β , 7 α -diol, el colest-5-en-3 β ,7 β -diol, la 3 β -hidroxilacolest-5-en-7-ona, el 5,6 β -epoxi-5 β -colestan-3 β -ol y el 5 α colestan-3 β -ol y el 5 α -colestan-3 β , 5,6 β -triol y se detectan como componentes menores en algunos alimentos (yema de huevo en polvo, leche entera en polvo, aceite de mantequilla fundida, carnes sometidas a tratamientos térmicos).

IMPORTANCIA CLÍNICA DEL COLESTEROL

La aterosclerosis es una enfermedad crónica compleja que implica la acumulación gradual de lípidos, colágeno, fibras elásticas en la pared arterial. Dado que los ésteres del colesterol son los componentes mayoritarios de las lesiones ateroscleróticas, es importante la interacción de las lipoproteínas portadoras del colesterol en el plasma con las células de la pared arterial.

Un valor elevado de colesterol, plasmático total y un incremento de la principal lipoproteína portadora de colesterol, la LDL, están asociadas con un riesgo más elevado de sufrir la enfermedad cardiovascular. Por otro lado parece que las altas concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HLD) disminuyen el riesgo de enfermedades cardiacas.

Además del colesterol presente en los alimentos ingeridos otros componentes de la dieta influyen en el nivel de colesterol plasmático, como son la presencia en la dieta de ácidos grasos saturados y poliinsaturados, fibra y proteínas. (Bourges. 1984)

VALORES DE REFERENCIA

La concentración de colesterol en la sangre, se encuentra de ciertos niveles, los cuáles son menores cuanto más joven es el sujeto, por encima de los límites de referencia considerados, el riesgo en el desarrollo de aterosclerosis y otras enfermedades cardiovasculares aumenta. Los valores de colesterol total (método de Lieberman – Burchard, color) en suero, plasma, son los siguientes, (Cuadro 3).

EDAD	LIMITES DE REFERENCIA convencionales (mg/100mL)	LIMITES DE REFERENCIA* Recomendación internacional (mmol/L)
Cordón	45-100	1.17-2.59
Neonato	53-135	1.37-3.50
Infante	70-175	1.81-4.53
Niño	120-200	3.11-5.44
Adolescente	120-210	3.11-5.44
Adulto	140-310	3.63-8.03

Cuadro 3.- Valores de referencia de Colesterol (Tietz, 1985)

Los limites recomendados (convencionales) adultos es de 140-250 mg/100mL y los limites (internacionales)* adultos es de 3.63-6.48 mmol/L

REQUERIMIENTOS

Para que una dieta pueda calificarse como “pobre en colesterol” no deberá aportar más de 300 mg diarios de dicha sustancia (Cuadro 4). No es fácil limitarse a ésta cifra, considerando que tan sólo un huevo contiene 275 mg de colesterol. Se deben restringir, además ácidos grasos saturados (AGS) a no más de 1g AGS/100 Kcal. En una dieta correcta los lípidos nunca deben aportar más de 25% de energía total (Bourges. 1984).

En los seres humanos el colesterol representa el 0.2% del peso corporal, el colesterol esta presente en el intestino y se conforma por 3 vías por la dieta, que contribuyen 300-400 mg, la bilis que contribuye con 750-1250 mg y la síntesis hepática que contribuye con 9-13 mg por kilogramo de peso corporal. En general su absorción intestinal va desde 30 a 60%.

Alimento	Contenido de colesterol (mg/100 g)
Sesos	2000
Huevo(yema)	500
Mantequilla	230
Queso doble crema	190
Queso crema	139
Queso gruyere	91-98
Queso fresco	91
Queso Oaxaca	73
Pollo con piel	78
Bistec de res	68
Ostiones	59
Helado de crema	44
Leche entera	13(una taza 250mL)
Queso Cottage	10
Requeson	6
Leche descremada	3

Cuadro 4.- Contenido promedio de colesterol en algunos alimentos
(Bourges 1990)

LÍPIDOS DE LA LECHE

La composición lipídica de la leche bovina es la más compleja que se conoce. Los triacilgliceroles son la mayor proporción de los lípidos, constituyendo hasta el 97-98 % de los lípidos totales (Dalgleish, 1997). En la leche, los triacilgliceroles están presentes en glóbulos de 2-3 μm de diámetro rodeados por una membrana derivada de la membrana plasmática apical celular. En los lípidos bovinos se han identificado más de 40 ácidos grasos diferentes (Cuadro 5).

Tipo de lípido	Porcentaje en peso	g/L
Triacilgliceroles (triglicéridos)	97-98	31.2
Diacilgliceroles (diglicéridos)	0.3-0.6	0.14
Monoacilgliceroles (monoglicéridos)	0.02-0.04	0.01
Ácidos grasos libres	0.1-0.4	0.08
Esteroles libres	0.2-0.4	0.10
Fosfolípidos	0.2-1.0	0.19
Hidrocarburos	Trazas	Trazas
Esteres del esteroles	Trazas	Trazas

Cuadro 5.-Composición lipídica de la leche de vaca (Fenema, 1999).

Glóbulo graso:

La mayoría de los glóbulos varían de diámetro entre 2 y 10 μm , de modo que los glóbulos grasos mayores son 30 veces más grandes que la micelas de caseína de mayor tamaño. Durante la secreción a través de la membrana plasmática apical, el glóbulo se provee de una envoltura de dicha membrana. Alrededor del 60% de los fosfolípidos y del 85% del colesterol de la leche se hayan en lo glóbulos grasos, indudablemente localizados dentro de la membrana. La composición lipídica de la membrana es similar a la membrana plasmática (Alais Charles. 1985).

Sin embargo, la membrana del glóbulo graso de la leche parece encontrarse en estado dinámico puesto que su aspecto y composición cambian con el tiempo. El núcleo lipídico de los glóbulos grasos está constituido casi exclusivamente por triacilgliceroles. Antes de la secreción, algunos componentes del citoplasma celular quedan adsorbidos a la superficie de la gotita de grasa.

Consecuentemente, tales componentes subyacen debajo de la membrana plasmática adsorbida y, quizá en zonas de la superficie del glóbulo graso no cubiertas por la membrana plasmática. Por tanto probablemente la superficie de los glóbulos grasos nativos no esté cubierta totalmente por la membrana plasmática. (Alais Charles. 1985).

QUESOS

Los quesos, de los cuales existe una amplia variedad; la crema, la mantequilla y las leches acidificadas o fermentadas, industrializadas y modificadas son los principales productos alimenticios derivados de la leche. Su aporte principal lo constituyen los hidratos de carbono, grasas, proteínas, calcio y vitaminas. Los quesos son concentrados de caseína (principal proteína de la leche) y de lípidos de la leche. El queso ofrece más alternativas de consumo que la leche pues es más fácil de conservar y existe una amplia variedad y una serie casi infinita de posibilidades culinarias.

Los derivados lácteos son en gran parte fruto de la casualidad. Entre los productos lácteos clásicos que acompañan al hombre desde hace miles de años está el queso: un producto lácteo que garantiza la conservación de las fracciones grasa y proteica de la leche. Se obtienen por coagulación de la leche seguida del desuerado. En este suero se halla la mayor parte del agua y de las sustancias solubles en ella.

DEFINICIÓN DE QUESO

De acuerdo con NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-121-SSA1-1994.

(1) **Quesos:** productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas, ácidos orgánicos comestibles y con o sin tratamiento ulterior por calentamiento, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

- Quesos frescos, productos que cumplen en lo general con lo señalado en el punto (1) y se caracterizan por ser productos de alto contenido de humedad, sabor suave y no tener corteza, pudiendo o no adicionarle ingredientes opcionales y tener un periodo de vida de anaquel corto, requiriendo condiciones de refrigeración.
- Quesos madurados, alimentos que en lo general cumplen con lo señalado en el punto (1) y se caracterizan por ser de pasta dura, semidura o blanda, con o sin corteza; sometidos a un proceso de maduración mediante la adición de microorganismos, bajo condiciones controladas de tiempo, temperatura y humedad, para provocar en ellos cambios bioquímicos y físicos característicos del producto de que se trate, lo que le permite prolongar su vida de anaquel, los cuales pueden o no requerir condiciones de refrigeración.
- Quesos procesados, productos que cumplen en lo general con lo establecido en el punto (1) y se caracterizan por ser elaborados con mezclas de quesos, fusión y emulsión con sales fundentes, aditivos para alimentos permitidos e ingredientes opcionales, sometidos a proceso térmico de 70 °C durante 30 segundos o someterse a cualquier otra combinación equivalente o mayor de tiempo y temperatura, lo que le permite prolongar su vida de anaquel.

Los quesos se clasifican por su proceso en:

1) Frescos:

- Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.

2) De pasta cocida:

- Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.

3) Acidificados:

- Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.

4) Madurados:

1. Madurados prensados de pasta dura: Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito.
2. Madurados prensados: Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Amsterdam, Butterkase, Coulomiers, Dambo, Erom, Friese, Fynbo, Havarti, Harzer-Kase, Herrgardsost, Huskallsost, Leidse, Maribo, Norvergia, Provolone, Port Salut, Romadur, Saint Paulin, Samsoe, Svecia, Tilsiter, Bola, Jack.
3. De maduración con mohos: Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.

5) Procesados, fundidos y fundidos para untar.

PRODUCCIÓN DE QUESO EN MEXICO

En el país existen poco más de 1,300 establecimientos que elaboran queso, crema y mantequilla; sin embargo, la gran mayoría de éstos son pequeñas empresas de carácter artesanal.

La mayor parte de la producción la aportan grandes empresas como Nestlé, Grupo Chilchota, Evamex (Latinlac, marca Los Volcanes), Grupo Prolesa (Unifoods, marca El Sauz), Kraft Foods (Philadelphia, Cheez Whiz), New Zealand Milk Products (Noche Buena), Sigma Alimentos Lácteos (Chalet, la Villita), Axa Alimentos (Quesos Caperucita), Grupo Chen (Marcas Chen, Norteño, Nor-Mex, Supremo), Industrias Cor (Lyncott), entre otras empresas. De las 126,000 toneladas de queso producidas en establecimientos industriales, en 1999, se estima que las empresas listadas produjeron más del 65%. Sin embargo, se calcula que además de esta producción industrial, existe otro tanto que se elabora

en el mercado informal, de tal forma que el volumen nacional de quesos, en 1999, se estima en aproximadamente 260,000 toneladas (Producción nacional total).

Las empresas de este sector están enfrentando una competencia cada vez más fuerte con productos importados.

Productos que generalmente se destinan al 64% del estrato de consumidores de altos ingresos. Aún bajo este entorno, se espera que la producción nacional de quesos aumente a un ritmo mayor que el aumento de la población (4% vs 1.6%). La producción de queso depende del abastecimiento de leche de bajo costo, proveniente principalmente de sistemas de producción tropical de doble propósito y de sistemas productivos tipo familiar. Además de leche fluida, las industrias queseras líderes cuentan con el abastecimiento de otras materias primas sustitutas, que abaratan sus costos como lo es la misma leche en polvo descremada, sueros lácteos, caseínatos, así como otros insumos no lácteos (grasa vegetal).

La tecnología es diversa, se encuentra desde el tipo artesanal hasta la más avanzada, utilizada por la gran empresa multinacional. Esta última cuenta con el liderazgo del mercado de quesos con mayor valor agregado y destinado a segmentos de la población de medianos y altos ingresos. Debido a la gran diversidad de costumbres y gustos regionales en el consumo de quesos, existe una gran oportunidad para la producción artesanal de estos productos en nichos de mercado específicos.

El alto nivel tecnológico o fabricación artesanal, el saber hacer el queso (“know how”) tiene especial importancia en el éxito del negocio. En un extremo se encuentra la gran industria y por otro la empresa tipo artesanal. Gran parte de la competitividad de la primera radica en el dominio de tecnologías especializadas en la producción de quesos de alto valor agregado, dirigidos a consumidores de medios y altos ingresos. La segunda (industria artesanal) cuenta con la ventaja de conocer el proceso de fabricar el queso “como a la gente del lugar le gusta”, normalmente quesos frescos de consumo diario.

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar el contenido de colesterol de diferentes tipos y marcas de los quesos más consumidos en el Distrito Federal para la elaboración de tablas que permitan proporcionar información y orientación alimentaria para las personas que tienen problemas cardiovasculares.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Cuantificar el colesterol por la técnica de HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución).
- Validar el método de determinación de colesterol por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Determinar si existe diferencia significativa entre la concentración de colesterol en queso de diferentes marcas y por tipo de queso.

JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se realizó con la finalidad de proporcionar valores de colesterol de los quesos más consumidos por la población en el Distrito Federal.

Esto es importante ya que el número de individuos con problemas cardiovasculares va en aumento (INEGI, 2003).

En el país existen poco más de 1,300 establecimientos registrados en la SSA que elaboran queso, sin embargo, la gran mayoría de éstos son pequeñas empresas de carácter artesanal (INEGI 2003) y existen muchas sin registro.

Según SAGARPA se producen actualmente 260000 toneladas de queso a nivel nacional de los cuales 120000 toneladas son destinadas para el consumo en el Distrito Federal.

Las empresas nacionales enfrentan una competencia cada vez más fuerte con los productos importados. Productos que generalmente se destinan al estrato de consumidores de altos ingresos. Aún bajo este entorno, se espera que la producción nacional de quesos aumente a un ritmo mayor que el aumento de la población (4% vs 1.6%).

La tecnología es diversa, se encuentra desde el tipo artesanal hasta la más avanzada, utilizada por la gran empresa multinacional. Esta última cuenta con el liderazgo del mercado de quesos con mayor valor agregado y destinado a segmentos de la población de bajos, medianos y altos ingresos.

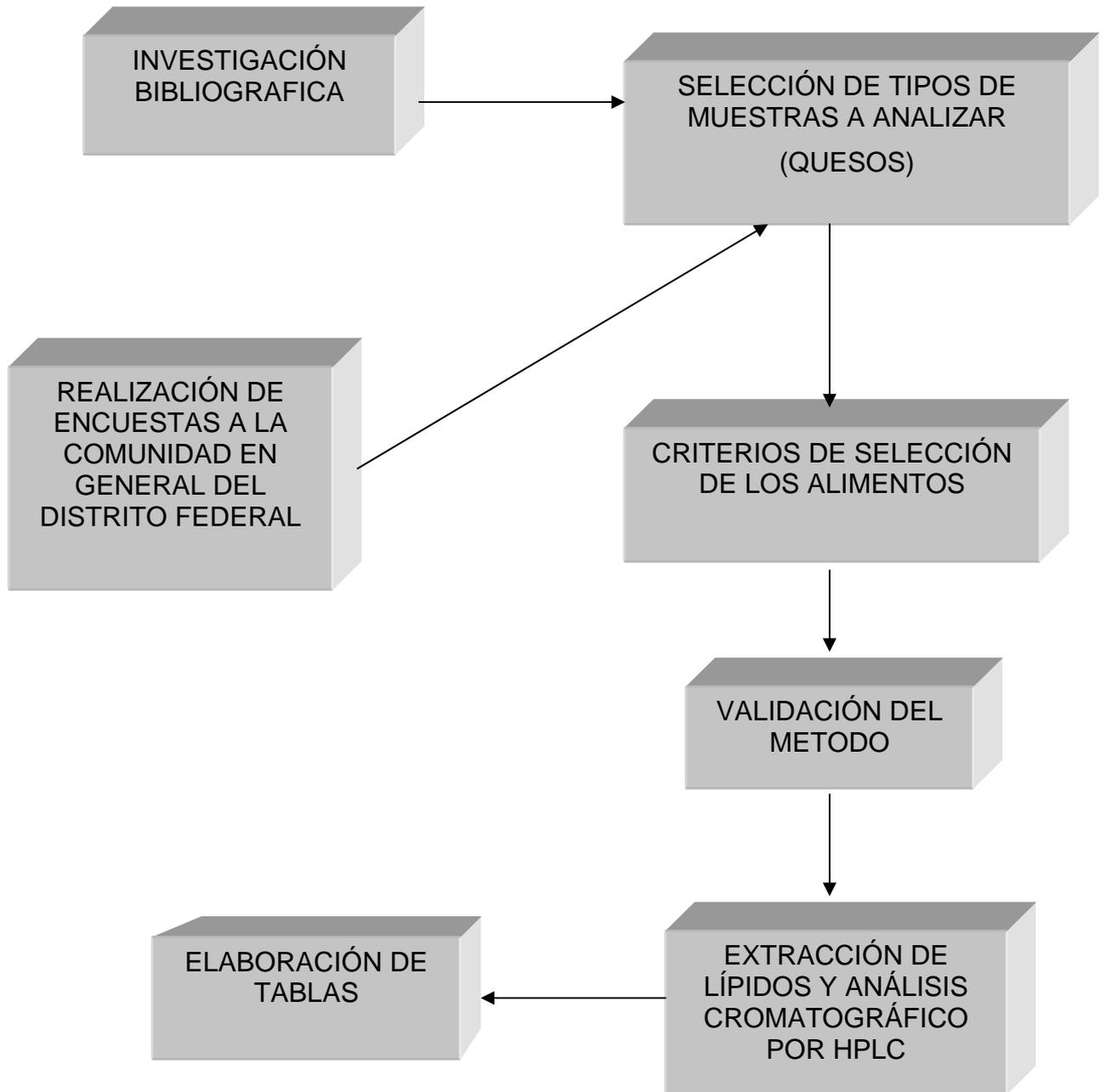
El consumo nacional per cápita de queso ha tenido un crecimiento acelerado. Todo esto ha significado un incremento en el consumo per cápita nacional anual de 1.3 kg en 1990 a casi 1.9 kg de queso en 2005 (ver anexo 4).

Entre las razones que explican este gran crecimiento se encuentra la gran diversidad e innovación que ha presentado este producto y los grandes esfuerzos de distribución y promoción realizados por la industria (SICA 2005).

BENEFICIOS ESPERADOS:

- Con el presente trabajo se informa el contenido de colesterol en diferentes tipos de queso. Se informa además la concentración por marca ya que existe una gran cantidad de marcas en nuestro país, inclusive estos datos pueden ser indicadores de la fabricación "Pirata" de queso. Al mismo tiempo son útiles para el calculo dietetico en sujetos sanos y en pacientes con diferentes diagnósticos. Su utilidad se verá a largo plazo en la orientación alimentaria sobre el consumo o disminución de colesterol en sangre y disminución de enfermedades cardiovasculares.

DISEÑO DEL ESTUDIO



El estudio comprendió el análisis del contenido de grasa y colesterol en diferentes tipos de quesos y marcas. Para conocer el tipo y marca se realizó un corte de población del Distrito Federal en tiendas, supermercados, mercados y tianguis (anexo 1 y 2). En todos los casos se tomaron muestras de diferentes lotes en diversos puntos de venta. Se verificó la fecha de caducidad, refrigeración y los empaques.

UNIVERSO DE TRABAJO

- Los quesos de diferentes tipos y marcas existentes en el mercado.

CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

- Para obtener el número de marcas y tipos de quesos a analizar en este estudio se realizó una encuesta (anexo 1) a 200 personas escogidas al azar en el Distrito Federal. Esta encuesta sirvió para conocer la preferencia de las marcas y tipos de queso que existen en el mercado.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

- De acuerdo a los resultados obtenidos (ANEXO 2) de la frecuencia se analizaron las siguientes marcas y tipos de quesos mostrados en la siguiente tablas:

Marcas de queso
Noche Buena
Los Volcanes
Alpura
Philadelphia
Esmeralda
Caperucita
Chalet
El Ciervo
Lincott
Nestle
Franja

Cuadro 6. Marcas de Queso

Tipos de queso
Oaxaca
Panela
Queso doble crema
Manchego
Chihuahua
Amarillo
Cottage
Guouda
Ranchero
Cotija
Parmesano

Cuadro 7. Tipos de queso

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Criterios de inclusión: Se incluyeron dentro del análisis todas aquellas muestras que presentaron las características sensoriales propias del queso, tales como color, sabor, textura, olor, etc.

- Criterios de Exclusión: Se excluyeron del análisis los alimentos en mal estado, alimentos caducos y los que no presentan características sensoriales propias del alimento (olor, sabor y textura).

VARIABLE PRINCIPAL A MEDIR

- La variable principal a medir es la concentración de COLESTEROL.

VARIABLE SECUNDARIA A MEDIR

- Contenido de lípidos totales.

FRECUENCIA DE MEDICIONES

- Se realiza una sola medición (que consistirá en triplicados de cada muestra con el propósito de obtener el coeficiente de variación y la desviación estándar)

CRITERIOS DE ÉXITO Y FALLA

El éxito de los resultados que se obtengan dependerá del mantenimiento óptimo de los equipos e instalaciones donde se realizará el proyecto.

ESTRATEGIA DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Encuesta de frecuencia de consumo.- Los resultados de 200 encuestas (ANEXO1) aplicadas al azar se presentaron como promedio \pm desviación estándar por tipo de queso y marca, realizándose graficas de frecuencia de consumo.
- Los resultados de colesterol se presentan como promedio \pm desviación estándar y las posibles diferencias estadísticas significativas se realizan por análisis de varianza por tipo de queso y marca.
- Para saber si hay diferencias significativas entre las diferentes marcas se realizaron pruebas estadísticas entre ellas se encuentran análisis de varianza, por ejemplo la prueba de Kruskal – Wallis que es una prueba de igualdad de medias de tratamiento, éste procedimiento esta diseñado para ser sensible en pruebas de diferencias entre medias. Así mismo se utilizo la prueba de Dunn que consistió en hacer múltiples comparaciones contra un grupo control. La prueba de Tukey que consistió en realizar comparaciones ya sea múltiple o por intervalos, ésta declara si dos medias son significativamente diferentes. (Montgomery, 1991).

