

*Marmo, Lucía Milagros*

***Estudio de la relación entre composición fisicoquímica y presencia de la Listeria Monocytogenes en queso blando***

*Facultad/Área: Facultad de Tecnologías e Innovación para el Desarrollo*

*Carrera: Licenciatura en Industrias Alimentarias*

*Año: 2022*

Licencia:  <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/> (CC BY-NC 4.0)

Cita recomendada: Marmo, L.M. (2022). *Estudio de la relación entre composición fisicoquímica y presencia de Listeria Monocytogenes en queso blando*. Rafaela: Universidad Nacional de Rafaela, Facultad de Tecnologías e Innovación para el Desarrollo. RID UNRaf Repositorio Institucional Digital UNRaf



# Universidad Nacional de Rafaela

Tesina presentada como requisito para obtener el grado de  
Licenciada en Industrias Alimentarias

“Estudio de la relación entre composición  
físicoquímica y presencia de *Listeria*  
*monocytogenes* en queso blando”

Estudiante: Lucía Marmo

Director: Lic. Sonia Campos

Codirector: Dra. Luciana Costabel

Lugar de realización: Laboratorio de Calidad de leche y Agroindustria (LCLA), INTA EEA Rafaela.

Año: 2021

## AGRADECIMIENTOS

A través de estas líneas deseo expresar mi más sincero agradecimiento a las instituciones que posibilitaron la ejecución de la presente tesina: a la Universidad Nacional de Rafaela por haberme permitido realizar mis estudios para la obtención del título “Licenciada en Industrias Alimentarias” y por el financiamiento otorgado y al INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) quien me permitió hacer uso de sus instalaciones y equipo de profesionales.

Agradezco a todas aquellas personas que de alguna manera u otra me alentaron y ayudaron a terminar mi tesis.

A mi directora Campos Sonia y a mi codirectora Costabel Luciana, por haberme guiado en el desarrollo y escritura de esta tesis. Por la confianza que han depositado en mí, por el compromiso asumido y por el apoyo en todo momento. A todo el equipo del laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria (LCLA) INTA Rafaela, por su compañerismo, ayuda en el laboratorio, en la realización de diferentes técnicas y en la solución de situaciones diarias.

A Zbrun M. Virginia, del laboratorio de Sanidad Animal, por su colaboración en microbiología para la detección de *L. monocytogenes*.

A Cuatrín Alejandra, por su asesoramiento en el análisis estadístico de los datos y su buena predisposición en todo momento.

A la Bioquímica Gentinetta Fabiana, directora de la carrera y a todo el equipo docente que ha sido parte de mi formación.

A los miembros del Jurado, por el interés y tiempo dedicados a la evaluación de la presente tesis.

A mis amigas y amigos, por estar siempre, en los buenos y malos momentos brindándome las fuerzas necesarias para seguir adelante creciendo profesionalmente.

A mi novio por su aliento permanente, su paciencia y cariño.

Y por supuesto a mi familia, en especial a mis padres por el apoyo incondicional, quienes hicieron posible este logro, estando siempre a mi lado en estos años de estudio.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN</b> .....	XIV
<b>ABSTRACT</b> .....	XVI
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
El queso como alimento.....	1
Argentina como país quesero.....	2
El queso blando.....	4
<i>Producción de queso blando en Argentina</i> .....	5
<i>Aspectos fisicoquímicos de los quesos blandos</i> .....	8
<i>Aspectos microbiológicos de los quesos blandos</i> .....	10
<i>Listeria monocytogenes</i> .....	11
Análisis de los parámetros fisicoquímicos de los quesos.....	14
<i>Analizadores NIRS</i> .....	15
<b>ANTECEDENTES</b> .....	17
<i>Quesos</i> .....	17
<i>Uso de tecnología NIRS en quesos</i> .....	19
<i>Listeria monocytogenes en alimentos</i> .....	20
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	25
2.1. Objetivo general.....	25
2.2. Objetivos específicos.....	25
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	26
3.1. Calibración de equipo NIRS DA 7250.....	26
3.1.1. Tratamiento de las muestras.....	26
3.1.1.1. <i>Recepción de las muestras</i> .....	26