DISEÑO EXPERIMENTAL

▪ MUESTRAS:

- Muestras: Se analizaron diferentes tipos y marcas de quesos, provenientes de una encuesta de preferencia que se realizó a la población del Distrito Federal (VER ANEXO 2). En todos los casos se tomarán las muestras de diferentes lotes en diversos puntos de venta. Se verificó la fecha de caducidad, la refrigeración y el deterioro del empaque.

A) Reactivos:

- Cloroformo. Grado reactivo analítico (FERMONT productos químicos Monterrey No. Cat. H6202)
- Metanol. Grado reactivo analítico (J.T BAKER No. Cat. 9093-03).
- Hexano. Grado reactivo analítico (OMNI SOLV, EMD Chemicals No. Cat. HX 0298-6)
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore con una resistividad de 18.2 M Ω -cm a 25°C (MILLIPORE No. Cat. ZD3011574)
- Ácido clorhídrico. Grado reactivo 0.1N (PQF, Químicos Finos S.A de C.V No. Cat 6181-1)
- Ácido nítrico. Grado reactivo al 30%. (J.T BAKER No. Cat. 9621-05)
- Piridina. Aprox. 99% grado reactivo analítico (Reproquifin. No. Cat. 9786-C)
- Colesterol. Grado I aprox. 99%, peso molecular 386.7g/mol proveniente de hígado de cerdo, (SIGMA CHEMICAL No. Cat. 57-88-5)

- Cloruro de Benzoilo. Aprox. 99.9%, Grado reactivo analítico (MALLINCKRODT No. Cat. 3868KDXA)
- Éter etílico anhidro. Grado reactivo analítico (J.T BAKER No. Cat. 9244-01)
- Sulfato de sodio anhidro. Grado reactivo (J.T BAKER No. Cat. 3898-01).
- Metanol. Grado HPLC (J.T BAKER No. Cat. 9093-03)
- Cloroformo. Grado HPLC (FERMONT productos químicos Monterrey No. Cat. H6202)
- Bicarbonato de sodio en polvo. Grado reactivo (J.T BAKER No. Cat. 3506-01).
- Nitrógeno. Grado cromatografico extraseco INFRA. (Vía Gustavo Baz # 56 Barrientos Estado de México)

B) Accesorios y material de vidrio

- Tubos de ensaye de vidrio con tapón de rosca KIMAX, 25x150mm (No. Cat. Z25,501-7)
- Tubos de ensaye de vidrio de 16 X 150mm Pirex, 16x150mm (No. Cat. Z14,440-1)
- Embudos de vidrio de filtración por gravedad de tallo corto KIMAX. (No. Cat. Z14,267-0)
- Espátula "heavy duty"de acero inoxidable, Aldrich (No. Cat. Z28,328-2)
- Papel filtro Whatman No. 40 y 42.(No. Cat. Z24,123-7)
- Pipeta automática de 2-10mL, Thermo Labs Systems (No. Cat. Z36,881-4)
- Dispensador de 5-10mL, Dispensette Brand (No. Cat. 12226001-032-03)
- Matraz Erlenmeyer de vidrio de 250mL Pirex (No. Cat. Z14,440-1)
- Vaso Erlenmeyer de vidrio de 500mL Pirex (No. Cat. Z14,053-8)
- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 1mL KIMAX (No. Cat. Z25,448-7)
- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 5mL KIMAX (No. Cat. Z25,451-7)

- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 10mL KIMAX (No. Cat. Z25,452-5)
- Matraz aforado de Vidrio KIMAX, 100mL (No. Cat. Z25,527-0)
- Matraz aforado de vidrio KIMAX, 200mL (No. Cat. Z25,528-9)
- Matraz aforado de vidrio KIMAX, 1000mL (No. Cat. Z25,531-9)
- Probeta de vidrio graduada Pirex, 50mL (No. Cat. Z13,937-8)
- Probeta de vidrio graduada Pirex, 250mL (No. Cat. Z13,939-4)
- Probeta de vidrio graduada Pirex, 500mL (No. Cat. Z13,941-6)
- Pipetas Pasteur de 9 pulgadas s/m (No. Cat. Z19,061-6)
- Bulbos de latex para pipeta Pasteur con capacidad para 2mL, s/m (No. Cat. Z11,159-7)
- Termómetro de vidrio de -10 a 260° C (Enviro No. Cat. Z25,298-0)

C) Equipos:

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) que consiste de:
 - Detector de absorbancia BECKMAN MODELO 334 de longitud de onda fija (230nm). (No. Cat. C8546733, HARBOR BLVD. CALIFORNIA. USA)
 - Bomba peristáltica isocrática LKB BROMMA MODELO 2150. (Pharmacia® LKB Sweden)
 - Válvula de inyección de modo dual con loop de 10 μ L marca Rheodyne modelo 7725.(Alltech y Applied Science para México, Amores1618-601, Col. del Valle, Del. Benito Juárez, México DF).
 - Modulo de datos marca WATERS modelo 730.(Waters Associates 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA).
 - Columna HPLC WATERS Symmetry LC₁₈ 15cmX4mm. (34 Maple Street Milford Massachusetts 01757 USA. No. Partida WAT037525)
 - Columna HPLC SUPELCO LC₁₈ Supelcosil 15cm X 4mm,50 μ m. (Bellefonte, Pennsylvania USA. No. Cat. 58970C30)
 - Jeringa de aguja fija Hamilton serie 700 para válvulas de inyección Rheodyne. (No. Cat. 80065)

- Balanza Analítica Tecator 6110, (Advanced Instruments de México S.A de C.V Amores 320 Col. Del Valle 031100 México DF)
- Centrífuga Garver Electrofuge, modelo 55. (Garver Manufacturing Co. Union City Indiana USA)
- Baño de agua B-480 Büchi, (Brinkmann Instruments Inc. Westbury, N.Y 11590 516/334-7500)
- Agitador Vortex type 37, (Thermolyne, Barnstead 2555 Kerper Boulevard Dubuque IOWA 52001 USA)

D) Software

- Origin[®] 7.0 SRO (Origin Lab, Corporation One Roundhouse Plaza Northampton, MA 1060 USA).
- Microsoft[®] EXCEL 2000 (9.0.2812).(Microsoft México, S.A. de C.V.
Aplicaciones: (52) (5) 265-3399).
- Sigma Plot 2002 for WINDOWS Version 8.0, SPSS Inc.
- Sigma Stat 3.1 for Windows SPSS Inc.

METODO:

EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS:

- Se utilizó el método de Folch (AOAC 1981). (Ver figura 4)

Se pesaron 5 gramos de muestra de queso de diferentes tipos y marcas, y se transfirió a un homogeneizador o tubo de ensayo con tapón de rosca con capacidad de 50mL, se añadió de 10 – 15mL de la mezcla de cloroformo – metanol 2:1, se agitó durante 5min en vórtex, después de la agitación la muestra se dejó en reposo durante 6 horas aproximadamente. Pasado el tiempo de reposo la muestra se volvió a agitar durante 2 minutos, después de la agitación se filtro por gravedad con papel filtro No. 42, al extracto obtenido se le añadió 5mL de hexano y 3mL de agua se agito por 2 minutos y se centrífugo a 3000rpm por 20 minutos, se elimino la fase acuosa y se volvió a filtrar por gravedad con papel filtro No. 42 que contenía de 1.5 – 2.0 gramos de sulfato de sodio anhidro. El extracto resultante se evaporo con nitrógeno hasta eliminar todo el disolvente y por último se obtuvo la cantidad de extracto etéreo por gravimetría y se registraron las cantidades obtenidas.

DERIVATIZACIÓN DE LOS LÍPIDOS:

- Se utilizó el método de Newkirk y Shepard AOAC 1981. (Ver figura 5)

El extracto etéreo anterior se redisolvió en 2mL de hexano y se le añadió 1mL de piridina y 0.2mL de cloruro de benzoilo se agita durante 5 minutos y se incubo 80 °C durante 20 minutos, pasado el tiempo de incubación se añadió 1mL de HCl 0.1N y 5mL de éter etílico y se agitó manualmente. Se desecho la fase acuosa y se realizaron dos lavados con 2mL de HCl 0.1N eliminándose la fase acuosa.

Después se añadió 1mL agua y 1mL de carbonato de sodio se agita y se elimino la fase acuosa, el extracto obtenido se le hicieron 5 lavados con 1mL de agua eliminándose las fases acuosas. Se deseco con 2 gramos de sulfato de sodio anhidro y se evaporo con nitrógeno hasta sequedad y finalmente se redisolvió en 1mL de cloroformo grado HPLC y se inyectaron 10µL al cromatógrafo.

Figura 4.- EXTRACCIÓN DE LÍPIDOS: método de Folch AOAC 1981

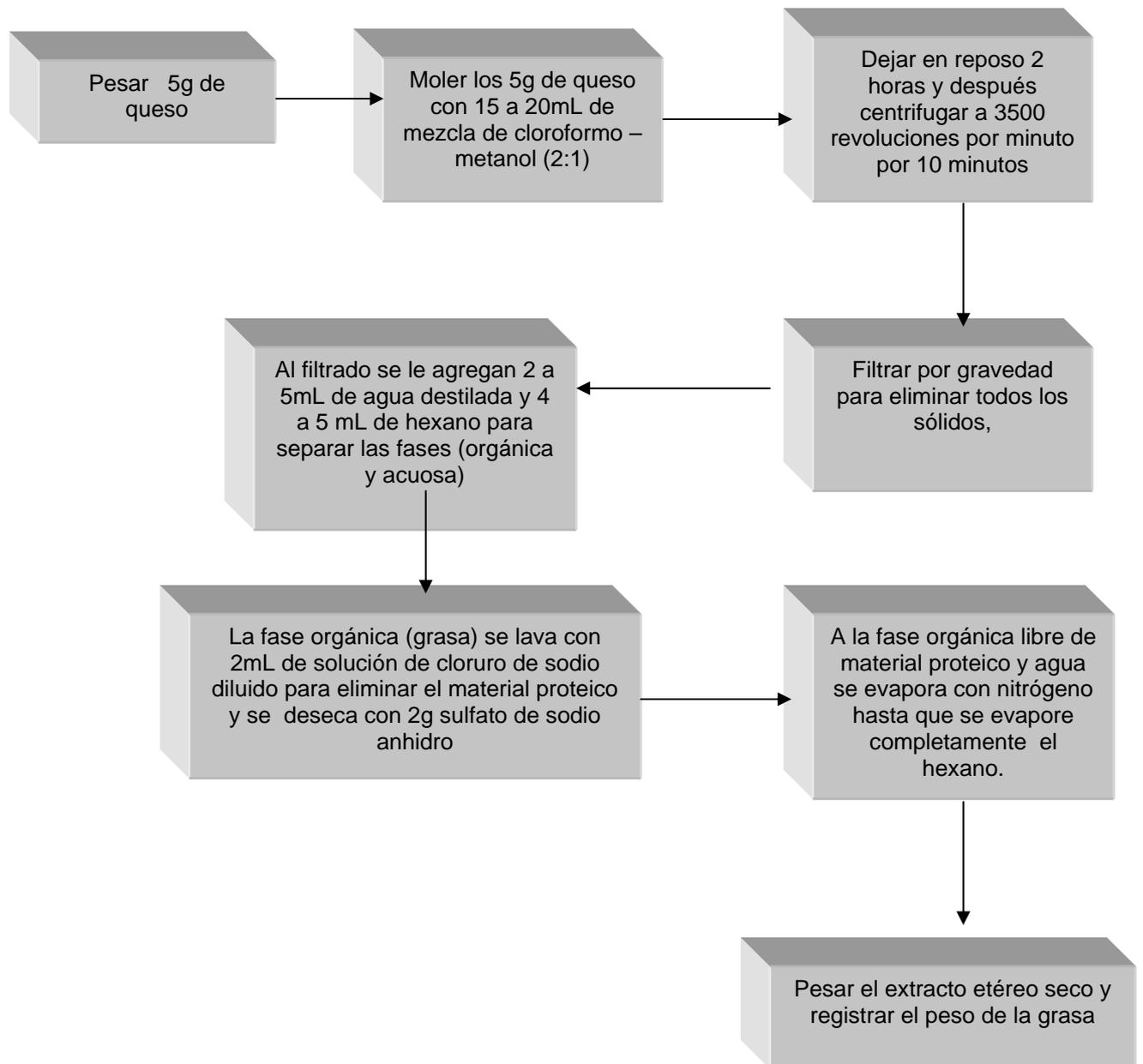
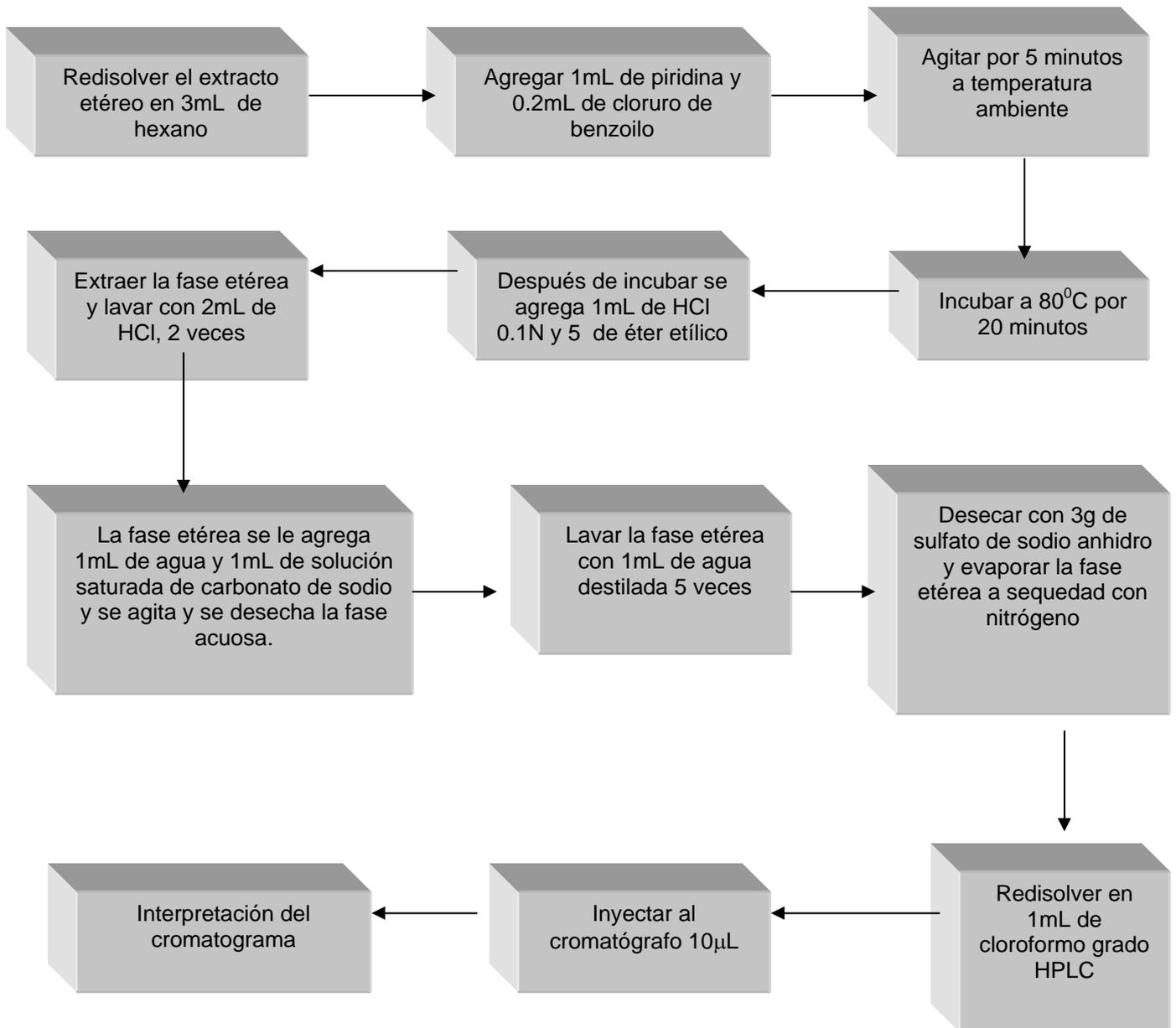
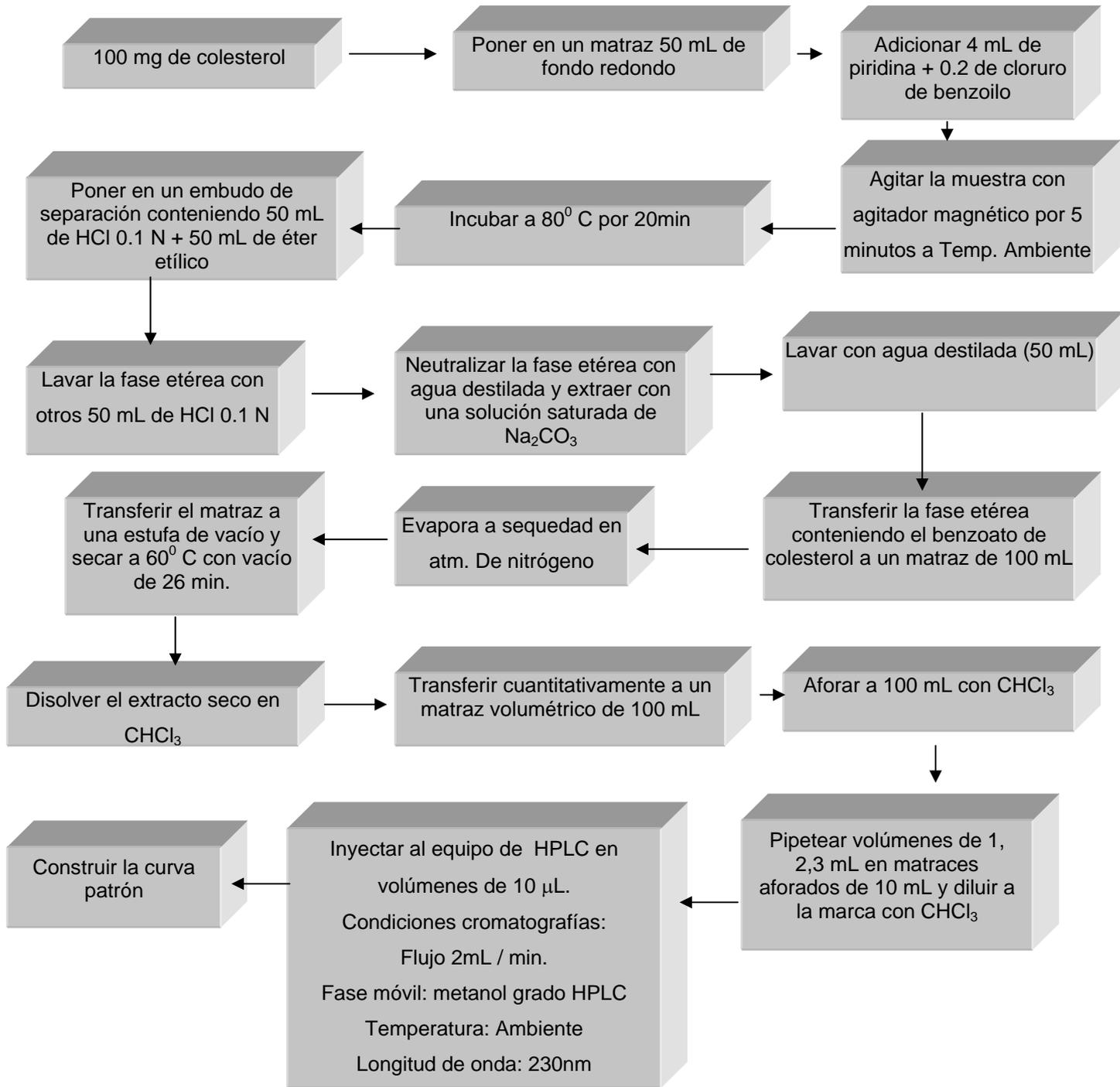


Figura 5.- DERIVATIZACIÓN: Método de Newkirk y Shepard AOAC 1981.



ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

Figura 6.- PREPARACIÓN DEL ESTANDAR DE COLESTEROL: (NEWKIRK DR, SHEPARD, AJ, AOAC 1981)



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

▪ VALIDACIÓN

Validación de la determinación de colesterol por cromatografía de alta resolución (HPLC).

La validación es un procedimiento por el cual se establece mediante determinaciones de laboratorio que, el método por sus características de desempeño cumple con los requerimientos particulares para el uso específico propuesto. También se puede definir como la confirmación mediante el suministro de evidencia objetiva de que se han cumplido los requisitos para una utilización o aplicación específica prevista. El objetivo de la validación es probar la aptitud de los métodos, así como la capacidad del laboratorio. La validación se apoya en los parámetros estadísticos del procedimiento. (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

Principio de la validación en la determinación de colesterol por HPLC:

Cada validación consiste en tres pasos:

1. Establecimiento de las condiciones por cumplir (por ejemplo: límite de detección, linealidad, exactitud, repetibilidad.) para el caso de la validación del análisis de colesterol por HPLC.
2. Determinación de los parámetros estadísticos del procedimiento.
3. Valoración de los resultados de la validación por comparación de los parámetros estadísticos obtenidos con las condiciones y decisión sobre la validez del procedimiento para el propósito establecido. (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

Para cumplir con esta validación es necesario:

1. Identificar el método de ensayo a validar.
2. Definir el objetivo.
3. Identificar los equipos, instrumentos, materiales y reactivos a utilizar.
4. Determinar las especificaciones analíticas y considerar otros lineamientos.

El método de ensayo a validar consiste en:

1. Extracción del colesterol de los alimentos y su posterior, esterificación con cloruro de benzoilo y cuantificación por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
2. El objetivo consiste en confirmar que el método de ensayo cumpla con las especificaciones analíticas requeridas. (método de Newkirk y Shepard AOAC 1981).
3. Identificación de los elementos del análisis.

A) Reactivos:

- Cloroformo. Grado reactivo analítico (FERMONT productos químicos Monterrey No. Cat. H6202)
- Metanol. Grado reactivo analítico (J.T BAKER No. Cat. 9093-03).
- Hexano grado reactivo analítico (OMNI SOLV, EMD Chemicals No. Cat. HX 0298-6)
- Agua desionizada obtenida de un equipo Millipore con una resistividad de 18.2 M Ω -cm a 25°C (MILLIPORE No. Cat. ZD3011574).
- Ácido clorhídrico. Grado reactivo 0.1N (PQF, Químicos Finos S.A de C.V No. Cat 6181-1)
- Ácido nítrico. Grado reactivo al 30%. (J.T BAKER No. Cat. 9621-05)
- Piridina. Aprox. 99% grado reactivo analítico (Reproquifin. No. Cat. 9786-C)
- Colesterol. Grado I aprox. 99%, peso molecular 386.7g/mol proveniente de hígado de cerdo, (SIGMA CHEMICAL No. Cat. 57-88-5)
- Cloruro de Benzoilo aprox. 99.9%, Grado reactivo analítico (MALLINCKRODT No. Cat. 3868KDXA)
- Éter etílico anhidro. Grado reactivo analítico (J.T BAKER No. Cat. 9244-01)

- Sulfato de sodio anhidro. Grado reactivo (J.T BAKER No. Cat. 3898-01).
- Metanol. Grado HPLC (J.T BAKER No. Cat. 9093-03)
- Cloroformo. grado HPLC (FERMONT productos químicos Monterrey No. Cat. H6202)
- Bicarbonato de sodio en polvo. Grado reactivo (J.T BAKER No. Cat. 3506-01).
- Nitrógeno. Grado cromatografico extraseco INFRA. (Vía Gustavo Baz # 56 Barrientos Estado de México)

B) Accesorios y material de vidrio

- Tubos de ensaye de vidrio con tapón de rosca KIMAX, 25x150mm (No. Cat. Z25,501-7)
- Tubos de ensaye de vidrio de 16 X 150mm Pirex, 16x150mm (No. Cat. Z14,440-1)
- Embudos de vidrio de filtración por gravedad de tallo corto KIMAX .(No. Cat. Z14,267-0)
- Espátula "heavy duty" de acero inoxidable, Aldrich (No. Cat. Z28,328-2)
- Papel filtro Whatman No. 40 y 42.(No. Cat. Z24,123-7)
- Pipeta automática de 2-10mL, Thermo Labs Systems(No. Cat. Z36,881-4)
- Dispensador de 5-10mL, Dispensette Brand (No. Cat. 12226001-032-03)
- Matraz Erlenmeyer de vidrio de 250mL Pirex (No. Cat. Z14,440-1)
- Vaso Erlenmeyer de vidrio de 500mL Pirex (No. Cat. Z14,053-8)
- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 1mL KIMAX (No. Cat. Z25,448-7)
- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 5mL KIMAX (No. Cat. Z25,451-7)
- Pipetas serologicas de vidrio graduadas de 10mL KIMAX (No. Cat. Z25,452-5)
- Matraz aforado de Vidrio KIMAX, 100mL (No. Cat. Z25,527-0)

- Matraz aforado de vidrio KIMAX, 200mL (No. Cat. Z25,528-9)
- Matraz aforado de vidrio KIMAX, 1000mL (No. Cat. Z25,531-9)
- Probeta de vidrio graduada Pirex, 50mL (No. Cat. Z13,937-8)
- Probeta de vidrio graduada Pirex , 250mL (No. Cat. Z13,939-4)
- Probeta de vidrio graduada Pirex, 500mL (No. Cat. Z13,941-6)
- Pipetas Pasteur de 9 pulgadas s/m (No. Cat. Z19,061-6)
- Bulbos de latex para pipeta Pasteur con capacidad para 2mL, s/m (No. Cat. Z11,159-7)
- Termómetro de vidrio de -10 a 260° C (Enviro No. Cat. Z25,298-0)

C) Equipos:

- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) que consiste de:
- Detector de absorbancia BECKMAN MODELO 334 de longitud de onda fija (230nm).(No. Cat. C8546733, HARBOR BLVD. CALIFORNIA. USA)
- Bomba peristáltica isocrática LKB BROMMA MODELO 2150. (Farmacia[®] LKB Sweden)
- Válvula de inyección de modo dual con loop de 10 μ L marca Rheodyne modelo 7725.(Alltech y Applied Science para México, Amores1618-601, Col. del Valle, Del. Benito Juárez, México DF).
- Modulo de datos marca WATERS modelo 730.(Waters Associates 34 Maple Street Milford, MA 01757 USA).
- Columna HPLC WATERS Symmetry LC₁₈ 15cmX4mm. (34 Maple Street Milford Massachusetts 01757 USA. No. Partida WAT037525)
- Columna HPLC SUPELCO LC₁₈ Supelcosil 15cm X 4mm,50 μ m. (Bellefonte, Pennsylvania USA. No. Cat. 58970C30)
- Jeringa de aguja fija Hamilton serie 700 para válvulas de inyección Rheodyne. (No. Cat. 80065)
- Balanza Analítica Tecator 6110, (Advanced Instruments de México S.A de C.V Amores 320 Col. Del Valle 031100 México DF)
- Centrífuga Garver Electrofuge, modelo 55. (Garver Manufacturing Co. Union City Indiana USA)

- Baño de agua B-480 Büchi, (Brinkmann Instruments Inc. Westbury, N.Y 11590 516/334-7500)
- Agitador Vortex type 37, (Thermolyne, Barnstead 2555 Kerper Boulevard Dubuque IOWA 52001 USA)

D) Software

- Origin[®] 7.0 SRO (Origin Lab, Corporation One Roundhouse Plaza Northampton, MA 1060 USA).
- Microsoft[®] EXCEL 2000 (9.0.2812).(Microsoft México, S.A. de C.V. Aplicaciones: (52) (5) 265-3399).
- Sigma Plot 2002 for WINDOWS Version 8.0, SPSS Inc.
- Sigma Stat 3.1 for Windows SPSS Inc.

4. Las especificaciones analíticas propuestas para la validación del método de cuantificación de colesterol son:

- Linealidad
- Exactitud
- Repetibilidad
- Limite de detección
- Limite de cuantificación

DE ACUERDO A LOS LABORATORIOS CERTIFICADOS:

1. EMA: Entidad Mexicana de Acreditación.
2. Normatividad Oficial Mexicana

Se pueden tomar para una validación promedios de concentraciones conocidas como las que se emplearon anteriormente, que en las cuales e utilizo una concentración alta una media y una baja.

Para la realización de los cálculos se tomaron los promedios obtenidos de las concentraciones y áreas

Para el estudio de la linealidad de la respuesta del detector se prepararon curvas de calibración con diferentes niveles de concentración conocida en solución bajo, medio y alto (Quattrochi.1992).

Para el estudio de la linealidad de la respuesta del detector se preparó una curva de calibración con tres concentraciones diferentes una alta, una media y una baja. Para la realización de los cálculos de acuerdo a (Validation of Compendial Methods 1995), se pueden utilizar promedios de las áreas y absorbancias para obtener resultados más precisos y exactos.

LINEALIDAD:

Es la habilidad que tiene el método para comportarse de manera proporcional en un determinado intervalo de concentraciones de colesterol.

También es la parte de la función de calibración en la que la señal obtenida para el colesterol responde “linealmente” a la concentración. Se verifica mediante la obtención de coeficientes de correlación mayor o iguales a 0,995. (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

Para determinar la linealidad de método se utilizaron dos columnas diferentes y un mismo estándar de colesterol.

(1) Columna HPLC WATERS Symmetry LC₁₈ 15cm X4mm. Se prepararon una serie de diferentes concentraciones a partir de un estándar de colesterol (10.35mg/mL), concentraciones de 1.035mg/mL y 2.070 mg/mL) por cuádruplicado.

Para la obtención de la curva patrón se inyectaron al cromatógrafo volúmenes de 10 μ L de las diferentes diluciones y del concentrado.

Las condiciones de trabajo del cromatógrafo fueron las siguientes:

Flujo de 2 mL / min.

- Temperatura Ambiente
- Fase móvil metanol HPLC 100%
- Jeringa de aguja Fija Hamilton serie 700
- Válvula de inyección de modo dual con loop de 10µL
- Longitud de onda de 230nm.

Se determina la curva con su regresión lineal. Los valores de coeficiente de correlación, pendiente y ordenada al origen se pueden calcular por hoja de cálculo o con calculadora.

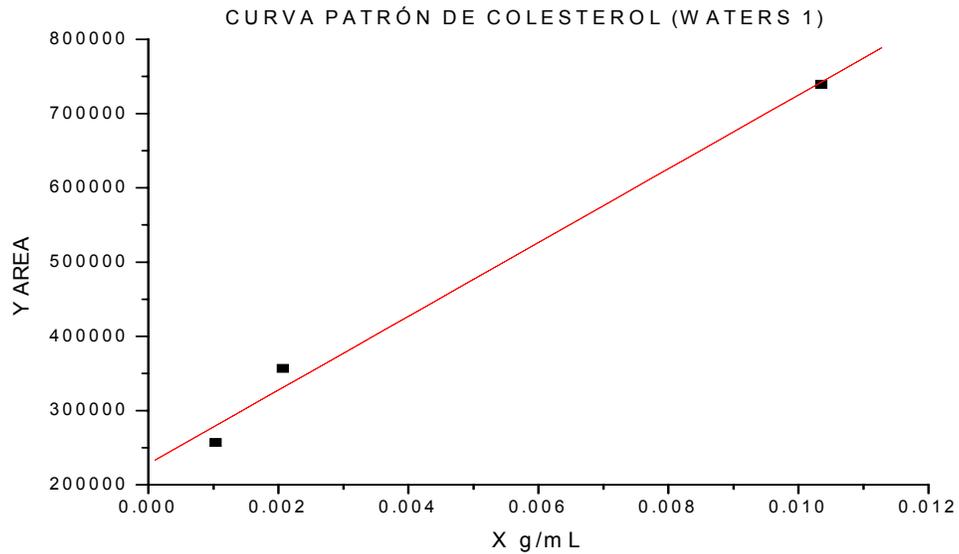
TR = Tiempo de Retención
 D.E = Desviación Estándar
 C.V = Coeficiente de Variación

Concentración mg/mL	inyecciones	1	2	3	4	Prom.	D.E	C.V
1.035	Área	292320	236279	241858	256824	256820.25	25206.11	9.81
	T.R	15.31	14.86	14.20	14.06	14.60	0.5839	3.99
2.070	Área	335299	332632	388273	370466	356667.5	27225.13	7.63
	T.R	14.13	13.24	14.88	14.00	14.06	0.6716.	4.77
10.35	Área	729792	791083	712356	724933	739541	35138.007	4.75
	T.R	11.01	10.3	10.29	9.11	14.177	0.7874	7.73

Cuadro 8.- Resultados cromatográficos de las diferentes concentraciones analizadas.

Con la serie de concentraciones mencionadas anteriormente (Cuadro 8) se obtuvieron diferentes áreas y con estos se construyó la curva patrón mostrada en la figura 7

Figura 7



Por regresión lineal se obtiene la siguiente ecuación.

$$Y = B X + A$$

$$\text{Área} = 4.96812E7 X + 228189.52397$$

Donde:

B = Pendiente

A = Ordenada

R = Coeficiente de correlación

Y = Área

X = Concentración

Parámetros obtenidos:

$$A = 228189.52397$$

$$B = 4.96812E7$$

$$R = 0.99543$$

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser r^2 mayor o igual a 0,995 (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.99543 que es mayor al mencionado por la literatura. Entonces nuestra relación queda de la siguiente manera:

$$0.99543 \geq 0,995$$

Por lo tanto se acepta la linealidad de la recta y por consiguiente se acepta la ecuación de la recta

LINEALIDAD

1) Columna HPLC WATERS Symmetry LC₁₈ 15cm X4mm. Se prepararon una serie de diferentes concentraciones a partir de un estándar de colesterol (11.35mg/mL), concentraciones de 1.135mg/mL y 2.27mg/mL) por triplicado. Para la obtención de la curva patrón se inyectaron al cromatógrafo volúmenes de 10 μ L de las diferentes diluciones y del concentrado.

Las condiciones de trabajo del cromatógrafo son las siguientes:

- Flujo de 2 mL / min.
- Temperatura Ambiente
- Fase móvil metanol HPLC 100%
- Jeringa de aguja Fija Hamilton serie 700
- Longitud de onda de 230nm.
- Válvula de inyección de modo dual con loop de 10 μ L

T.R = Tiempo de Retención
D.E = Desviación Estándar
C.V = Coeficiente de Variación

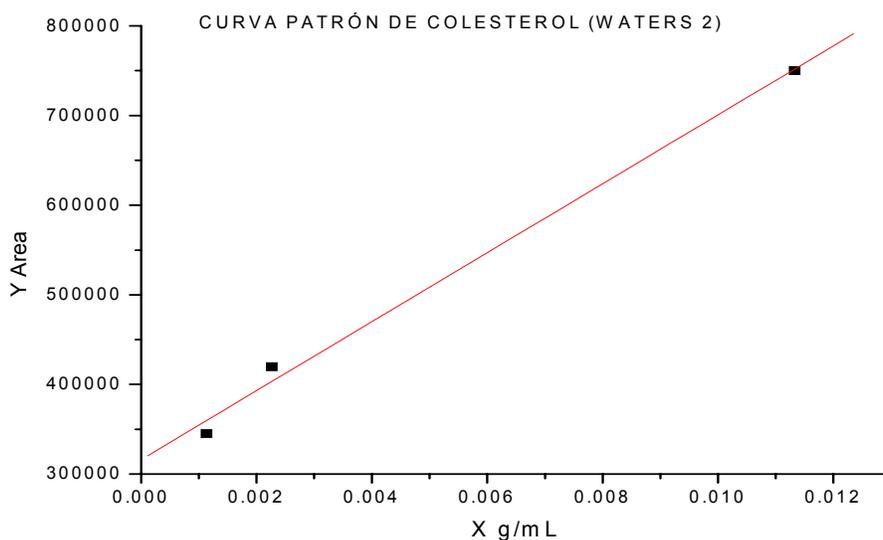
Concentración mg/mL	inyecciones	1	2	3	Prom.	D.E	C.V
1.135	ÁREA	369737	370466	295420	345207.66	43118.92	12.49
	T.R	16.01	16.13	16.72	16.28	0.3800	2.33
2.27	AREA	420627	400000	438605	419744	19317.64	4.60
	T.R	15.57	15.86	16.01	15.81	0.2236	1.41
11.35	AREA	732191	755291	763004	750162	16034.033	2.13
	T.R	15.22	15.85	15.70	15.59	0.3290	2.11

Cuadro 9.- Resultados cromatográficos de las diferentes concentraciones analizadas

Se va a determinar la curva con su regresión lineal. Los valores de coeficiente de correlación, pendiente y ordenada al origen se pueden calcular por hoja de cálculo o con calculadora.

Con la serie de concentraciones mencionadas anteriormente (Cuadro 9) se obtuvieron diferentes áreas y con estos se construyó la curva patrón mostrada en la figura 8.

Figura 8



Por regresión lineal se obtiene la siguiente ecuación.

$$Y = B X + A$$

$$\text{Área} = 3.8463E7X + 316197.43288$$

Donde:

B = Pendiente

A = Ordenada

R = Coeficiente de correlación

Y = Área

X = Concentración

$$A = 316197.43288$$

$$B = 3.8463E7$$

$$R = 0.99739$$

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser r^2 mayor o igual a 0,995 (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.99739 que es mayor al mencionado por la literatura. Entonces nuestra relación queda de la siguiente manera:

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser $r^2 \geq 0,995$

$$0.99739 \geq 0,995$$

Por lo tanto se acepta la linealidad de la recta y por consiguiente se acepta la ecuación de la recta

LINEALIDAD

(2) Columna HPLC SUPELCO, Supelcosil LC₁₈ 15cm X4mm,50um, Se prepararon una serie de diferentes concentraciones a partir de un estándar de colesterol (11.13mg/mL), concentraciones de 2.226mg/mL y 1.113 mg/mL) por triplicado. Para la obtención de la curva patrón se inyectaron al cromatógrafo volúmenes de 10µL de las diferentes diluciones y del concentrado.

Las condiciones de trabajo del cromatógrafo son las siguientes:

- Flujo de 2 mL / min.
- Temperatura Ambiente
- Fase móvil metanol HPLC 100%
- Jeringa de aguja Fija Hamilton serie 700
- Válvula de inyección de modo dual con loop de 10µL
- Longitud de onda de 230nm.

Se va a determinar la curva con su regresión lineal. Los valores de coeficiente de correlación, pendiente y ordenada al origen se pueden calcular por hoja de cálculo o con calculadora.

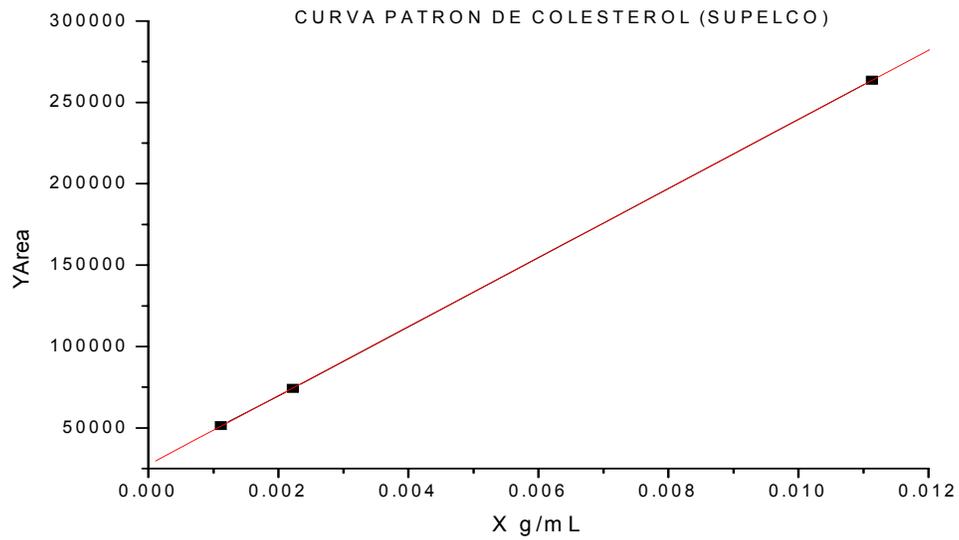
T.R = Tiempo de Retención
D.E = Desviación Estándar
C.V = Coeficiente de Variación

Concentración mg/mL	inyecciones	1	2	3	Prom.	D.E	C.V
1.113	ÁREA	40087	62517	51388	51330.66	11215.10	21.84
	T.R	10.96	10.88	10.77	10.87	0.0953	0.877
2.226	AREA	73157	77083	76254	74228.5	3049.78	4.10
	T.R	10.90	10.95	11.05	10.98	0.075	0.68
11.13	AREA	258960	266879	264838	263559	4111.51	1.55
	T.R	10.70	10.97	10.88	10.85	0.1374	1.26

Cuadro 10.- Resultados cromatográficos de las diferentes concentraciones analizadas

Con la serie de concentraciones mencionadas anteriormente (Cuadro 10) se obtuvieron diferentes áreas y con estos se construyó la curva patrón mostrada en la figura 8

Figura 8



Por regresión lineal se obtiene la siguiente ecuación.

$$Y = B X + A$$

$$\text{Área} = 2.12162E7 X + 27380.11795$$

Donde:

B = Pendiente

A = Ordenada

R = Coeficiente de correlación

Y = Área

X = Concentración

$$A = 27380.11795$$

$$B = 2.12162E7$$

$$R = 0.99999523$$

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser r^2 mayor o igual a 0,995 (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.99999523 que es mucho mayor al mencionado por la literatura. Entonces nuestra relación queda de la siguiente manera:

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser $r^2 \geq 0,995$

$$0.99999523 \geq 0,995$$

Por lo tanto se acepta la linealidad de la recta y por consiguiente se acepta la ecuación de la recta

De las dos columnas cromatográficas utilizadas ambas presentaron un comportamiento aceptable de manera proporcional en un determinado intervalo de concentración, pero la columna que tuvo el mejor comportamiento fue la SUPELCO ya que se obtuvo un coeficiente de correlación muy cercano a 1 (0.9999995) con respecto a la columna WATERS que fue en promedio de 0.9987.

Para los siguientes resultados de LINEALIDAD se ocuparon todos los valores, sin utilizar promedios. Para comparar resultados.