3.1.1.2. <i>Conservación de las muestras</i> .....	26
3.1.1.3. <i>Descarte de las muestras</i> .....	26
3.1.2. Análisis de Referencia.....	27
3.1.2.1. <i>Determinación de humedad</i> .....	27
3.1.2.2. <i>Determinación de materia grasa</i> .....	28
3.1.2.3. <i>Determinación de proteína</i> .....	29
3.1.2.4. <i>Determinación de pH</i> .....	31
3.1.2.5. <i>Determinación de cloruro de sodio</i> .....	32
3.1.3. Medición en equipo NIRS DA 7250.....	33
3.1.4. Curva de calibración.....	34
3.1.5. Validación.....	36
3.2. Análisis de composición fisicoquímica de muestras comerciales de queso blando.....	37
3.2.1. Muestreo.....	37
3.2.2. Tratamiento de las muestras.....	37
3.2.2.1. <i>Recepción de las muestras</i> .....	37
3.2.2.2. <i>Conservación de las muestras</i> .....	37
3.2.2.3. <i>Descarte de las muestras</i> .....	37
3.2.3. Análisis de las muestras.....	37
3.2.3.1. <i>Medición de pH, NaCl y composición por NIR</i> .....	37
3.2.3.2. <i>Análisis de actividad de agua (<math>a_w</math>)</i> .....	38
3.3. Análisis microbiológico en muestras comerciales de queso blando.....	38
3.3.1. Análisis de <i>L. monocytogenes</i> .....	38
3.4. Identificación de las variables fisicoquímicas de mayor impacto sobre la presencia de <i>L. monocytogenes</i> en quesos blandos.....	41
3.5. Análisis estadístico.....	41

<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>42</b>
4.1. Calibración NIRS DA 7250.....	42
4.1.1. Curva de Calibración.....	42
4.1.2. Ajuste de equipo NIR DA 7250.....	47
4.1.3. Validación de la calibración.....	48
4.2. Análisis de la composición fisicoquímica de muestras comerciales de queso blando.....	49
4.3. Análisis microbiológico de muestras comerciales de queso blando.....	55
4.4. Identificación de las variables fisicoquímicas de mayor impacto sobre la presencia de <i>L. monocytogenes</i> en quesos blandos.....	56
<b>5. CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>60</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>73</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Consumo per cápita de quesos a nivel mundial en el año 2020.....</i>	3
<b>Tabla 2.</b> <i>Datos de composición global de la variedad de queso Cremoso (n=18) .....</i>	10
<b>Tabla 3.</b> <i>Requisitos microbiológicos en queso Cremoso.....</i>	11
<b>Tabla 4.</b> <i>Primeros brotes de listeriosis de origen alimentario.....</i>	20
<b>Tabla 5.</b> <i>Casos reportados y confirmados de listeriosis: número y tasa por cada 100.000 habitantes, EU-EEE, 2012-2016.....</i>	22
<b>Tabla 6.</b> <i>Coefficientes de correlación obtenidos por los métodos referencia-NIRS en la etapa de calibración.....</i>	43
<b>Tabla 7.</b> <i>Valores de bias obtenidos para cada parámetro. Etapa de Ajuste NIRS.....</i>	48
<b>Tabla 8.</b> <i>Datos estadísticos obtenidos de la composición química de los quesos blandos analizados en la etapa de validación.....</i>	49
<b>Tabla 9.</b> <i>Parámetros estadísticos de la composición química de muestras de queso blando adquiridas en diferentes locales comerciales de Rafaela y zona.....</i>	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Consumo per cápita de quesos en Argentina, período 2005-2020.....	4
<b>Figura 2.</b> Regiones argentinas productoras de queso Cremoso.....	5
<b>Figura 3.</b> Esquema de elaboración de queso blando en Argentina.....	7
<b>Figura 4.</b> Espectro electromagnético.....	15
<b>Figura 5.</b> Cápsulas para determinación de humedad en queso blando según norma IRAM 14014 (2018) .....	28
<b>Figura 6.</b> (A) Butirómetros en baño maría a 65°C para determinación de grasa por el método Van Gulik según norma IRAM 14003-8 (2007). (B) Volumen de grasa presente en la columna del butirómetro.....	29
<b>Figura 7.</b> Medición de pH en queso blando de acuerdo al método potenciométrico estándar de la APHA (Bradley y col., 1993).....	32
<b>Figura 8.</b> Preparación de muestra para analizar por el equipo NIR DA 7250.....	34
<b>Figura 9.</b> Descripción de las actividades realizadas para la calibración del equipo NIRS.....	36
<b>Figura 10.</b> NIR DA 7250.....	38
<b>Figura 11.</b> Muestreo de queso para determinación de <i>L. monocytogenes</i> .....	40
<b>Figura 12.</b> Procedimiento recepción de muestras comerciales de queso blando. ....	40
<b>Figura 13.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de humedad (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=32. Muestra trozada: n=37.....	44