Concentración	WATERS 1 AREA	WATERS 2 AREA	SUPELCO AREA
1.035	292320	369737	40087
1.035	236279	370466	62517
1.035	241858	295420	51388
1.035	256824	420627	73157
2.07	335299	400000	77083
2.07	332632	438605	76254
2.07	388273	732191	258960
2.07	370466	755291	266879
10.35	729792	763004	264838
10.35	791083		
10.35	712356		
10.35	724933		

Cuadro.- 11 Resultados de las Áreas obtenidas por el cromatógrafo

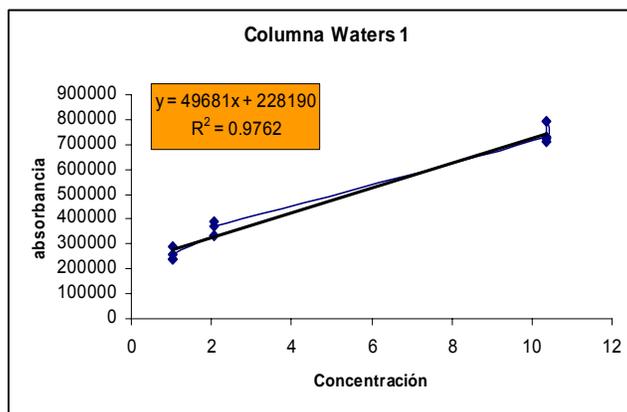


Figura 9 Columna WATERS 1

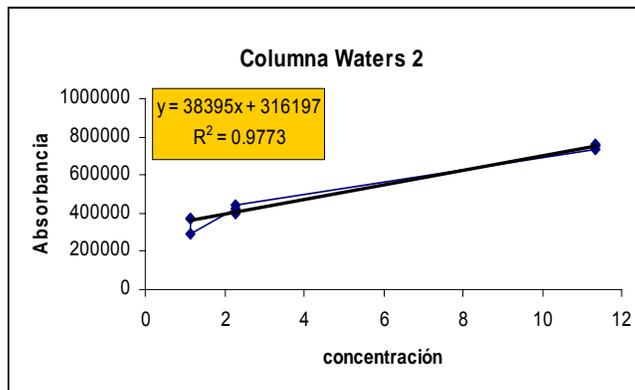


Figura 10 Columna WATERS 2

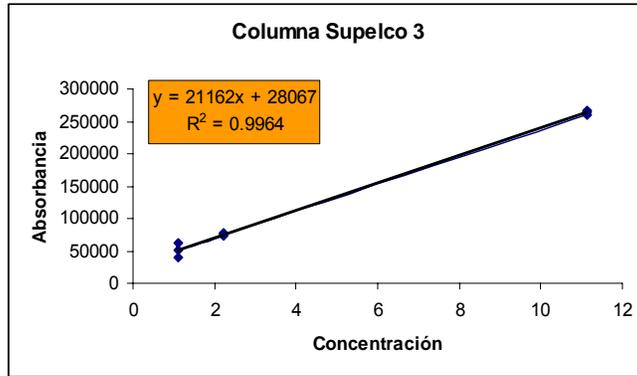


Figura 11 Columna SUPELCO

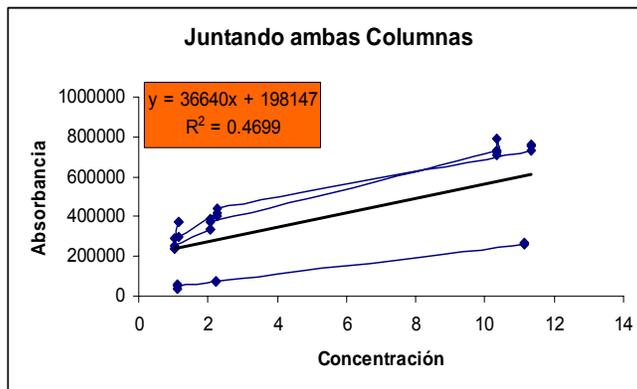


Figura 12 Utilizando todas las columnas

Los valores obtenidos de la curva y utilizando todos los puntos se obtuvo la siguiente curva:

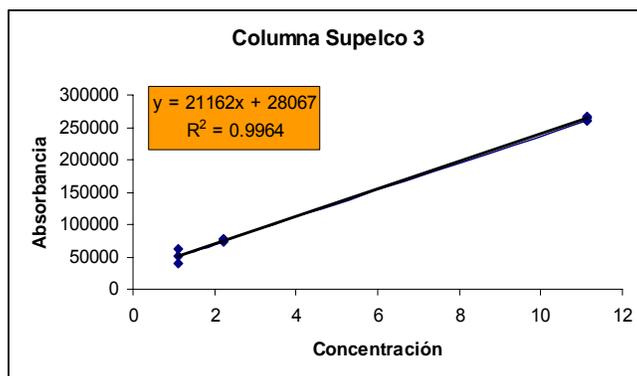


Figura 13 Columna SUPELCO

Datos de la curva:

$$m=21162$$

$$b= 28067$$

$$R^2 = 0.9964$$

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser r^2 mayor o igual a 0,995 (Organismo Argentino de Acreditación 2003).

El coeficiente de correlación obtenido fue de 0.9964 que es mucho mayor al mencionado por la literatura. Entonces nuestra relación queda de la siguiente manera:

El criterio de aceptación del coeficiente de correlación que debe ser $r^2 \geq 0,995$

$$0.9964 \geq 0,995$$

Por lo tanto se acepta la linealidad de la recta y por consiguiente se acepta la ecuación de la recta

EXACTITUD:

La exactitud se define como la proximidad entre el resultado de una medición y el valor verdadero del mesurando. También se puede definir como el grado de concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero. Se expresa como el por ciento de recuperación obtenido en muestras de concentración conocida. (Norma ISO/ IEC 17025. 1999).

Para la evaluación de este parámetro se realiza el análisis de un material de referencia certificado, preferentemente con una matriz semejante a la de la muestra. Sólo en el caso de no existir un material adecuado se puede realizar un ensayo de recuperación (NORMA IRAM 32. 1997).

Se preparo una serie de concentraciones de un estándar de colesterol por triplicado, se obtuvo el promedio de cada una de las concentraciones y se calcularon los valores con las fórmulas que a continuación se describen:

$$\mu = ((b \times 100)/a) \text{ y obtener el promedio de la recuperación}$$

En donde:

a = Concentración real del analito

b = Concentración promedio del analito obtenido en la determinación.

μ = % de recuperación

g.L = grados de libertad

Los resultados de los promedios aparecen en el cuadro 12 que se muestran a continuación:

Se utilizo curva patrón de la columna Supelco ya que ésta obtuvo el coeficiente de correlación más alta.

$$Y = B X + A$$

$$\text{Área} = 2.12162E7 X + 27380.11795$$

Donde:

B = Pendiente

A = Ordenada

R = Coeficiente de correlación

Y = Área

X = Concentración

$$A = 27380.11795$$

$$B = 2.12162E7$$

$$R = 0.99999523$$

Concentración de colesterol mg/mL	Área 1	Área 2	Área 3	Área Promedio	Concentración recuperada mg/mL
11.13	258960	266879	264838	263559	11.131±3357 (CV=1.27)
2.26	73157	77083	76254	74228.5	2.2081±1804.8 (CV=2.4)
1.113	40087	62517	51388	51388	1.128±6425.3 (CV=11.6)

Cuadro 12.- Concentración Recuperada de colesterol

Los resultados del % de recuperación aparecen en el cuadro 13 que se muestran continuación:

Concentración mg/mL	Cálculos	% de recuperación (μ)
11.13	$\mu=(11.131 \times 100) / 11.13$	100.008
2.26	$\mu=(2.2081 \times 100) / 2.26$	99.195
1.113	$\mu= (1.128E \times 100) / 1.113$	101.34
promedio =		100.181

Cuadro 13.- Resultados de porcentaje de recuperación de colesterol

La significancia de una diferencia entre dos promedios se calcula con la prueba “t” de student (Douglas C. Montgomery 1991).

Cuya fórmula es la siguiente:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$S = 1.08246$$

En donde:

X= promedio de los resultados de recuperación de n muestras independientes.

X_i= Resultado de la recuperación de una muestra independiente

μ° = Recuperación del 100%

S = Desviación estándar

n = Número de determinación.

$$T_{\text{calculada}} = \frac{(x - \mu^{\circ})}{(S / \sqrt{n})}$$

$$t_{\text{calculada}} = (100.1812 - 100) / 1.08246 / 3$$

$$t_{\text{calculada}} = 0.502189$$

El criterio de aceptación se define con la siguiente relación:

$$t_{\text{calculada}} \leq t_{\text{tablas}} \text{ \% de confianza y g.L. (Douglas C. Montgomery 2000).}$$

$$T_{\text{tablas para 95\% de confianza y 8 g.L.}} = 2,306$$

La $t_{\text{calculada}}$ que se obtuvo fue mucho menor a la t_{tablas} , entonces la relación queda de la siguiente manera:

$$\mathbf{0.502189 \leq 2,306}$$

El criterio de aceptación se cumplió ya que el valor de la $t_{\text{calculada}}$ fue mucho menor al valor de t_{tablas} por lo tanto el método es exacto, es decir que el método tiene un alto grado de concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero.

Para el intervalo de confianza, se tiene la siguiente relación:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{(t_{\text{tablas}} S)}{\sqrt{n}} \text{ (Douglas C. Montgomery 2000).}$$

$$\mu = 100.1812 \pm (2,306 \times 1.08246) / \sqrt{9}$$

$$\mu = 100.1812 + 0.832050 = 101.0132$$

$$\mu = 100.1812 - 0.832050 = 99.3491$$

El método es exacto en el intervalo de **99.3491 a 101.0132** de recuperación.

Los valores obtenidos de la curva y utilizando todos los puntos se obtuvo la siguiente curva:

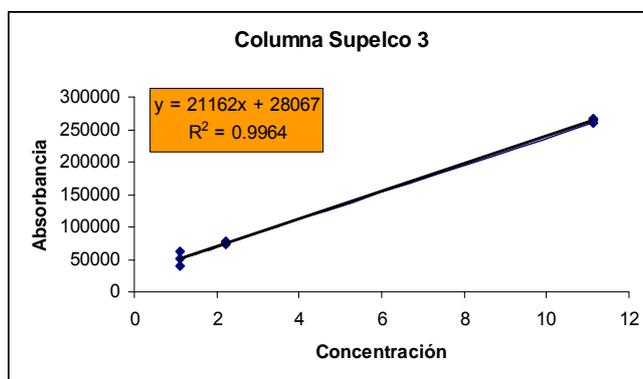


Figura 14 Columna SUPELCO

Datos de la curva:

$m=21162$

$b= 28067$

$R^2 = 0.9964$

Concentración de colesterol mg/mL	Área 1	Área 2	Área 3	Área Promedio	Concentración recuperada mg/mL
11.13	258960	266879	264838	263559	11.13
2.26	73157	77083	76254	74228.5	2.19
1.113	40087	62517	51388	51388	1.10

Cuadro 14 Concentración recuperada utilizando datos de la curva anterior (sin promedios)

Concentración mg/mL	Cálculos	% de recuperación (μ)
11.13	$\mu=(11.13 \times 100) / 11.13$	100.00
2.26	$\mu=(2.19 \times 100)/2.26$	97.00
1.113	$\mu= (1.10 \times 100)/1.113$	99.00
promedio =		99.00

Cuadro 15 Resultados de por ciento de recuperación.

La significancia de una diferencia entre dos promedios se calcula con la prueba "t" de student (Douglas C. Montgomery 1991).

Cuya fórmula es la siguiente:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

$$S = 1.58$$

En donde:

\bar{x} = promedio de los resultados de recuperación de n muestras independientes.

x_i = Resultado de la recuperación de una muestra independiente

μ° = Recuperación del 100%

S = Desviación estándar

n = Número de determinación.

$$t_{\text{calculada}} = \frac{(\bar{x} - \mu^\circ)}{(S / \sqrt{n})}$$

$$t_{\text{calculada}} = (99 - 100) / 1.58 / 3$$

$$t_{\text{calculada}} = 1.9230$$

El criterio de aceptación se define con la siguiente relación:

$$t_{\text{calculada}} \leq t_{\text{tablas}} \text{ \% de confianza y g.L. (Douglas C. Montgomery 2000).}$$

t_{tablas} para 95% de confianza y 8 g.L. = 2,306

La $t_{\text{calculada}}$ que se obtuvo fue mucho menor a la t_{tablas} , entonces la relación queda de la siguiente manera:

$$1.9230 \leq 2,306$$

El criterio de aceptación se cumplió ya que el valor de la $t_{\text{calculada}}$ fue mucho menor al valor de t_{tablas} por lo tanto el método es exacto, es decir que el método tiene un alto grado de concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero.

Para el intervalo de confianza, se tiene la siguiente relación:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{(t_{\text{tablas}} S)}{\sqrt{n}} \text{ (Douglas C. Montgomery 2000).}$$

$$\mu=99.0 \pm (2,306 \times 1.58)/ \sqrt{9}$$

$$\mu= 99.0 + 1.21=100.21$$

$$\mu=99.0 - 1.21 = 97.79$$

El método es exacto en el intervalo de **97.79 a 100.21** de recuperación.

PRECISIÓN:

Es el grado de concordancia entre una serie de resultados al analizar repetidamente una muestra homogénea. Se divide a su vez en:

- Repetibilidad:

Es la proximidad entre los resultados de mediciones sucesivas del mismo mesurando, realizadas bajo las mismas condiciones de medición. (Aplicación de un mismo procedimiento, a un mismo objeto, por el mismo operador, en intervalos cortos de tiempo, con el mismo equipamiento instrumental, en el mismo lugar).

Puede determinarse de una manera interna. Para ello es necesario tener en cuenta que:

- Deben obtenerse suficientes resultados.
- Todos los pasos del método (incluidas la toma y preparación de la muestra, así como la calibración) deben realizarse n-veces. (NORMA IRAM 32. 1997).

Repetibilidad:

Se eligió una concentración inicial de colesterol del intervalo de trabajo y se preparo un volumen conocido, se utilizo un material de control que permitió realizar la determinación en por lo menos cuatro tiempos diferentes y se analizo cada una por triplicado.

Se deben obtener por lo menos un total de 13 determinaciones. Los datos se ordenaron de acuerdo al cuadro 16

No. de repeticiones	Días				
	1(g/mL)	2(g/mL)	3(g/mL)	4(g/mL)	5(g/mL)
1	0.01004	0.01012	0.01013	0.01061	0.01028
2	0.01023	0.01013	0.01018	9.9395E-3	0.01010
3	0.01007	0.01068	9.78E-3	0.01020	0.01021
\bar{X}_i	0.01011	0.01031	0.01003	0.01021	0.0101
S_i^2	1.021E-4	3.20E-4	2.17E-4	3.85E-3	9.073E-5
S_i^2	6.966E-9	6.846E-9	3.166E-8	9.94E-8	1.48E-8

Cuadro 16.- Resultados de repetibilidad

Se calculo la distribución Ji cuadrada (Ji^2) para evaluar a dos porciones de población que se espera que se comporten de la misma forma (Douglas C. Montgomery 2000).

$$Ji^2 = \frac{(N-1)S^2}{\sigma^2}$$

En donde:

N = Número de mediciones de la muestra

S^2 = Varianza de la muestra

σ^2 = Varianza poblacional y representa la variabilidad del método

$$S^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{X})^2}{N}$$

En donde:

x_i = Valor obtenido de cada muestra

\bar{X} = Valor promedio

N = Número total de muestras

S^2 = Varianza de la muestra

$$\sigma^2 = \frac{\sum (n-1)S_i^2}{N-k}$$

En donde:

n = Número de número total de tiempos

S_i^2 = varianza de cada tiempo

N = Número total de muestras

k = Número de repeticiones en un tiempo

σ^2 = Varianza poblacional, representa la variabilidad del método.

En los cuadros 17 y 18 se muestran los cálculos y el resultado de la varianza de las muestras y la varianza poblacional que representa la variabilidad del método.

Cuadro 17.- Cálculos para la determinación de la Varianza de la Muestra

$(x_i - \bar{X})$ Varianza de las muestras	$(x_i - \bar{X})^2$ _varianza Poblacional
0.01004-0.01011	4.9E-9
0.01023-0.01011	1.44E-8
0.01007-0.01011	1.6E-9
0.01012-0.01031	3.61E-8
0.01013-0.01031	3.24E-8
0.01068-0.01031	1.369E-7
0.01013-0.01003	1E-8
0.01018-0.01003	2.25E-8
9.78E-3-0.01003	6.25E-8
0.01061-0.01021	1.6E-7
9.8395E-3-0.01021	1.3727E-7
0.01020-0.01021	1E-10
0.01028-0.0101	3.24E-8
0.01010-0.0101	0
0.01021-0.0101	1.21E-8
	$\Sigma(x_i - \bar{X})^2 = 6.63E-7$
	$S^2 = \frac{6.63E-7}{15} = 4.42E-8$

FORMULA	VARIANZA POBLACIONAL
$\frac{(n - 1) S_j^2}{N - k}$	
$\frac{(5 - 1)(6.966E - 9)}{15 - 3}$	2.322E-9
$\frac{(5 - 1)(6.846E - 9)}{15 - 3}$	2.282E-9
$\frac{(5 - 1)(3.166E - 8)}{15 - 3}$	1.055E-8
$\frac{(5 - 1)(9.94E - 8)}{15 - 3}$	3.31E-8
$\frac{(5 - 1)(1.48E - 8)}{15 - 3}$	4.93E-9
	$\Sigma = 5.32E-8 = \sigma^2$

Cuadro 18.- Cálculo para la determinación de la Varianza Poblacional.

La Varianza de la muestra es igual a $S^2 = 4.42E-8$

La Varianza poblacional es igual a $\sigma^2 = 5.32E-8$

En donde:

$n = 5$

$S_j^2 = 6.966E-9, 6.846E-9, 3.166E-8, 9.94E-8, 1.48E-8$

$N = 15$

$k = 3$

$\sigma^2 =$ varianza poblacional y representa la variabilidad del método.

$$Ji^2_{cal} = \frac{(15 - 1)(4.42E - 8)}{5.32E - 8} = 11.6315$$

En donde:

$$N = 15$$

$$S^2 = 4.42E-8$$

$$\sigma^2 = 5.32E-8$$

$$Ji^2_{cal}=11.6315$$

La distribución Ji^2 de tablas para un intervalo de confianza del 95% y con sus grados de libertad (g.L.)

$$g.L. = (n-1)(k-1)$$

En donde:

n = número de total de tiempos

k = número de repeticiones en un tiempo (Esto significa el número total de veces realizado por tiempo)

g.L = grados de libertad

$$g.L. = (5-1)(3-1)$$

$$g.L. = 8$$

En donde:

$$n = 5$$

$$k = 3$$

$Ji^2_{tablas} = 15,51$ (valor obtenido de las tablas de Douglas C. Montgomery 2000).

El valor de $Ji^2_{calculada}$ fue menor al de Ji^2_{tablas} por consiguiente la relación queda de la siguiente manera:

$$Ji^2_{calculada} \leq Ji^2_{tablas}$$

$$11.6315 \leq 15,51$$

El criterio de aceptación se cumplió ya que el valor de $Ji^2_{calculada}$ es menor que Ji^2_{tablas} y por lo tanto el método es repetible.

Se puede decir que el método es repetible, es decir que el método presenta concordancia entre una serie de determinaciones independientes realizadas bajo las mismas condiciones (analista, reactivos, equipos, etc.).

ROBUSTEZ:

Es el grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos mediante la ejecución del método de ensayo sobre una misma muestra al variar algunas condiciones de operación, como por ejemplo: diferente concentración, temperatura, etc.

El objetivo de la prueba de robustez es optimizar el método analítico y describir que bajo las condiciones establecidas, incluidas sus tolerancias se pueden obtener resultados suficientemente exactos con una alta seguridad, de manera que el procedimiento funcione confiablemente si se utiliza en otros laboratorios o después de intervalos largos de tiempo.

Un método es más robusto entre menos dependan los resultados del ensayo de una modificación en las condiciones de éste.

Un aspecto importante de la robustez es la estabilidad de todas las muestras, estándares y reactivos, tanto en el almacenamiento como durante las condiciones de ensayo (Organismo Argentino de Acreditación, 2003).

Se identifico en el método de ensayo aquellas variables que posiblemente puedan afectar los resultados finales.

- **VARIABLES:**

1. Temperatura de incubación
2. Tiempo de incubación
3. Cantidad de piridina
4. Cantidad de cloruro de benzoilo
5. Cantidad de HCl 0.1N
6. Cantidad de éter etílico
7. Cantidad de agua de lavado

Para determinar la robustez de un procedimiento analítico pueden modificarse algunas condiciones del análisis (el propio operador las puede proponer) y así seguir las afectaciones a los resultados o a los parámetros estadísticos (Organismo Argentino de Acreditación, 2003)

Se definió el límite alto (A, B, C...) y bajo (a, b, c...) para cada variable: Se definieron las variables en forma arbitraria y se llevaron al límite para ver hasta donde el método es robusto. (Ver Cuadro 19)

	Limite alto	Limite bajo
Temperatura de incubación (°C)	A = 80	a = 70
Tiempo de incubación (min.)	B = 20	b = 15
Cantidad de piridina (mL)	C = 1	c = 0.5
Cantidad de cloruro de benzoilo (mL)	D = 0.2	d = 0.1
Cantidad de HCL 0.1N (mL)	E = 5	e = 2.5
Cantidad de éter etílico (mL)	F = 5	f = 2.0
Cantidad de agua de lavado (mL)	G = 16	g = 10

Cuadro 19 Definición de variables

Se ordeno de acuerdo al diseño experimental de Youden y Steiner, que permite estudiar el efecto de siete variables con sólo ocho análisis de una muestra, como lo muestra el cuadro 20. Los resultados encontrados se representan con las letras s hasta la z (Douglas C. Montgomery 1991).

Valor de las variables	ENSAYOS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	f	F	F	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
Resultados de colesterol en g/mL	s=0.011131	t=9.62E-3	u=0.00866	V=0.006388	w=0.00627	x=0.0035	y=0.0090	z=0.003540

Cuadro 20.- Prueba de robustez de Youden para un método analítico (Douglas C. Montgomery 2000).

Se calculo el efecto de cada una de las variables haciendo la media de los cuatro ensayos que contienen la variable en su valor alto (letras mayúsculas) y aquellas que corresponden al valor bajo (letras minúsculas).

$$\begin{aligned}
 A &= \frac{(s+t+u+v)}{4} & a &= \frac{(w+x+y+z)}{4} \\
 B &= \frac{(s+t+w+x)}{4} & b &= \frac{(u+v+y+z)}{4} \\
 C &= \frac{(s+u+w+y)}{4} & c &= \frac{(t+v+x+z)}{4} \\
 D &= \frac{(s+t+y+z)}{4} & d &= \frac{(u+v+w+x)}{4} \\
 E &= \frac{(s+u+x+z)}{4} & e &= \frac{(t+v+w+y)}{4} \\
 F &= \frac{(s+w+x+z)}{4} & f &= \frac{(t+u+v+y)}{4}
 \end{aligned}$$

La diferencia de las medias para cada variable en forma individual.

$$\begin{aligned}
 Va &= \frac{(s+t+u+v)}{4} - \frac{(w+x+y+z)}{4} \\
 Vb &= \frac{(s+t+w+x)}{4} - \frac{(u+v+y+z)}{4} \\
 Vc &= \frac{(s+u+w+y)}{4} - \frac{(t+v+x+z)}{4} \\
 Vd &= \frac{(s+t+y+z)}{4} - \frac{(u+v+w+x)}{4} \\
 Ve &= \frac{(s+u+x+z)}{4} - \frac{(t+v+w+y)}{4}
 \end{aligned}$$

$$Vf = \frac{(s+w+x+z)}{4} - \frac{(t+u+v+y)}{4}$$

$$Vg = \frac{(s+v+x+y)}{4} - \frac{(t+u+w+z)}{4}$$

La(s) variable(s) que tienen influencia significativa sobre el resultado de acuerdo a el siguiente criterio de aceptación.

Si $|V| > S \sqrt{2} \Rightarrow$ existe diferencia significativa (Douglas C. Montgomery 1991).

En donde:

$|V|$ = Valor absoluto de la diferencia de las medias para cada variable.

S = Desviación estándar del método de ensayo que se determinó en el apartado de exactitud.

s (g/mL)	t (g/mL)	u (g/mL)	v (g/mL)	w (g/mL)	x (g/mL)	y (g/mL)	z (g/mL)
0.011132	9.62E-03	0.00866	0.006388	0.00627	0.00354	0.00908	0.00354
A	B	C	D	E	F	G	
3.58E-02	3.06E-02	0.035142	3.34E-02	0.026872	0.024482	0.03014	
8.95E-03	7.64E-03	0.0087855	8.34E-03	0.006718	0.0061205	0.007535	
a	b	c	d	e	f	g	
0.02243	0.027668	2.31E-02	0.024858	3.14E-02	3.37E-02	2.81E-02	
0.0056075	0.006917	5.77E-03	0.0062145	7.84E-03	8.44E-03	7.02E-03	
Diferencia de medias							
Va	Vb	Vc	Vd	Ve	Vf	Vg	
3.34E-03	7.24E-04	3.01E-03	2.13E-03	-1.12E-03	-2.32E-03	5.13E-04	

Cuadro 21.- Resultados obtenidos de la Prueba de Youden.

Si $|V| > S \sqrt{2} \Rightarrow$ existe diferencia significativa.

$$S = 2.8081E-3$$

Si $|V| > 2.8081E-3 \sqrt{2} = 3.97E-3 \Rightarrow$ existe diferencia significativa, es decir que las variables tienen influencia sobre el resultado.

Para determinar la desviación estándar se ocupa la siguiente formula:

$$S = \sqrt{\frac{\sum (xi-x)^2}{n-1}}$$

Donde:

S = Desviación estándar

X = Promedio de los resultados de n muestras independientes

X_i = Resultado de una muestra independiente

$(X_i - \bar{X})$ DESVIACIÓN ESTANDAR	DESVIACIÓN ESTANDAR ²
0.00385325	0.000014847
0.00234	0.0000054756
0.00138125	0.0000019078
-0.00089075	0.00000079343
-0.00100875	0.0000010175
-0.00373875	0.000013978
0.00180125	0.0000032445
-0.00373875	0.000013978
	$\Sigma = 5.52E-5$ $n-1 = 8-1 = 7$

Cuadro 22 Datos para calcular la desviación estándar.

$$S = \sqrt{\frac{5.52E-5}{8-1}}$$
$$S = 2.8081E-3$$

variable	Valor	Influencia significativa
Va	3.34E-3	Si existe diferencia significativa
Vb	7.24E-4	No hay diferencia significativa
Vc	3.01E-3	Si existe diferencia significativa
Vd	2.13E-3	Si existe diferencia significativa
Ve	-1.12E-3	Si existe diferencia significativa
Vf	-2.32E-3	Si existe diferencia significativa
Vg	5.13E-4	No hay diferencia significativa

Cuadro 23 Resultados de la(s) variable(s) que tienen influencia significativa sobre el resultado de acuerdo al criterio de aceptación.

El método no es robusto bajo estas condiciones debido a que las variables del ensayo se modificaron al extremo y se puede observar que para éste caso sí dependen de las modificaciones de las condiciones.

Los variables que no tienen influencia significativa sobre el resultado son el tiempo de incubación y la cantidad de agua de lavado, por otro lado las que sí tienen influencia significativa son: la temperatura de incubación, la cantidad de piridina, la cantidad de cloruro de benzoilo, la cantidad de HCl 0.1N y la cantidad de éter etílico.

Lo que significa que la variación en cualquiera de estas variables tendrá un efecto significativo en el resultado obtenido, por lo que deberá precisarse siempre el hecho de trabajar bajo las mismas condiciones metodológicas

SENSIBILIDAD

Es la mínima concentración de un analito que puede producir un resultado significativo. Las especificaciones para evaluar la sensibilidad de un método son los límites de detección y de cuantificación.

El límite de detección y cuantificación no se realizaron debido a que uno de los reactivos (cloruro de benzoilo) es parte del blanco de reactivos y este interacciona con la columna cromatográfica y puede llegar a dañarla e incluso puede dejarla inservible.

Al analizar los datos de linealidad se observó que para la columna WATERS Symmetry LC₁₈ se obtuvieron coeficientes de correlación promedio de 0,9964. Este valor se comparó con el criterio de aceptación del Organismo Argentino de Acreditación que menciona que el coeficiente de correlación (r^2) debe ser mayor o igual a 0,995. Al compararlos se vio que el promedio experimental fue mayor al criterio de aceptación. También se observó que al disminuir la concentración el coeficiente de variación aumenta, esto quiere decir que entre más se disminuya la concentración la sensibilidad disminuye y por lo tanto los resultados se hacen menos confiables.

Con respecto a la columna HPLC SUPELCO, Supelcosil LC₁₈ se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.99999523, este valor se comparó con el criterio de aceptación mencionado anteriormente, se vio que el valor obtenido experimental fue mucho mayor al criterio de aceptación, también esta columna presentó el mismo fenómeno que el de la columna Waters, que al disminuir la concentración la sensibilidad disminuye y por lo tanto se pierde confianza en los resultados.

Se puede decir que este método tuvo la habilidad para comportarse de manera proporcional en un determinado intervalo de concentraciones de colesterol.

Para la exactitud se observó que los resultados de recuperación fueron mayores al 99%, adicionalmente se realizó una prueba “t” student para determinar la significancia de una diferencia entre dos promedios, y se determinó el criterio de aceptación que define que la $t_{calculada}$ debe de ser menor o igual a la t_{tablas} . Se obtuvo una $t_{calculada}$ de 0.502189 y una t_{tablas} de 2,306. Por lo tanto se cumplió el criterio de aceptación y el método es exacto en el intervalo de 99,3491 a 101,0132 de recuperación. En conclusión éste método es veraz es decir, tiene concordancia entre el valor experimental y el valor verdadero.

Para la repetibilidad se eligió una concentración inicial de colesterol del intervalo de trabajo y se preparó un volumen conocido, se utilizó un material de control que permitió realizar la determinación en por lo menos cuatro tiempos diferentes y se analizó cada una por triplicado y también se determinó la distribución Ji cuadrada (J^2).

El valor de $(J^2)_{calculada}$ fue de 11.6315, ésta se comparó con el criterio de aceptación que dice: la $J^2_{calculada}$ debe de ser menor o igual a la J^2_{tablas} , cuyo valor fue de 15.51 aproximadamente. El criterio de aceptación se cumplió ya que el valor de $J^2_{calculada}$ es menor que J^2_{tablas} y por lo tanto el método es repetible.

Para la robustez se modificaron ciertos parámetros como: temperatura de incubación, tiempo de incubación, cantidad de piridina, cantidad de cloruro de benzoilo, cantidad de HCl, cantidad de éter etílico y cantidad de agua de lavado para ver si hay o no influencia en el método.

Las únicas variables que no tuvieron influencia significativa a pesar de llevarlas al extremo fueron tiempo de incubación y la cantidad de agua de lavado. Por otro lado las que sí tuvieron influencia significativa fueron: temperatura de incubación, cantidad de piridina, cantidad de cloruro de benzoilo, cantidad de HCl 0.1N y cantidad de éter etílico.

ANALISIS DE LAS MUESTRAS DE QUESO

DETERMINACIÓN DE EXTRACTO LIPIDICO Y COLESTEROL.

Para la determinación de colesterol se realizó una extracción previa de la materia grasa contenida en los diferentes tipos y marcas de quesos mediante el método de Folch (AOAC 1980) que consistió en utilizar una mezcla de solventes orgánicos (Cloroformo – Metanol en proporción 2:1), hexano y agua. La proporción mencionada anteriormente asegura una extracción de más del 95% de la grasa existente en la matriz del alimento (Hubbard, 1977). Después se procedió a derivatizar la materia grasa obtenida de los quesos mediante el método de Newkirk y Shepard (AOAC 1981) que consistió en una reacción de esterificación en el cual se utilizaron como reactivos cloruro de benzoilo y piridina para obtener benzoato de colesterol (McMurry, 2003). Y por último se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la cuantificación del benzoato de colesterol. Con respecto a la extracción de la grasa los resultados se expresaron como porcentaje y éstos se compararon con la cantidad mencionada en la etiqueta, también se compararon con las diferentes tablas y sistemas de equivalencias nacionales e internacionales tales como el CODEX, el USDA, las tablas nacionales del INCMNSZ, Sistema Mexicano de equivalentes, Valor Nutritivo y la base de datos INFOODS.

Para saber el origen de la grasa ya sea propia de la leche de vaca ó vegetal como adulterante, se utilizaron tablas en las cuales apareció un estudio de calidad de diferentes tipos y marcas de quesos (revista del consumidor No. 278 Abril 2000). El colesterol es de procedencia animal y no se encuentra en productos de origen vegetal (Devlin, 1989).

Se observo que la mayoría de los valores que informan las etiquetas de las diferentes marcas no coinciden al compararlas con los resultados obtenidos, debido a que informan menor contenido. La mayoría de los quesos analizados presentó grasa vegetal (ver cuadros 24 y 25). El estudio de calidad realizado por la revista del consumidor hace referencia a las marcas que solamente contienen grasa butírica y grasa vegetal en su formulación.

Marcas de queso
Noche Buena
Los Volcanes
Alpura
Philadelphia
Esmeralda
Caperucita
Chalet
El Ciervo
Lincott
Nestle
Franja

Cuadro 24 Marcas de queso

Tipos de queso
Oaxaca
Panela
Queso doble crema
Manchego
Chihuahua
Amarillo
Cottage
Guouda
Rancharo
Cotija
Parmesano

Cuadro 25 Tipos de Queso

Muchas marcas reconocidas a nivel nacional y que en su etiqueta mencionan el origen de la grasa en realidad no cumplen ya que experimentalmente se observo que el tipo de grasa de estas marcas no es la que se informa. Se elaboraron cuadros comparativos del contenido de lípidos y de colesterol en donde se mostraron los valores de extracto lípidico y colesterol provenientes de tablas y sistemas de equivalencias ya mencionadas anteriormente y valores obtenidos experimentalmente.

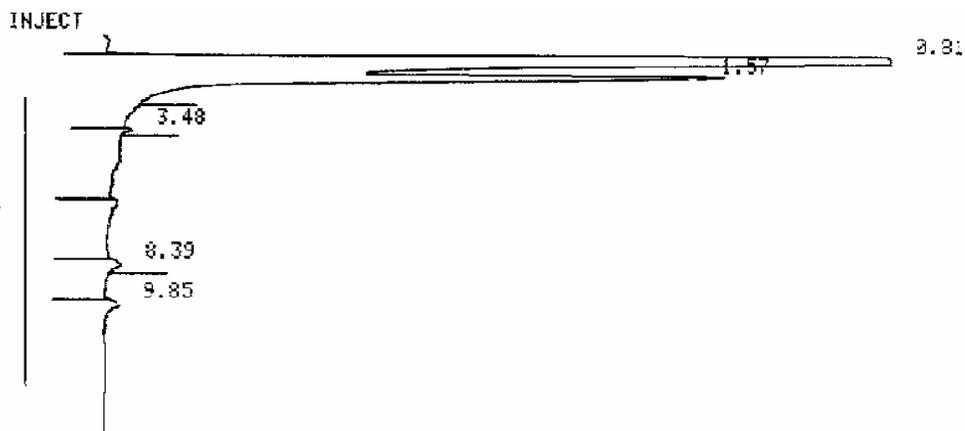
Para comparar el origen de la grasa se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para cuantificar colesterol ya que éste solamente se encuentra en la grasa de tipo animal, las grasas vegetales contienen ciertos esteroides que presentan tiempos de retención relativamente cortos, es decir salen en los primeros minutos. (Figura 15)

En el figura 1 se observa que en los primeros minutos se detecta un pico bien definido (Tiempo de retención =1.57 min.) que equivale a un esteroide de origen vegetal.

Se utilizó una grasa de origen vegetal que lleva de nombre comercial “Manteca INCA” que es un aceite de origen vegetal que pasó por un proceso de hidrogenación.

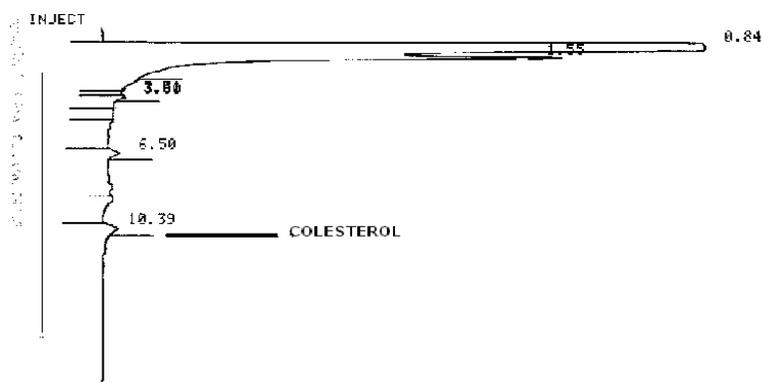
Se utilizó una grasa de origen animal proveniente de una parte carnosa marmoleada de res y cerdo.

Figura 15 Cromatograma de una muestra de grasa vegetal



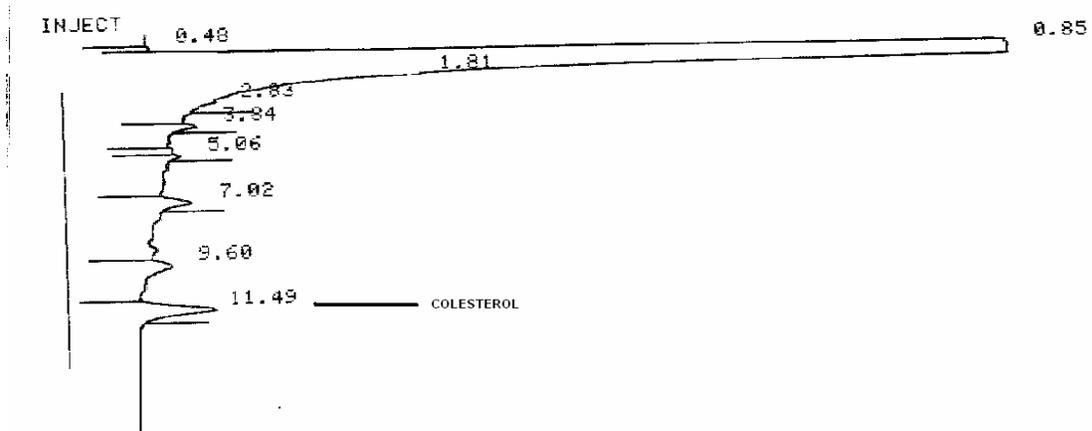
En la figura 16 se observa una mezcla de grasa vegetal y grasa animal en que se observa un pico con un tiempo de retención de 1.56 min. que equivale al esteroil vegetal, también se observa que en el tiempo de retención de 10.39 min. aparece un pico pequeño que equivale al colesterol, esto indica que se tiene una muestra que contiene grasa vegetal y grasa animal.

Figura 16 Cromatograma de una mezcla de grasa vegetal y animal



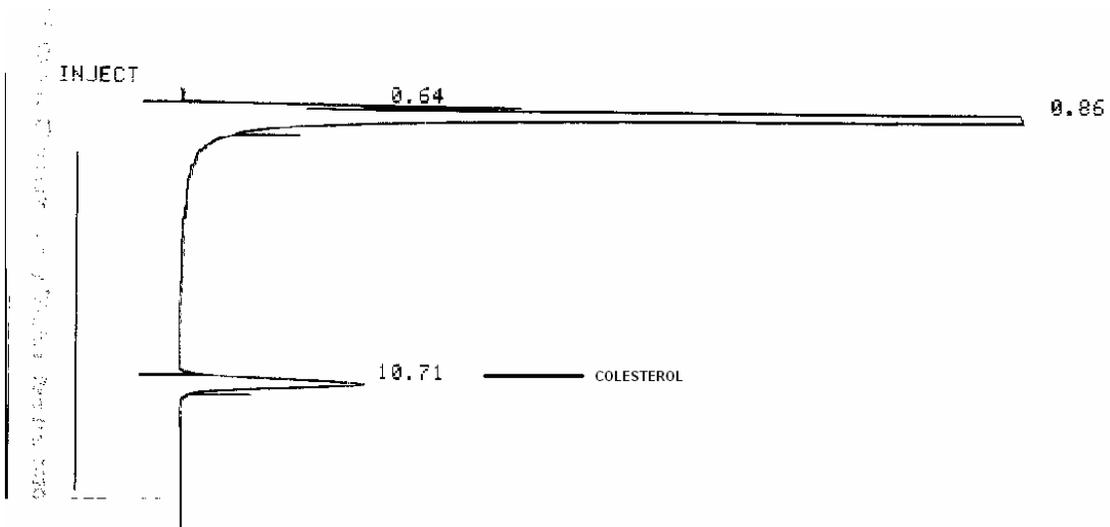
En el figura 17 se observa una muestra que contiene grasa animal se observa un pico con un tiempo de retención de 10.39 que equivale al colesterol.

Figura 17 Cromatograma de una muestra exclusiva de grasa animal



En la figura 18 se muestra exclusivamente el estándar de colesterol (CHOLESTEROL SIGMA LOT. 118 F7065 GRADO F APROX. 99% FROM PORCINE LIVER)

Figura 18 Cromatograma del estándar de colesterol



RESULTADOS DE LA ENCUESTA DE PREFERENCIA DE LAS DIFERENTES MARCAS Y TIPOS DE QUESOS.

Marcas de queso	% frecuencia
Noche Buena	33.5
Los Volcanes	30
Alpura	13.5
Philadelphia	13
Esmeralda	11
Caperucita	9.5
Chalet	6
El Ciervo	5
Lincott	5
Nestle	5
Franja	3

Cuadro 26 Marca y Frecuencia

Tipo de queso	% Frecuencia
Oaxaca	61.5
Panela	46
Queso doble crema	37.5
Manchego	21.5
Chihuahua	14.5
Amarillo	12
Cottage	6
Guouda	5
Ranchero	4.5
Cotija	4
Parmesano	3.5

Cuadro 27 Tipo y Frecuencia

EXTRACTO LIPIDICO

Queso Oaxaca

Para los quesos Oaxaca el valor promedio experimental obtenido fue muy cercano al valor mencionado por las tablas del INCMNSZ (2002), a la base de datos de INFOODS (1996) y las tablas de valor nutritivo (2002). La marca CHALET con valor de grasa del 21.21% fue la que obtuvo el mayor contenido de grasa y la que tuvo menor cantidad fue la marca CIERVO con un valor de 7.94%, con respecto a lo informado en la etiqueta el valor esta entre 20 – 30%, la mayoría de las marcas excepto CHALET están por debajo de lo que menciona su respectiva etiqueta.

Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver Cuadro 28 y 29)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Oaxaca	10.78± 0.12	10.66± 0.04	12.43± 0.01	10.42± 0.02	14.46± 0.04	21.21± 0.04	7.94± 0.05	-	11.57± 0.03	-	10.63± 0.06	20- 30

Cuadro 28 Resultados Experimentales para Queso Oaxaca

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996
Oaxaca	8.30	22.0	15.33	22.0	22.0

Cuadro 29 Valores Teóricos Para Queso Oaxaca.