<b>Figura 14.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de materia grasa (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=38. Muestras trozada: n=34.....	44
<b>Figura 15.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de proteína (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=35. Muestra trozada: n=34.....	44
<b>Figura 16.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de pH. Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=37. Muestra trozada: n= 39.....	45
<b>Figura 17.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de NaCl (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=40. Muestra trozada: n= 40.....	45
<b>Figura 18.</b> Diagrama de dispersión sobre los valores de NaCl (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=94.....	46
<b>Figura 19.</b> Gráfico de dispersión de los valores de humedad obtenido en las muestras de queso blando.....	51
<b>Figura 20.</b> Gráfico de dispersión de los valores de NaCl obtenido en las muestras de queso blando.....	52
<b>Figura 21.</b> Gráfico de dispersión de los valores de $a_w$ obtenido en las muestras de queso blando.....	52
<b>Figura 22.</b> Gráfico de dispersión de los valores de materia grasa obtenidos en las muestras de queso blando.....	53
<b>Figura 23.</b> Gráfico de dispersión de los valores de proteína obtenidos en las muestras de queso blando.....	54
<b>Figura 24.</b> Gráfico de dispersión de los valores de pH obtenidos en las muestras de queso blando.....	55

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO I:</b> Protocolo de uso de equipo NIR DA 7250 (Perkin Elmer®).....	73
<b>ANEXO II:</b> Plantilla Excel de calibración (Perkin Elmer®).....	81
<b>ANEXO III:</b> Base de datos de muestras de queso blando utilizadas para la calibración.....	82
<b>ANEXO IV:</b> Base de datos de muestras de queso blando analizados .....	86

## **PUBLICACIONES**

Parte de los resultados de esta tesina, han sido publicados en:

### ***Congreso Nacional***

Marmo L., Zbrun M.V., Campos S., Costabel L., Primo M.E., Moreno N., Costamagna D., Audero G., Signorini M., Camussone C., Frizzo L. (Noviembre 2021). Estudio de la prevalencia de *Listeria monocytogenes* en Queso Blando. *IX Jornada de Difusión de la investigación y extensión*. Esperanza, Santa Fe. Argentina. Disponible en: <https://www.fcv.unl.edu.ar/investigacion/jornadas-2021/S>.

### ***Simposio Nacional***

Campos, S., Audero, G., Zbrun, M.V., Marmo L., Costabel, L. (Septiembre 2021). DETECCIÓN DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA EN QUESO BLANDO. *1º Simposio de nuevas tecnologías y herramientas para la inocuidad y seguridad alimentaria*. Disponible en: <https://www.youtube.com/watch?v=K4VmOyMhuuI>.

### ***Revista internacional***

Campos, S., Audero, G., Zbrun, M.V., Marmo L., Costabel, L. (Diciembre 2021). DETECCIÓN DE *LISTERIA MONOCYTOGENES* Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA EN QUESO BLANDO. *Revista Tecnología Láctea Latinoamericana, de Editorial Publitec*. Disponible en: <https://publitec.com/>.

## DECLARACIÓN

Yo, Lucía Milagros Marmo, D.N.I: 41288016, autora del presente trabajo de investigación cuyo tema es: “Estudio de la relación entre composición fisicoquímica y presencia de *Listeria monocytogenes* en queso blando”, expreso que las investigaciones, resultados y conclusiones expuestas en el presente trabajo de investigación son de mi completa responsabilidad.



MARMO LUCÍA MILAGROS

D.N.I: 41288016

## ABREVIATURAS

**a<sub>w</sub>**: actividad de agua

**APHA**: Asociación Americana de Salud Pública (por sus siglas en inglés American Public Health Association)

**ATCC**: colección americana de cultivos tipo (por sus siglas en inglés American Type Culture Collection)

**ANMAT**: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

**AgNO<sub>3</sub>**: nitrato de plata

**BS**: base seca

**CAMP**: prueba bioquímica (por sus siglas en inglés, Christie- Atkins- Munch-Peterson test)

**C-H**: carbono e hidrógeno

**CDC**: Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los EE.UU. (por sus siglas en inglés Centers for Disease Control and Prevention)