- Intervalo que comprende al análisis de 12 marcas de queso.
- NI = No informado
- Datos expresados en porcentaje (%)

Con respecto al origen de la grasa las marcas que deberían contener grasa de origen animal según la revista del consumidor son Los Volcanes, Alpura, Esmeralda, Caperucita, Chalet, Nestle y Franja. Sin embargo al compararlos se observo que las marcas Los volcanes, Alpura, Franja y Esmeralda presentaron grasa vegetal.

Las grasas vegetales son los ingredientes que se emplean con mayor frecuencia para adulterar quesos. Entre ellas, la de coco y la de algodón son las que se usan más a menudo. Al echar mano de estos ingredientes, los productores hacen grandes ahorros pues, por ejemplo la grasa de coco de mejor calidad cuesta menos de la mitad que la grasa de origen animal por ello, a menudo algunos fabricantes le extraen a la leche parte de la grasa para venderla en forma de crema.

A su vez sustituyen la grasa animal con grasa vegetal, con la que baja los costos y pueden vender sus productos a precios más bajos. Cuando el precio de un queso es menor al costo de la leche que en teoría se requiere para hacerlo, es lógico sospechar que no está elaborado por completo con leche de vaca.

Queso Panela

Los valores de grasa para los quesos panela estuvieron dentro de los intervalos mencionados por las tablas. Con respecto a las marcas, Nestle fue la que tuvo mayor contenido de grasa con 19.24% y la marca la Franja fue la que tuvo menor cantidad de grasa con 9.55%. Las demás marcas (Los Volcanes, Noche Buena, Alpura, Esmeralda, Caperucita, Chalet y Ciervo) están entre 10.64 y 18.16% de grasa total aproximadamente (Ver cuadros 30 y 31)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Panela	11.8± 0.06	10.64± 0.03	18.16± 0.01	14.36± 0.01	13.97± 0.05	11.26± 0.04	17.22± 0.02	-	19.24± 0.01	-	9.55± 0.03	21

Cuadro 30 Resultados Experimentales para Queso Panela

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Panela	NI	18.0	14.4	10 - 33	14.50	18.0	9.55 – 19.24

Cuadro 31 Valores Teóricos Para Queso Panela.

En promedio las etiquetas indican que los quesos panela la cantidad de grasa es de 21%, al comparar con los valores experimentales se observo que todas las marcas están por debajo de lo que mencionan sus respectivas etiquetas. Resultados expresados en (mg/100g)± DE

De acuerdo a la revista del consumidor las marcas que deberían presentar grasa animal son: Los Volcanes, Alpura, Esmeralda, Nestle y Caperucita. (Chalet y la Franja no aparecen dentro del estudio). Las que presentaron grasa vegetal fueron: Noche Buena y Ciervo. Los Volcanes, Esmeralda y Nestle Al verificarse experimentalmente se observo que presentaron grasa vegetal, éste resultado contradice lo mencionado por la revista del consumidor.

Queso Doble crema

Para los quesos doble crema las únicas tablas que indicaron la cantidad de grasa respectiva, fueron el CODEX (2000) y la del USDA (1981). El intervalo experimental fue de 25.14 a 40.56% de grasa total.

Las marca que tuvo la mayor cantidad de grasa fue Ciervo con 40.56% y la que tuvo la menor cantidad fue Caperucita con 25.14%. Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver Cuadros 32 y 33)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Queso doble crema	-	27.81± 0.20	-	31.90± 0.27	25.14± 0.18	-	40.56± 0.51	-	-	-	30.36± 0.04	50-60

Cuadro 32 Resultados Experimentales para Queso Doble Crema

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Queso doble crema	44	NI	NI	60	NI	NI	25.14 – 53.74

Cuadro 33 Valores Teóricos Para Queso Doble Crema.

Al verificar el origen de la grasa todas las marcas presentaron grasa vegetal en mayor proporción y estas coincidieron con lo que menciona la revista del consumidor, pero en sus etiquetas declaran como queso doble crema y no imitación de queso doble crema ya que los quesos que contienen grasa vegetal no deben denominarse como queso.

Las etiquetas declaran un promedio mínimo de 50% de grasa, al comparar éste valor con lo obtenido experimentalmente todos están por debajo.

Queso crema

Para los quesos crema se obtuvieron valores que fueron desde 6.13 a 30.78% de grasa total, estos valores se compararon con el CODEX, sistema mexicano de equivalentes y el USDA. En general los valores experimentales estuvieron relativamente bajos con respecto a lo reportado.

La marca que tuvo el mayor contenido de grasa fue Nestle con 30.78% y la que tuvo la menor cantidad fue Lincott con 6.13%. De acuerdo al estudio realizado por la revista del consumidor Nestle y Lincott deberían de contener solamente grasa de origen animal en su formulación, pero al verificarlo experimentalmente con su correspondiente cromatograma se observó que todas presentaron grasa vegetal, excepto la marca Lincott que presentó una mezcla de ambos tipos de grasa. Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver Cuadros 34 y 35)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Queso Crema	-	-	-	-	-	-	-	6.13± 0.001	30.78± 0.20	25.92± 0.17	-	27

Cuadro 34 Resultados Experimentales Para Queso Crema

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Queso crema	21.97	NI	36	45.89	NI	NI	6.13 – 30.78

Cuadro 35 Valores Teóricos Para Queso Crema

Las etiquetas de estas marcas declararon que solamente contenían grasa animal y no grasa vegetal, y que contenían valores promedio de 27%, de grasa los resultados experimentales mostraron que Nestle y Kraft si declararon el contenido de grasa real pero Lincott no especifico el valor real ya que el valor esta muy por debajo de lo que menciona su etiqueta.

Queso Manchego

Para los quesos tipo manchego el intervalo experimental varió entre 19.13 – 36.83% de grasa, este intervalo se comparo con las diferentes tablas de composición en donde el CODEX menciona el valor más alto con 42%, el USDA con el valor más bajo con 21.09% y las tablas del INCMNSZ con un valor de 32.5%.

Se ha observado que para los quesos Manchego en su formulación no contienen aditivos que puedan disminuir el contenido de grasa (ver anexo 4).

El intervalo experimental resulto ser relativamente bajo con respecto al CODEX y alto con respecto al USDA. Alpura fue el que tuvo mayor contenido de grasa con 36.83% y el que tuvo menor contenido fue Nestle con 19.13% de grasa.

Se estableció que las marcas Los Volcanes, Noche Buena, Alpura, Esmeralda, Chalet, Ciervo y Nestle solo deberían de contener grasa animal en su formulación. Caperucita y la Franja no se contemplaron dentro del estudio. Resultados expresados en (mg/100g) ± DE (Ver Cuadros 36 y 37)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Manchego	28.8± 0.01	23.38± 0.09	36.83± 0.22	28.10± 0.07	26.71± 0.19	28.4± 0.01	24.10± 0.21	-	19.13± 0.02	-	32.8± 0.18	30-40

Cuadro 36 Resultados Experimentales Para Queso Manchego

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Manchego	21.09	28.70	NI	30- 42	32.50	28.70	19.13 – 36.83

Cuadro 37 Valores Teóricos Para Queso Manchego

Experimentalmente se observó que las marcas Noche Buena, Alpura y Esmeralda presentaron grasa vegetal, estos resultados contradijeron a lo mencionado por la revista del consumidor. Los Volcanes, Caperucita, Chalet, Ciervo y Nestle presentaron grasa vegetal.

Estos resultados no concuerdan con lo mencionado ya que Los Volcanes, Caperucita, Chalet, Ciervo y Nestle presentaron grasa animal (butírica) y grasa vegetal. En las etiquetas respectivas de cada una de las marcas se menciona el origen de la grasa como propia de la leche (Butírica) y no como mezcla butírica y vegetal.

Con lo que respecta también a la etiquetas, en promedio mencionan valores de grasa del 40% al comparar éste valor con los resultados obtenidos experimentalmente se observó que los valores estuvieron relativamente bajos ya que el valor máximo fue de 36.83% que correspondió a la marca Alpura.

Queso Chihuahua

Para los quesos Chihuahua se obtuvieron valores que fueron del 23 a 37.08% de grasa total, estos valores se compararon con el CODEX, con las tablas del INCMNSZ, la base de datos de INFOODS y con las tablas de valor nutritivo.

En general los valores experimentales estuvieron muy cercanos a los valores que establecen las diferentes tablas mencionadas.

La marca Chalet tuvo el mayor contenido de grasa con 37.08% de grasa y Caperucita tuvo el menor contenido con 23.40% de grasa, las demás marcas tuvieron en promedio 30% de grasa aproximadamente.

Se determino que las marcas Los Volcanes, Noche Buena, Alpura, Esmeralda, Caperucita, Ciervo y Nestle solamente deben de presentar grasa butírica excepto Chalet, y La Franja (estas no se contemplaron dentro del análisis). Al verificarlo se observo que Los Volcanes, Noche Buena, Caperucita y Nestle presentaron grasa vegetal, y esto de la grasa vegetal no lo declaran en la etiqueta. Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver Cuadros 38 y 39)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Chihuahua	25.91± 0.01	33.39± 0.09	27.88± 0.07	27.24± 0.04	23.40± 0.06	37.08± 0.01	27.58± 0.04	-	33.86± 0.06	-	34.04± 0.03	30-40

Cuadro 38 Resultados Experimentales Para Queso Chihuahua

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Chihuahua	NI	29.68	30	48	37	37	23.40 – 37.08

Cuadro 39 Valores Teóricos Para Queso Chihuahua

Alpura, Esmeralda, Ciervo y la Franja presentaron grasa animal. Las etiquetas en promedio declararon valores de 30 a 40% de grasa, éstos al compararlos con los datos obtenidos experimentalmente se observo que los únicos que cumplieron con el contenido de grasa fueron Noche Buena, Chalet, Nestle y La Franja y los que no cumplieron fueron Los Volcanes, Alpura, Esmeralda, Caperucita y Ciervo.

Queso tipo americano

Para los quesos tipo americano (amarillo) el intervalo experimental estuvo entre 5.58 – 18.91% de grasa, estos valores se compararon con las diferentes tablas y en general los valores experimentales estuvieron relativamente bajos con respecto a las tablas. El CODEX (18.5% de grasa) fue el único que coincidió con el valor experimental.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Tipo Americano	-	7.62± 0.007	-	18.91± 0.16	8.90± 0.04	8.84± 0.004	13.10± 0.05	-	9.06± 0.04	5.58± 1E-3	16.07± 0.02	21-22

Cuadro 40 Resultados Experimentales Para Queso Tipo Americano

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Tipo americano	15.44	31.20	31.6	18.24	26	NI	5.58 – 18.91

Cuadro 41 Valores Teóricos Para Queso Tipo Americano

Esmeralda fue el que tuvo la mayor cantidad de grasa con 18.91% y el que tuvo menor contenido fue Kraft con 5.58%, las demás marcas tuvieron en promedio 10% de grasa.

Noche Buena, Esmeralda, Kraft y Chalet solamente deben de contener grasa animal. Nestle, Ciervo y Caperucita deben de contener grasa vegetal. Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver cuadros 40 y 41)

Los quesos tipo americano en su formulación presentan muchos aditivos como almidones modificados, caseínatos etc. (ver anexo 4). La adición de estos aditivos pueden llegar sustituir la cantidad de grasa presente en el queso.

Al verificarlo experimentalmente se observo que los quesos de marca Noche Buena, Esmeralda y Kraft presentaron grasa vegetal, Chalet presento grasa animal y Nestle que se suponía que tuviera grasa vegetal, presento grasa animal.

Las etiquetas en promedio declararon 24% en contenido de grasa, éstos al compararlos con los datos obtenidos experimentalmente se observo que todas las marcas mencionadas anteriormente no cumplen con el contenido de grasa que declara.

Queso Cottage

Para los quesos Cottage el intervalo experimental estuvo entre 4.06 y 4.68% de grasa, estos valores se compraron con las tablas y en general los valores experimentales estuvieron casi iguales a los valores que mencionaron las diferentes tablas mencionadas.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Cottage	4.68± 0.01	-	-	-	-	-	-	4.06± 0.008	-	-	-	4.0

Cuadro 42 Resultados Experimentales para Queso Cottage

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Cottage	4.0	4.0	3.88	4.0	NI	NI	4.06 – 4.68

Cuadro 43 Valores Teóricos Para Queso Cottage

La marca los volcanes fue el que tuvo la mayor cantidad de grasa con 4.68% y Lincott que fue el que presento menor cantidad de grasa con 4.06%. Los volcanes y Lincott solo deben de contener grasa animal. Resultados expresados en (mg/100g)± DE

Al verificarlo experimentalmente se observo que Los volcanes y Lincott presentaron solamente grasa butírica, se puede decir que estas dos marcas cumplieron con lo declarado en la etiqueta ya que las etiquetas declararon valores promedio de 4% de contenido de grasa. (Ver cuadros 42 y 43)

Queso Parmesano

Para el queso Parmesano se obtuvo un valor experimental de 26.08%, éste valor fue comparado con las tablas mencionadas anteriormente. Se pudo observar que el valor experimental estuvo relativamente bajo. Cabe mencionar que solamente se analizo la marca Kraft ya que ésta es la única marca que vende y distribuye este tipo de queso.

La revista del consumidor menciona que la marca Kraft solo contenía grasa animal al verificarlo experimentalmente se vio que presento tanto grasa animal y grasa vegetal. La etiqueta declaro un valor de 24% de grasa, al compararlo experimentalmente se observo que cumplió con lo declarado en la etiqueta. Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver Cuadros 44 y 45)

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Parmesano	NI	NI	30.0	45	NI	26.0	24.49

Cuadro 44 Resultados Experimentales Para Queso Parmesano

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Parmesano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24.49± 0.17	-	27

Cuadro 45 Valores Teóricos Para Queso Parmesano

Queso Ranchero

Para el queso ranchero se obtuvo un valor experimental de 9.34% y solo se comparo con las tablas del INCMNSZ ya que las otras tablas no presentaron información acerca de este tipo de queso. Las tablas del INCMNSZ informaron 19.50%. El valor experimental resulto ser bajo con respecto a la tabla mencionada anteriormente. Resultados expresados en (mg/100g)± DE

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Ranchero	-	-	-	9.34± 0.06	-	-	-	-	-	-	-	22

Cuadro 46 Resultados Experimentales Para Queso Ranchero

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Ranchero	NI	NI	NI	NI	19.50	NI	9.34

Cuadro 47 Valores Teóricos Para Queso Ranchero

Se tiene información que la marca Esmeralda solo presenta grasa butírica al verificarlo experimentalmente se vio que presento también grasa vegetal. La etiqueta declaro 22% de grasa, al compararlo experimentalmente se vio que no cumplió con lo declarado en la etiqueta ya que se obtuvo un valor de 9.34% de grasa. Cabe mencionar que solamente se analizo la marca Esmeralda ya que ésta es la única marca que vende y distribuye este tipo de queso (Ver cuadros 46 y 47).

Queso Cotija

Para el queso Cotija se obtuvo 26.08% de grasa y solo se comparó con las tablas del Sistema Mexicano de equivalentes ya que las otras tablas no tuvieron información acerca de este tipo de queso. Las tablas del Sistema Mexicano de equivalentes informaron 33.3% de grasa. El valor experimental resultó ser bajo.

Se sabe que la marca Esmeralda solo contiene grasa butírica al verificarlo experimentalmente se observó que si presentó grasa vegetal. Resultados expresados en (mg/100g)± DE

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Cotija	-	-	-	26.08± 0.14	-	-	-	-	-	-	-	30

Cuadro 48 Resultados Experimentales Para Queso Cotija

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Cotija	NI	NI	33.3	NI	NI	NI	26.08

Cuadro 49 Valores Teóricos Para Queso Cotija

La etiqueta informó 30% de grasa, al compararlo con los resultados experimentales se observó que no cumplió con lo declarado en la etiqueta. Ya que se obtuvo un valor de 26.08% de grasa.

Cabe mencionar que solamente se analizó la marca Esmeralda ya que ésta es la única marca que vende y distribuye este tipo de queso (Ver Cuadro 48 y 49).

Queso Gouda

Para los quesos Gouda el intervalo experimental fue de 10.54 a 18.43% de grasa, estos valores se compararon con las diferentes tablas mencionadas anteriormente. En general los valores experimentales estuvieron relativamente bajos, ya que en promedio las tablas informaron valores de 34% de grasa.

La marca Noche Buena fue el que tuvo la mayor cantidad de grasa con 18.43% y Caperucita que fue la que presento menor cantidad de grasa con 10.54% y para Chalet se obtuvo un valor de 14.37% La revista del consumidor informó que Noche Buena, Caperucita y Chalet contienen solo grasa animal. (Resultados expresados en (mg/100g)± DE (Ver cuadros 50 y 51)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Gouda	-	18.43± 0.07	-	-	10.54± 0.08	14.37± 0.10	-	-	-	-	-	29

Cuadro 50 Resultados Experimentales Para Queso Gouda

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Gouda	NI	NI	27.66	48	NI	27.40	10.54 – 14.37

Cuadro 51 Valores Teóricos Para Queso Gouda

Al verificarlo experimentalmente se observó que Noche Buena y Chalet presentaron grasa vegetal y Caperucita fue el que presentó grasa butírica.

Las etiquetas en promedio informan valores de 29% de grasa, por lo que no cumplieron con lo informado ya que se obtuvieron valores mucho menores a lo declarado por las etiquetas.

Cuadro 52 Contenido lípidico de los diferentes tipos y marcas de queso ^B

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Oaxaca	10.78±0.12	10.66±0.04	12.43±0.01	10.42±0.02	14.46±0.04	21.21±0.04	7.94±0.05	-	11.57±0.03	-	10.63±0.06	20- 30
Panela	11.8±0.06	10.64±0.03	18.16±0.01	14.36±0.01	13.97±0.05	11.26±0.04	17.22±0.02	-	19.24±0.01	-	9.55±0.03	21
Queso doble crema	-	27.81±0.20	-	31.90±0.27	25.14±0.18	-	40.56±0.51	-	-	-	30.36±0.04	50-60
Queso Crema	-	-	-	-	-	-	-	6.13±0.001	30.78±0.20	25.92±0.17	-	27
Manchego	28.8±0.01	23.38±0.09	36.83±0.22	28.10±0.07	26.71±0.19	28.4±0.01	24.10±0.21	-	19.13±0.02	-	32.8±0.18	30-40
Chihuahua	25.91±0.01	33.39±0.09	27.88±0.07	27.24±0.04	23.40±0.06	37.08±0.01	27.58±0.04	-	33.86±0.06	-	34.04±0.03	30-40
Tipo Americano	-	7.62±0.007	-	18.91±0.16	8.90±0.04	8.84±0.004	13.10±0.05	-	9.06±0.04	5.58±1 E-3	16.07±0.02	21-22
Cottage	4.68±0.01	-	-	-	-	-	-	4.06±0.008	-	-	-	4.0
Parmesano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26.08±0.17	-	27
Ranchero	-	-	-	9.34±0.06	-	-	-	-	-	-	-	22
Cotija	-	-	-	26.08±0.14	-	-	-	-	-	-	-	30
Gouda	-	18.43±0.07	-	-	10.54±0.08	14.37±0.10	-	-	-	-	-	29

B) Resultados expresados mg/100g de alimento ± DE

Cuadro 53 TABLA COMPARATIVA DE CONTENIDO DE LÍPIDOS (%)

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Oaxaca	8.30	22.0	15.33	NI	22.0	22.0	7.94 – 21.21
Panela	NI	18.0	14.4	10 - 33	14.50	18.0	9.55 – 19.24
Queso doble crema	44	NI	NI	60	NI	NI	25.14 – 53.74
Queso crema	21.97	NI	36	45.89	NI	NI	6.13 – 30.78
Manchego	21.09	28.70	NI	30- 42	32.50	28.70	19.13 – 36.83
Chihuahua	NI	29.68	30	48	37	37	23.40 – 37.08
Tipo americano	15.44	31.20	31.6	18.24	26	NI	5.58 – 18.91
Cottage	4.0	4.0	3.88	4.0	NI	NI	4.06 – 4.68
Parmesano	NI	NI	30.0	45	NI	26.0	24.49
Ranchero	NI	NI	NI	NI	19.50	NI	9.34
Cotija	NI	NI	33.3	NI	NI	NI	26.08
Gouda	NI	NI	27.66	48	NI	27.40	10.54 – 14.37

- Intervalo que comprende al análisis de 12 marcas de queso.
- NI = No informado
- Datos expresados en mg/100g de alimento

CONTENIDO DE COLESTEROL

Queso Oaxaca

Con respecto al contenido de colesterol para el queso Oaxaca las únicas marcas que lo presentaron fueron Esmeralda, Caperucita, Chalet y Nestle. Además para el caso de los quesos Oaxaca ninguna etiqueta mencionó el contenido de colesterol. Las tablas de valor nutritivo mencionaron que para el queso Oaxaca la cantidad de colesterol debe ser de 90 mg/100g, éste se comparo con lo obtenido experimentalmente y se observo que el intervalo fue de 1.66 a 12.87 mg/100g. Este resultado puede indicar que aunque estas tuvieran grasa butírica también podrían contener grasa vegetal por esta razón los valores de colesterol fueron relativamente bajos.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Oaxaca	ND	ND	ND	1.67± 0.009	11.13± 1.4	11.49± 1.30	ND	-	12.80± 0.15	-	ND	NI

Cuadro 54 Resultados Experimentales Para Queso Oaxaca

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Oaxaca	NI	90	90	NI	NI	85	1.66-12.87

Cuadro 55 Valores Teóricos Para Queso Oaxaca

De acuerdo a la prueba de Kruskal – Wallis se observo que entre las marcas existieron diferencias significativas. (Ver Cuadros 54 y 55)

Queso Panela

Para los quesos Panela las marcas que presentaron colesterol fueron Alpura, Caperucita y Chalet.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Panela	ND	ND	12.52±0.25	ND	22.91±0.06	14.15±0.06	ND	-	ND	-	ND	NI

Cuadro 56 Resultados Experimentales Para Queso Panela

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Panela	NI	105	NI	NI	NI	NI	12.52-22.91

Cuadro 57 Valores Teóricos Para Queso Panela

Los bajos contenidos de colesterol se puede deber a que todas las marcas analizadas se detecto grasa vegetal. Caperucita fue el que tuvo mayor contenido de colesterol con 22.91mg/100g, Alpura con 12.52 mg/100g y Chalet tuvo 14.11mg/100g fueron los que tuvieron menor cantidad de colesterol.

Ninguna etiqueta de las marcas analizadas especificó el contenido de colesterol. Las pruebas de Kruskal – Wallis y de Tukey indicaron que entre las marcas Alpura, Caperucita y Chalet existieron diferencias significativas. (Ver Cuadros 56 y 57).

Queso Doble Crema

Para los quesos doble crema, la única marca que presento colesterol fue Nestle con 8.56 mg/100g. Ninguna etiqueta especifico el contenido de colesterol. (Ver Cuadros 58 y 59).

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Queso doble crema	-	ND	-	ND	ND	-	ND	-	8.56±0.48	-	ND	NI

Cuadro 58 Resultados Experimentales Para Queso Doble Crema

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Queso doble crema	55	100	100	NI	NI	NI	ND

Cuadro 59 Valores Teóricos Para Queso Doble Crema

Queso Crema

Para el queso crema, la marca Lincott fue la única en que se detectó colesterol con 1.11mg/100g, éste valor fue muy pequeño con respecto a lo que se menciona en las tablas del USDA en que se menciona un valor de 110mg/100g.

El bajo contenido de colesterol se debió a que se obtuvo una cantidad de grasa relativamente pequeña y que esta fuera de origen vegetal. La etiqueta declaró un valor promedio de 20mg/100g al compararlo con lo que se obtuvo experimentalmente se observó que no cumplió con el contenido de colesterol. (Ver cuadros 60 y 61)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Queso Crema	-	-	-	-	-	-	-	1.11±0.21	ND	ND	-	20

Cuadro 60 Resultados Experimentales Para Queso Crema

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Queso crema	110	NI	NI	NI	NI	NI	1.11

Cuadro 61 Valores Teóricos Para Queso Crema

Queso Manchego

Para los quesos tipo Manchego las marcas en donde se detectó colesterol fueron Los Volcanes, Caperucita, Chalet, Ciervo y Nestle.

Los datos obtenidos fueron bajos con respecto a los reportados en las tablas ya que en éstas se mencionan valores que van desde el 95 hasta 120mg/100g de queso. Caperucita fue la que obtuvo el mayor contenido de colesterol con 13.70mg/100g y Nestle fue la que obtuvo el valor más bajo con 1.08mg/100g.

Los resultados indicaron que los quesos presentaron una mezcla de grasa animal y vegetal, por esta razón los valores de colesterol fueron bajos. Ninguna etiqueta analizada declaró el contenido de colesterol.

Se utilizaron las pruebas de Kruskal – Wallis y de Tukey para saber si hay diferencias significativas entre las marcas.

Los resultados de la prueba de Kruskal – Wallis indicaron que entre todas las marcas existieron diferencias significativas. Con respecto a la prueba de comparación múltiple de Dunn se observó que entre todas las marcas existieron diferencias significativas, excepto para Ciervo y Nestle. (Ver cuadros 62 y 63).

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Manchego	4.96± 0.52	ND	ND	ND	14.46± 0.93	2.72± 0.42	1.28± 0.16	-	1.08± 0.08	-	ND	NI

Cuadro 62 Resultados Experimentales Para Queso Manchego

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Manchego	105	100	NI	90-120	NI	95	1.08-13.70

Cuadro 63 Valores Teóricos Para Queso Manchego

Queso Chihuahua

Para los quesos Chihuahua las marcas que presentaron colesterol fueron Alpura, Esmeralda, Ciervo y La Franja. Los datos obtenidos fueron bajos con respecto a las tablas mencionadas ya que en éstas se mencionan valores que van de 100 hasta 105mg/100g de queso. Las marcas Esmeralda y Ciervo se detectaron contenidos de colesterol muy cercanos entre sí con 19.85mg/100g y 18.96mg/100g. Alpura fue la que presentó menor contenido con 7.39mg/100g. Ninguna etiqueta analizada declaró el contenido de colesterol.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Chihuahua	ND	ND	7.39± 0.66	19.85± 0.20	ND	ND	18.96± 0.65	-	ND	-	12.47± 0.14	NI

Cuadro 64 Resultados Experimentales Para Queso Chihuahua

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Chihuahua	NI	105	NI	100	NI	NI	7.39-18.85

Cuadro 65 Valores Teóricos Para Queso Chihuahua

Los resultados de la prueba de Kruskal – Wallis indicaron que entre las marcas existen diferencias significativas. Las pruebas de comparación múltiple de Dunn y de t de normalidad indicaron que entre todas las marcas existieron diferencias significativas. (Ver Cuadro 64 y 65)

Queso tipo americano (amarillo)

Para el queso tipo americano (amarillo) las marcas Chalet y Nestle fueron las únicas que presentaron colesterol.

Estos se compararon con las tablas, los resultados obtenidos experimentalmente fueron bajos ya que las tablas mencionaron valores que fueron desde 70 a 94mg/100g de queso. Chalet fue el que tuvo mayor contenido de colesterol con 26.06mg/100g y Nestle fue el que tuvo menor cantidad con 10.43mg/100g.

El bajo contenido de colesterol se puede deber a que todos los quesos presentaron mezclas de grasa vegetal y butírica y que en estos tipos de quesos se utilizan muchos sustitutos lácteos.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Tipo Americano	-	ND	-	ND	ND	26.13±0.70	ND	-	13.38±0.07	ND	ND	1.8

Cuadro 66 Resultados Experimentales Para Queso Tipo Americano

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Tipo americano	94	NI	NI	60-70	NI	94	10.43-26.06

Cuadro 67 Valores Teóricos Para Queso Tipo Americano

Chalet fue el único que declaró el contenido de colesterol con 1.8mg/100g, al compararlo con lo que se obtuvo experimentalmente se observó que no cumple con lo declarado. La prueba de Kruskal – Wallis indicó que entre las marcas existieron diferencias significativas, la prueba de comparación múltiple de Dunn y la t de normalidad indicaron que existieron diferencias significativas. (Ver Cuadros 66 y 67).

Queso Cottage

Para el queso Cottage, Los Volcanes y Lincott no presentaron colesterol, posteriormente debido a que tienen muy poca cantidad de grasa y adicionalmente presentaron grasa vegetal. Ninguna etiqueta analizada declaró el contenido de colesterol. (Ver Cuadros 68 y 69)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Cottage	ND	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	NI

Cuadro 68 Resultados Experimentales Para Queso Cottage

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Cottage	2	4	4	2	NI	4	ND

Cuadro 69 Valores Teóricos Para Queso Cottage

Queso Parmesano

Para el queso Parmesano la marca Kraft, la única marca que vende y distribuye presentó un bajo contenido de colesterol, su valor fue de 9.76mg/100g, éste valor se comparó con las tablas y resultó ser muy alto con respecto al valor obtenido. Esto se debió a que el queso parmesano analizado presentó grasa vegetal y grasa animal. (Ver Cuadros 70 y 71).

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Parmesano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.76± 0.069	-	25

Cuadro 70 Resultados Experimentales Para Queso Parmesano

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Parmesano	NI	68	68	60-80	NI	68	9.76

Cuadro 71 Valores Teóricos Para Queso Parmesano

Queso Ranchero

Para el queso Ranchero, la marca Esmeralda, que es la única que vende y distribuye, presento solo grasa vegetal, por esta razón no presento colesterol. Ninguna de las tablas consultadas menciona valores de colesterol para este tipo de queso. La etiqueta no declara valor de contenido de colesterol. (Ver Cuadros 72 y 73).

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Ranchero	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	NI

Cuadro 72 Resultados Experimentales Para Queso Ranchero

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Ranchero	NI	NI	NI	NI	NI	NI	ND

Cuadro 73 Valores Teóricos Para Queso Ranchero

Queso Cotija

Para el queso Cotija, el único que se encontró fue la marca Esmeralda. Solo presento grasa vegetal por esta razón no se detecto colesterol. Las tablas mencionan valores de colesterol de 85mg/100g. La etiqueta no declara valor de contenido de colesterol. (Ver Cuadros 74 y 75)

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Cotija	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	NI

Cuadro 74 Resultados Experimentales Para Queso Cotija

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Cotija	NI	85	85	NI	NI	85	ND

Cuadro 75 Valores Teóricos Para Queso Cotija

Queso Gouda

Para el queso Gouda se analizaron las marcas Noche Buena, Caperucita y Chalet. Todas estas presentaron grasa vegetal y grasa de origen animal. Solo la marca Caperucita presento colesterol con valor de 42.29mg/100g, se comparo con las diferentes tablas, en las que se mencionan valores de colesterol de 114mg/100g. El valor experimental resulto ser bajo con respecto a las tablas. Las etiquetas no declararon el valor de contenido de colesterol respectivo. (Ver Cuadros 76 y 77).

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Gouda	-	ND	-	-	42.29± 0.26	ND	-	-	-	-	-	NI

Cuadro 76 Resultados Experimentales Para Queso Gouda

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Gouda	NI	114	NI	NI	NI	114	42.29

Cuadro 77 Valores Teóricos Para Queso Gouda

Cuadro 78 Contenido de colesterol de los diferentes tipos y marcas de quesos.

Tipo de queso	Los Volcanes	Noche Buena	Alpura	Esmeralda	Caperucita	Chalet	Ciervo	Lincott	Nestle	Kraft	Franja	Informado en la etiqueta
Oaxaca	ND	ND	ND	1.67±0.009	11.13±1.4	11.49±1.30	ND	-	12.80±0.15	-	ND	NI
Panela	ND	ND	12.52±0.25	ND	22.91±0.06	14.15±0.06	ND	-	ND	-	ND	NI
Queso doble crema	-	ND	-	ND	ND	-	ND	-	8.56±0.48	-	ND	NI
Queso Crema	-	-	-	-	-	-	-	1.11±0.21	ND	ND	-	20
Manchego	4.96±0.52	ND	ND	ND	14.46±0.93	2.72±0.42	1.28±0.16	-	1.08±0.08	-	ND	NI
Chihuahua	ND	ND	7.39±0.66	19.85±0.20	ND	ND	18.96±0.65	-	ND	-	12.47±0.14	NI
Tipo Americano	-	ND	-	ND	ND	26.13±0.70	ND	-	13.38±0.07	ND	ND	1.8
Cottage	ND	-	-	-	-	-	-	ND	-	-	-	NI
Parmesano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.76±0.069	-	25
Ranchero	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	NI
Cotija	-	-	-	ND	-	-	-	-	-	-	-	NI
Gouda	-	ND	-	-	42.29±0.26	ND	-	-	-	-	-	NI

B) Resultados expresados en (mg/100g) ± DE

NI = No informado.

ND = No detectable

Cuadro 79 Cuadro de contenido de colesterol

TIPO DE QUESO	USDA 1981	VALOR NUTRITIVO 2002	SISTEMA MEXICANO DE EQUIVALENTES 2001	CODEX 2000	TABLAS INCMNSZ 2002	BASE DE DATOS INFOODS 1996	EXPERIMENTAL INTERVALO
Oaxaca	NI	90	90	NI	NI	85	1.66-12.87
Panela	NI	105	NI	NI	NI	NI	12.52-22.91
Queso doble crema	55	100	100	NI	NI	NI	ND
Queso crema	110	NI	NI	NI	NI	NI	1.11
Manchego	105	100	NI	90-120	NI	95	1.08-13.70
Chihuahua	NI	105	NI	100	NI	NI	7.39-19.85
Tipo americano	94	NI	NI	60-70	NI	94	10.43-26.06
Cottage	2	4	4	2	NI	4	ND
Parmesano	NI	68	68	60-80	NI	68	9.76
Ranchero	NI	NI	NI	NI	NI	NI	ND
Cotija	NI	85	85	NI	NI	85	ND
Gouda	NI	114	NI	NI	NI	114	42.29

- NI = No informado
- ND = No detectable
- (mg/100g de queso)

RESULTADOS

- El valor promedio del contenido de colesterol en quesos Oaxaca es de 9.27mg/100 de queso, la marca Nestle es el que contiene el mayor contenido y la marca Esmeralda es el que tiene el menor contenido.
- Para los quesos Panela el contenido promedio de colesterol es de 16.52mg/100g de queso, la marca que presenta el mayor contenido de colesterol es Caperucita y el que tiene el menor contenido es la marca Alpura.
- Para el queso Doble Crema solamente la marca Nestle presento colesterol con 8.46mg/100g de alimento.
- Para los quesos Crema de las tres marcas utilizadas solamente Lincott fue la que presento colesterol con 1.11mg/100g de queso.
- Para los quesos Manchego el valor promedio del contenido de colesterol es de 4.9mg/100 de queso. La marca Caperucita es la que presenta el mayor contenido de colesterol y Nestle es la que presenta el menor contenido
- Para los quesos Chihuahua el valor promedio del contenido de colesterol es de 14.7mg/100g de queso. La marcas Esmeralda y Ciervo son las que presentan el mayor contenido de colesterol con 19.85mg/100g y 18.96mg/100g respectivamente. La marca Alpura fue la que presento el menor contenido de colesterol con 7.39mg/100g.
- Para los quesos tipo americano (amarillos) la únicas marcas que presentan colesterol son Chalet y Nestle con 26.13mg/100g y 13.38mg/100g respectivamente.
- Los quesos Cottage no presentaron colesterol.
- Para los quesos Parmesano solamente la marca Kraft presento colesterol con un valor de 9.76mg/100g.
- Los quesos Ranchero no presentaron colesterol.
- Los quesos Cotija no presentaron colesterol.
- Para los quesos Gouda solamente la marca Caperucita presento colesterol con un a valor de 42.29mg/100g.

CONCLUSIONES

1. La cromatografía líquida de alta resolución es un buen método para la cuantificación de colesterol, pero también tiene desventajas ya que se emplean ciertos reactivos como el cloruro de benzoílo y la piridina que pueden resultar algo tóxicos si no se manejan con cuidado. También este método puede ayudar a determinar el origen de la grasa ya que determina esteroides vegetales y colesterol que es de origen animal.
2. Con respecto a la validación el método utilizado de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) cumplió con la mayoría de los requerimientos particulares para la cuantificación de colesterol.
3. El método tiene ciertas desventajas como por ejemplo en la utilización de ciertos reactivos como el cloruro de benzoilo que puede llegar a dañar o inutilizar la columna cromatografica.
4. Se demostró que la mayoría de los quesos analizados presentaron grasa vegetal y por consiguiente bajo contenido de colesterol.
5. Se observó que en casi todas las etiquetas de las diferentes marcas de queso no declararon el contenido real de grasa y el origen de la grasa.
6. Para los quesos Oaxaca el que tuvo mayor contenido de colesterol fue la marca Nestle.
7. Para los quesos Panela el que tuvo el mayor contenido de colesterol fue la marca Caperucita
8. Para los quesos Doble Crema el que tuvo el mayor contenido de colesterol fue la marca Nestle
9. Para los quesos Crema la marca Lincott fue la única que presentó colesterol pero con un bajo contenido
10. Para los quesos Manchego la marca en la cual se detectó el mayor contenido de colesterol fue Caperucita y la que tuvo el menor contenido de colesterol fue la marca Ciervo.
11. Para los quesos Chihuahua la marcas que presentaron el mayor contenido de colesterol fueron Esmeralda y Ciervo.
12. Para los quesos tipo americano la marca que presentó el mayor contenido de colesterol fue Chalet con respecto a Nestle que fue la que presentó el menor contenido de colesterol.

13. En quesos Cottage no se detectó colesterol, esto se debe a que este tipo de queso contiene muy poca grasa.
14. Para el queso Parmesano de la marca Kraft se detectó una cantidad relativamente pequeña de colesterol con respecto a lo informado en las tablas y etiqueta correspondiente.
15. Para los quesos Ranchero y Cotija no se detectó colesterol. Para el queso Gouda la única marca en que se detectó colesterol fue Caperucita con respecto a las otras marcas que no presentaron.

Como conclusiones finales se puede decir que:

- Que todos los quesos analizados de los diferentes tipos y marcas presentaron bajos contenidos de colesterol esto se puede deber a que las industrias ocupan grasa vegetal como sustituto ya que el costo de ésta es menor y da mayores rendimientos.
- Todas las etiquetas de todas las marcas analizadas no declararon el contenido de colesterol.

BIBLIOGRAFIA

1. Bourges H. 1984, Ateroesclerosis, colesterol y dieta. Cuadernos de Nutrición. 7(5) ,17-32.
2. Bender, G. 1987. Métodos Instrumentales de análisis en química clínica.
Editorial ACRIBIA, Zaragoza España. Pág. 187-209.
3. Devlin T. 1989, Bioquímica 2^{da} edición, Vol.1, Editorial. Reverté S. A. Barcelona. España Pág. 508-509.
4. Bourges H.1984, Ateroesclerosis, colesterol y dieta. Cuadernos de nutrición.7 (6) ,17-32.
5. Bourges H.1990, Ateroesclerosis, colesterol y dieta. Cuadernos de nutrición.7 (6) ,17-32.
6. Casanueva E. Kaufer M. Martha, 1994, Nutriología Médica. Editorial Panamericana Pág. 234-254.
7. Tietz, N. 1985. Guía Clínica de Pruebas de Laboratorio. Editorial. Panamericana, Argentina, Pág. 128-198.
8. Belitz – Grosch, 1992, Química de los alimentos. Editorial. ACRIBIA Zaragoza España, 2^a edición, Pág. 248 – 253.
9. Norma Oficial Mexicana Nom-121-Ssa1-1994, Bienes Y Servicios. Quesos: Frescos, Madurados Y Procesados.
10. Spreer Dr.1992. Lactologia industrial. Editorial. ACRIBIA. Pág.356-360
11. CODEX STAN 1-1985, Rev. 1-1991; *Codex Alimentarius*, Volumen 1A
12. Egan, H. Et. Al. 1987. Análisis Químico de alimentos de Pearson, CECSA, México, Pág. 61-64, 405.
13. Pearson, D. 1987. Técnicas de laboratorio para análisis de alimentos. Editorial. ACRIBIA. España, Pág. 39-41.
14. McMurry PM, Connor E.W, Lin SD, Cerqueira TM, Connor LS. (1985) The Absorption of Cholesterol and the sterol balance in the Tarahumara Indians of Mexico fed Cholesterol free and high cholesterol diets. Am. Journal. Clin. Nut. 41:1289 – 1298.

15. Down's- Catering, 1993, Enciclopedia de ciencia y tecnología de alimentos y Nutrición vol.2 Syndrome Academic Press Harcourt Brace Jovanovich, publisher. London San Diego New York. Pág. 925-935.
16. Hubbard, W.D. et al. 1977 Comparison of various methods for the Extraction of total lipids, fatty acids, Cholesterol and other sterols from Food products. J. Amer Oil Chem. Soc. 54, 81 – 83.
17. Newkirk, D. Sheppard, A. 1981. Oils and Fats. Assoc. Of Anal. Chem., 64(1), pp 54.
18. Cobband Howard. Et al. 1994. Determinants of plasma cholesterol responsiveness to diet. British Journal of Nutrition. 71,271-282.
19. Punwar, J. 1976. Collaborative study for the comparison of two methods for the determination of total cholesterol in multicomponent foods. Journal of the AOAC, Vol.59, No.1
20. Wiebe D, 1993. Cholesterol – model system to relate medical needs with analytical performance. Clin. Chem, 39/7, 1504-1513.
21. Nourooz, J. 1988. Cholesterol oxides in Swedish foods and food ingredients: butter and cheese. J AOAC, vol. 65 No. 10
22. Cobband Howard. Et al. 1994. Determinants of plasma cholesterol responsiveness to diet. British Journal of Nutrition. 71,271-282.
23. Punwar, J. 1976. Collaborative study for the comparison of two methods for the determination of total cholesterol in multicomponent foods. Journal of the AOAC, Vol.59, No.1
24. Punwar, J. 1975. Gas – liquid chromatographic determination of total cholesterol in multicomponent foods. J AOAC, vol. 58, No. 4, 804-810.
25. Naeemi, ED. 1995. Rapid and simple method for determination of cholesterol in processed food. J AOAC, Nov-Dec; 78(6): 1522-5.
26. Nestel, P. 1996, Fats for the food industry: implications for cholesterol-lower. Lipids. Mar; 31 Suppl:S65-9.
27. Fenton, M. Chromatographic separation of cholesterol in foods. J Chromatogr. Oct 30; 624(1-2): 369-88
28. Adda, J., Gripon, J. C. y L. Vassal. 1982. "The Chemistry of Flavour and Texture Generation in Cheese". Food Chem. 9(1/ 2):115-129.

29. Aguilera, J. M. y H. G. Kessler. 1989. "Properties of mixed and filled-type dairy gels". *J. Food Sci.* 54(5):1213.
30. De Kanterewicz, R. J., Chirife, J. y E. A. de Lagarde. 1985. "Preservation of Concentrated Cheese Whey by Combined Factors". *J. Food Sci.* 50:1629-1632
31. Morr, C. V. 1975. "Chemistry of Milk Proteins in Food Processing". Symposium: Milk Proteins in Dairy and Food Processing. *J. Dairy Sci.* 58(7):977-984.
32. Evans, E. W. 1986. "Interactions of Milk Components in Food Systems". Capítulo 14 en Birch, G. G. y M. G. Lindley (Editores): INTERACTIONS OF FOOD COMPONENTS. Elsevier Applied Science Publishers, Londres, Inglaterra.
33. Bylund, G. 1995. "The Chemistry of Milk". Capítulo 2 en Dairy processing handbook. Tetra Pak Processing Systems AB, Lund, Suecia.
34. Lucey, J. A. y P. F. Fox. 1993. "Importance of Calcium and Phosphate in Cheese Manufacture: A Review". *J. Dairy Sci.* 76(6):1714-1724.
35. Emmons, D. B., Ernstrom, C. A., Lacroix, C. y P. Verret. 1991. "Yield Formulae". En: FACTORS AFFECTING THE YIELD OF CHEESE. Monografía No. 9301. International Dairy Federation. Bruselas, Bélgica.
36. Lawrence, R. C., Gilles, J. e I. K. Creamer. 1983. "The Relationship Between Cheese Texture and Flavour". *N.Z. J. Dairy Sci. and Technol.* 18(3):175-190.
37. Callanan, T. 1991. "Recovery of Milk Constituents in Cheesemaking (Relation to Process Control)". Capítulo 4 en: FACTORS AFFECTING THE YIELD OF CHEESE. Monografía No. 9301. International Dairy Federation. Bruselas, Bélgica.
38. Klostermeyer, H. y E. H. Reimerdes. 1977. "Heat Induced Crosslinks in Milk Proteins and Consequences for the Milk System". En Friedman, M. (Editor): PROTEIN CROSSLINKING. Nutritional and Medical Consequences. Plenum Press, New York, NY, EUA.
39. Zottola, E. A. y L. B. Smith. 1991. "Pathogens in cheese". *Food Microbiol.* 8:171-182.

40. Geurts, T. J., Walstra, P. y H. Mulder. 1974. "Water binding to milk protein, with particular reference to cheese". *Neth. Milk Dairy J.* 28:46-72.
41. Kilara, A. 1994. "Whey Protein Functionality". Capítulo 11 en Hettiarachchy, N. S. y G. R. Ziegler (Editores): *Protein Functionality In Food Systems*. Marcel Dekker, Inc., New York, Ny, Eua
42. Marcos, A. 1993. "Water Activity in Cheese in Relation to Composition, Stability and Safety". Capítulo 11 en P. F. Fox (Editor): *CHEESE: Chemistry, Physics And Microbiology*. Volume 1. General Aspects. 2a. Edición. Chapman & Hall, London.
43. Rasmussen, L. K., Højrup, P. y T. E. Petersen. 1994. "Disulfide Arrangement in Bovine Caseins: Localization of Intrachain Disulphide Bridges in Monomers of κ - and α_{s2} -Casein from Bovine Milk". *J. Dairy Res.* 61:485-493.
44. Dalgleish, D. G. 1997. "Structure-Function Relationships of Caseins". Capítulo 7 en Damodaran, S. y A. Paraf (Editores): *FOOD PROTEINS AND THEIR APPLICATIONS*. Marcel Dekker, Inc., New York, NY, EUA.
45. Introducción a la HPLC. Capítulo 12 Validación de métodos. Camaleón editores. Costa Rica 1998. Pág. 302-328
46. Taylor, John K. *Validation of Analytical Methods*. Analytical Chemistry, Vol. 55, No. 6 (05, 1993).
47. Finocchiaro Terry. 1984. Identification and Quantification of Cholesterol Oxides in Grated Cheese and Bleached Butteroil. *JAOCS*, Vol. 61 No. 5 (May. 1984)
48. Cobband. Margaret, 1994. Determinants of Plasma Cholesterol Responsive to Diet. *British Journal Of Nutrition*. Vol. 71 Pág. 271-282
49. Nightingale, Zachary. 1999, Purification of Fatty Acid Methyl Esters by HPLC. *Journal of Chromatography B*, No. 732, Pág. 495-500.
50. Contarini, Giovana. 2002, Quantitative analysis of sterols in dairy products: experiences and remarks. *International Dairy Journal*. No. 12, Pág. 573-578.

51. Richardson, R.K. 1993. Determination of cholesterol in Dairy products by whole sample saponification. *International Dairy Journal*. No. 13, Pág. 590-610.
52. Owen R. Fennema. 1993, *Química de los alimentos*, Edit. ACRIBIA, Zaragoza España Pág. 889-910.
53. Donald Voet. 1992, *Bioquímica*. Edit. OMEGA, Barcelona, España. Pág. 300, 689-697.
54. Amito, Jean. 1992, *Ciencia y Tecnología de la Leche (Principios y Aplicaciones)*. Edit. ACRIBIA, España. Pág. 1-20.
55. Park Y.W. 1999, Cholesterol contents of U.S and imported goat milk cheeses as quantified by different colometric methods. *Small Ruminant Research*. No. 32 , Pág. 77-82.
56. Xiao-Hua Xu. 2002. Quantification of Cholesterol in Foods Using Non-Aqueous Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography B*. No. 768. Pág. 369-373.
57. Marshall Mary, 1989. Problems in Estimating Amounts of Food Cholesterol. *Journal of Food Composition and Analysis*. No. 2, Pág. 228-237.
58. Razzazi – Fazeli, 2000. Determination Of Cholesterol Oxides in Processed Food Using HPLC – Mass Spectrometry With Atmospheric Pressure Chemical Ionization. *Journal of Chromatography A*, No. 896, Pág. 321-324.
59. Wiebe A. Donald, 1993. Cholesterol a Model System to Relate Medical Needs With Analytical Performance. *CLIN. CHEM*. No. 39. Vol. 7, Pág. 1504-1513.
60. Piironen, V. 2002, New Data For Cholesterol Contents in Meat, Fish, Milk, Eggs and Their Products Consumed in Finland. *Journal Of Food Composition and Analysis*. No. 15 Pág. 705-715.
61. Al – Hasani, S.M 1993, Rapid Determination of Cholesterol in Single And Multicomponent Prepared Foods. *Journal AOAC Int*. Vol. 76, No. 4, Pág. 902-906.
62. Lee Shin. 1985, Cholesterol Oxides in Commercial dry Egg Products: Quantitation. *Journal of Food Science*. Vol.50 Pág. 229-231.

63. Paterson Eva. 1997, Simplified Method for the Simultaneous Gas Chromatographic Determination of Fatty Acid Composition and Cholesterol in Food. *Lebensm. Wiss U. Technol.* Vol.30, Pág. 202-209
64. Bragagnolo N. Simultaneous Determination of Total Lipid, Cholesterol and Fatty Acids in Meat and Backfat of Suckling and Adult Pigs. *Food Chemistry* No. 79. Pág. 255-260.
65. Drake M. 1999, Fluorometric method for the enzymatic Determination of Cholesterol. *Journal Biochem. Biophys. Methods.* No. 38, Pág.43-52.
66. Guía para Validación de métodos de ensayo, Organismo Argentino de Acreditación OAA 2003.
67. Norma ISO/ IEC 17025. 1999.
68. Levin, I. R. 1988, Estadística para Administradores, 2ª Edición, Ed. Prentice may, Estado de México. Pág. 200-210
69. Miller N.J., Miller C. J. 2002 Estadística y Quimiometría para Química Analítica, 4ª Edición, Ed. Pearson Educación, Madrid, Pág. 90-120.
70. Norma IRAM 32. 1997, Para validación de métodos de ensayo. Argentina.
71. Douglas C. Montgomery. 2000, Estadística para Ingenieros. Edit. Mc. Graw. Hill. México. Pág. 350-370.
72. IUPAC, Limit of Detection Spectrochim. 1978.
73. M De Chávez, Miriam, Hernández, M. Roldan J.A. 1992, Valor Nutritivo de los Alimentos de Mayor Consumo en México. CONAL., INNSZ., Solidaridad.
74. Woot-Tsuen Wu Leung. Flores, Marina. 1966. Tabla de composición de alimentos para uso en América Latina. Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Editorial Interamericana, S.A. México, Argentina, España.
75. Trejo Delambre Bertha. 1986, Los Quesos en México Fabricación, Contaminación, Adulteración y consumo. Cuadernos de Nutrición. Vol. 9 No. 4. Pág. 3-13.
76. Revista del Consumidor. 2000, Calidad de Quesos. No. 78. Pág.

77. NOM – 051-SCFI – 1994. Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas.

ANEXO 1
ENCUESTA

Encuesta para consumidores de queso

Marque con una X la opción que prefiera, **puede marcar más de una opción.**

Sexo () Masculino () Femenino Edad_____

1. ¿Consume usted queso? () Sí No ()

2. ¿Qué tipo de queso consume?

() Crema () Jocoque () Panela () Gouda () Mozzarella () Otro

() Chihuahua () Oaxaca () Americano () Brie () Manchego

() Provolone () Cotagge () Suizo () Amer.Liq () De cabra

() Roquefort () Parmesano () Cotija () Edam () Ranchero

2. ¿Qué marca de quesos es la que compra usualmente?

() Noche Buena () Sargento () Lincott () Mariposa () Otra

() Kraft () La Franja () Los Volcanes () Nestle

() El Ciervo () Caperucita () Cocina Aranjuez () Rosenborg

() La sierra () Chalet () Esmeralda () Alpura

3. ¿Con que frecuencia se consume queso en su hogar?

() Diario () Varias veces por semana () Rara vez por semana () Ninguna

4. Quien consume en su casa el queso que usted compra

() Niños () Esposa () Padres () Todos () Otros

5. ¿Cuánto gasta usted en la semana en la compra de queso?

() 10-50 pesos () 50-100 pesos () 100-200 pesos () Más de 200 pesos

6. ¿En donde compra usted sus quesos habitualmente

() Tienda () Centro Comercial () Mercado () Tianguis () No sabe

ANEXO 2

Resultados de la encuesta para consumidores de queso.

- Participaron 200 personas
- Las encuestas se realizaron en la zona del Distrito Federal

Cuadro 80 Informe de las marcas de queso por numero de personas y frecuencia

Marcas de queso	# de personas	% frecuencia
Noche Buena	67	33.5
Los Volcanes	59	30
Alpura	27	13.5
Philadelphia	26	13
Esmeralda	22	11
Caperucita	19	9.5
Chalet	12	6
El Ciervo	10	5
Lincott	10	5
Nestle	10	5
Franja	6	3
La Cocina	1	0.5
La Sierra	1	0.5
Mariposa	1	0.5
Rosenborg	1	0.5
Sargento	1	0.5
Aranjuez	0	0

Cuadro 81 Frecuencia de consumo en tipos de Queso

Tipo de queso	# de encuesta	% Frecuencia
Oaxaca	123	61.5
Panela	92	46
Queso doble crema	75	37.5
Manchego	43	21.5
Chihuahua	29	14.5
Amarillo	24	12
Cottage	12	6
Guouda	10	5
Ranchero	9	4.5
Cotija	8	4
Parmesano	7	3.5
Brie	4	2
Mozzarella	4	2
Suizo	4	2
Provolone	2	1
Amarillo liquido	2	1
Queso de cabra	1	0.5

Figura 19 Frecuencia de consumo de tipos de queso

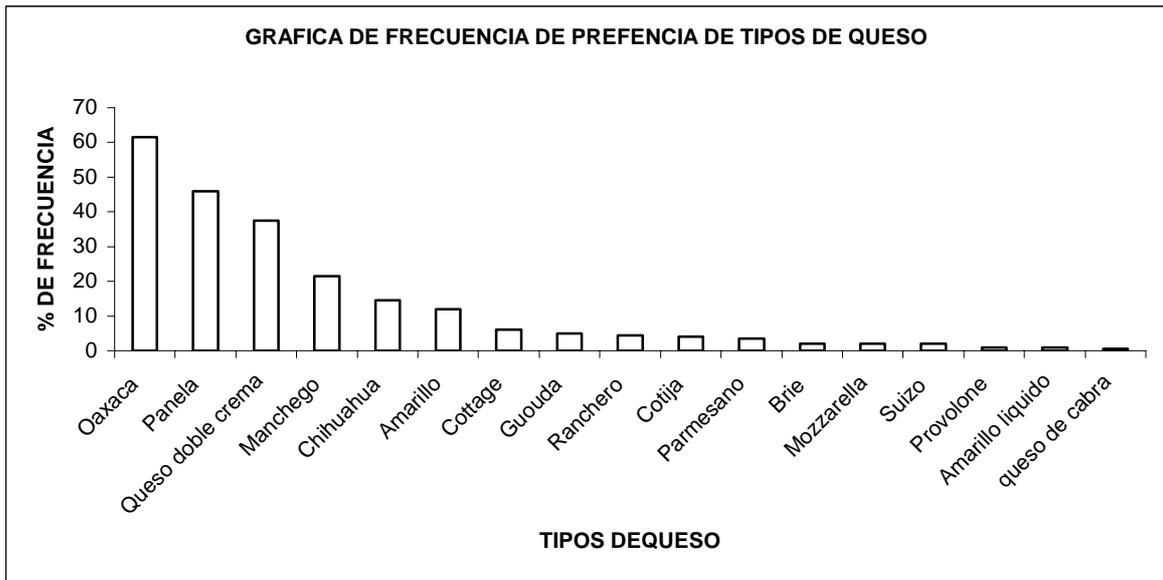
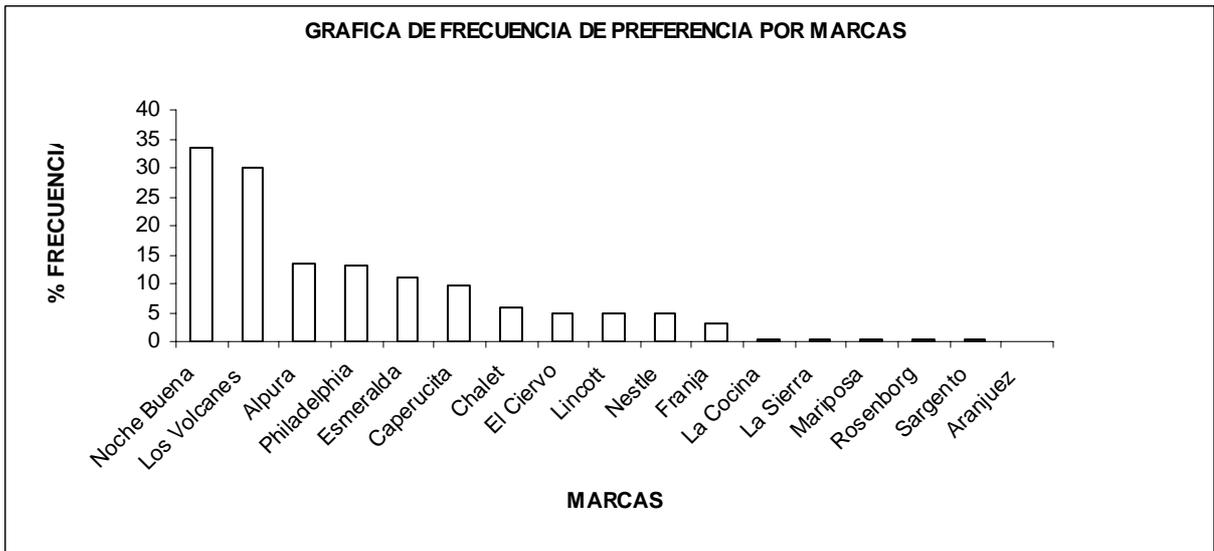


Figura 20 Frecuencia de preferencia de consumo de queso por marcas



ANEXO 3

INGREDIENTES DE LOS DIFERENTES TIPOS DE QUESOS ANALIZADOS

Queso tipo americano *NESTLE*: Mezcla de quesos madurados, grasa vegetal, suero en polvo caseinato de sodio, leche en polvo descremada, citrato de sodio, caseína, sal yodatada, ácido sórbico, ácido cítrico, y colorantes (tartrazina y amarillo ocaso). Grasa mínima 24%.

Queso tipo americano *KRAFT*: Queso madurado tipo (Cheddar, y/o Edam y/o Egmont y/o Gouda[leche, cultivos lácticos, sal y enzimas], agua crema pasteurizada de vaca, suero de queso, citrato de sodio, concentrado de proteína de leche, concentrado de proteína de suero, leche descremada en polvo, sal yodatada, grenetina, conservadores y colorantes artificiales. Grasa butírica mínimo 20%.

Queso tipo americano *EL CIERVO*: Quesos madurados, aceite comestible, concentrado de proteína láctea, leche en polvo, sales fundentes, almidón modificado, agua adicionada, sal refinada, colorante natural y sorbato de potasio. Grasa mínima 30%.

Queso tipo americano *CHALET*: Quesos madurados, (leche entera pasteurizada de vaca, cultivo láctico, sal y enzimas), agua, suero de leche, crema, citrato de sodio, sal, ácido sórbico y colorante natural. Grasa mínima 4.5%.

Queso tipo americano *ESMERALDA*: Quesos madurados, mantequilla pura de vaca, leche en polvo, sales fundentes, sal refinada y yodatada, colorante natural y sorbato de potasio. Grasa mínima 30%.

Queso tipo americano *CAPERUCITA*: Queso natural madurado, (leche entera y pasteurizada de vaca, cloruro de calcio, cuajo, cultivo lácteo y sal yodatada), grasa butírica y grasa vegetal, caseinato de sodio, sales fundentes, queso modificado con enzimas, sorbato de potasio y colorante natural. Grasa mínima 24%.

Queso tipo americano *NOCHE BUENA*: Mezcla de quesos (leche entera pasteurizada de vaca, sal, enzimas y cultivo láctico), agua, citrato de sodio, sal, ácido cítrico, ácido sórbico y colorante natural. Grasa mínima 20%.

Queso tipo americano *FRANJA*: Mezcla de quesos (leche entera pasteurizada de vaca, sal, y enzimas y cultivo láctico), agua, grasa vegetal, suero de leche, almidón modificado comestible, caseína, citrato de sodio, sal, queso modificado enzimáticamente, ácido sórbico y colorante natural. Grasa mínima 19%.

Queso crema *NESTLE*: Crema de leche, proteína concentrada en polvo, ácido láctico, sal yodatada, citrato de sodio, bióxido de titanio, harina de algarrobo, sorbato de potasio, fosfato disódico, y saborizante artificial. Grasa mínima 34%.

Queso crema *LINCOTT*: Leche, crema pasteurizada, leche descremada, cultivo de queso, sal y estabilizadores. Grasa mínima 20%. Colesterol 20 mg.

Queso Cottage *LINCOTT*: Leche descremada de vaca, crema, sal yodatada, sorbato de potasio, estabilizadores, cultivo láctico y cuajo. Grasa mínima 4%.

Queso Cottage *LOS VOLCANES*: Leche descremada de vaca, crema pasteurizada de vaca, sal comestible, ácido fosfórico, y glucona delta lactona. Grasa mínima 4%.

Queso Ranchero *ESMERALDA*: Leche entera pasteurizada de vaca, concentrado de proteína de vaca, sal refinada yodatada, cloruro de calcio y cuajo. Grasa mínima 22%.

Queso Cotija *ESMERALDA*: Leche entera pasteurizada de vaca, sal refinada y cuajo. Grasa mínima 30%.

Queso Manchego *CHALET*: Leche entera pasteurizada de vaca, cultivo láctico, sal, enzimas, nitrato de sodio.

Queso Gouda *CHALET*: Leche entera pasteurizada de vaca, cultivos lácticos, cloruro de calcio y cuajo.

Queso Panela *CHALET*: Leche entera pasteurizada de vaca, sal, espesantes, cloruro de calcio y cuajo.

Queso Oaxaca *CHALET*: Leche entera pasteurizada de vaca, cultivos lácticos, sal, cloruro de calcio y cuajo.

Queso Gouda *NOCHE BUENA*: Leche entera pasteurizada de vaca, cultivos lácticos, cuajo y sal. Grasa mínima 29%.

Queso Gouda *CAPERUCITA*: Leche entera pasteurizada de vaca, cloruro de calcio, cuajo, cultivo láctico y sal yodatada. Grasa mínima 29%.

Queso Manchego *FRANJA*: Leche semidescremada de vaca, agua, cultivos lácticos, cuajo y sal. Grasa mínima 29%.

Queso Parmesano *KRAFT*: Leche semidescremada de vaca, cultivo de queso, sal, enzimas, sorbato de potasio. Grasa mínima 30%.

Queso Manchego *ALPURA*: Leche entera pasteurizada de vaca, cultivo láctico, sal yodatada, cloruro de calcio y cuajo. Grasa mínima 30%.

ANEXO 4

CONSUMO PER CAPITA DE LACTEOS Y PROYECCIONES AL 2005

(1990-2005)

KILOGRAMOS POR PERSONA

	LECHE LIQUIDA	MANTEQUILLA	QUESO
1990	37.2	0.4	1.3
1991	37.0	0.4	1.4
1992	36.7	0.5	1.6
1993	36.5	0.4	1.7
1994	36.3	0.4	1.7
1995	36.3	0.3	1.4
1996	36.3	0.3	1.4
1997	37.1	0.4	1.4
1998	36.2	0.4	1.6
1999	37.3	0.5	1.7
2000	38.5	0.4	1.8
2001	39.5	0.4	1.8
2002	39.5	0.4	1.8
2003	39.6	0.4	1.8
2004	39.8	0.4	1.9
2005	39.9	0.4	1.9

FUENTE: FAO, FAPRI

ELABORACION: PROYECTO SICA-BIRF/MAG