**CCA**: Código Alimentario Argentino

**Cl**: cloruros

**cm**: centímetro

**CO<sub>2</sub>**: dióxido de carbono

**°D**: grados Dornic

**DA**: arreglo de diodos (por sus siglas en inglés Diode Array)

**EEA**: Estación Experimental Agropecuaria

**EE.UU.**: Estados Unidos

**EEE**: Espacio Económico Europeo

**ETAS**: Enfermedades de Transmisión Alimentaria

**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés Food and Agriculture Organization)

**FAS:** Servicio Agrícola Extranjero (por sus siglas en inglés Foreign Agricultural Service)

**FIL:** Federación Internacional de Lechería

**FDA:** Administración de Medicamentos y Alimentos (por sus siglas en inglés Food and Drug Administration)

**g:** gramos

**H<sub>2</sub>O:** agua

**h:** horas

**H:** humedad

**ICMSF:** Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (por sus siglas en inglés International Commission on Microbiological Specifications for Foods)

**INLAIN:** Instituto de Lactología Industrial

**INTA:** Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

**INTI:** Instituto Nacional de Tecnología Industrial

**IR:** infrarrojo

**IRAM:** Instituto Argentino de Metrología

**ISO:** Organización Internacional de Normalización (por sus siglas en inglés International Organization for Standardization)

**KCl:** cloruro de potasio

**KMnO<sub>4</sub>:** permanganato de potasio

**LNR:** Laboratorio Nacional de Referencia de Influenza y otros virus respiratorios

**L.:** *Listeria*

**MG:** materia grasa

**min:** minutos

**M:** molaridad

**NSLAB:** bacterias lácticas no pertenecientes al fermento primario (por sus siglas en inglés Non Starter Lactic Acid Bacterias)

**n:** población de muestras

**NaCl:** cloruro de sodio

**N-H:** nitrógeno e hidrógeno

**NIRS:** Espectroscopia del infrarrojo cercano (por sus siglas en inglés Near Infrared Spectroscopy)

**NT:** nitrógeno total

**N:** normalidad

**OCLA:** Observatorio de la Cadena Láctea

**OMS:** Organización Mundial de la Salud

**O-H:** oxígeno e hidrógeno

**Q.H.:** química húmeda

**R<sup>2</sup>:** Coeficiente de determinación de la calibración

**RSA:** Red de Seguridad Alimentaria

**SAGPyA:** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos del Ministerio de Economía y Producción

**SEC:** Error Estándar de Calibración (por sus siglas en inglés Standard Error of Calibration)

**SEP:** Error Estándar de Predicción (por sus siglas en inglés Standard Error of Prediction)

**UE:** Unión Europea

**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (por sus siglas en inglés United States Department of Agriculture)

“Estudio de la relación entre composición fisicoquímica y presencia de *Listeria monocytogenes* en queso blando”

## RESUMEN

*Listeria monocytogenes* es un patógeno emergente importante en las enfermedades transmitidas a través de los alimentos, causante de listeriosis, infección a partir de la cual se desencadenan graves consecuencias. Además, es especialmente problemática debido a su capacidad para sobrevivir y crecer en condiciones de refrigeración. Los alimentos se pueden contaminar con este patógeno en cualquier eslabón de la cadena productiva, así como también durante el almacenamiento en frío. Los productos lácteos, como leche y quesos, son una causa importante de brotes vinculados a *L. monocytogenes*. Los quesos blandos sin madurar, debido a sus factores intrínsecos como elevada humedad y baja acidez, son un medio de cultivo ideal para el desarrollo de esta bacteria. Sumado a esto, las fallas en las prácticas de higiene y el diseño incorrecto de equipos o instalaciones podrían facilitar la presencia y persistencia de *L. monocytogenes* en los alimentos, provocando la permanencia de este patógeno. Por ello el objetivo de este trabajo, fue estudiar la relación entre la presencia de *L. monocytogenes* y las características fisicoquímicas de quesos blandos disponibles en el mercado. Para el desarrollo de este trabajo, en primer lugar, se realizó un ajuste del equipo NIRS (Espectroscopía de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano) para los parámetros humedad, grasa, proteína y NaCl. Posteriormente se analizaron 86 muestras de queso blando de diferentes marcas, provenientes de locales comerciales de Rafaela y zona, utilizando la metodología NIRS para aquellos parámetros calibrados. En todos los quesos, se realizó simultáneamente la detección de *L. monocytogenes*. Se logró calibrar el equipo NIRS, obteniendo un  $R^2$  de 0,94; 0,82; 0,82 y 0,92 para los parámetros humedad, grasa, proteína y NaCl respectivamente. Utilizando esta metodología, se logró una caracterización fisicoquímica rápida y

confiable de los quesos muestreados. No se detectó la presencia de *L. monocytogenes* en ninguna de las muestras analizadas, por lo que no se pudo relacionar la presencia de esta bacteria con las características fisicoquímicas de los quesos blandos estudiados. A partir de los resultados de este trabajo de tesina, se puede concluir que la técnica NIRS mostró ser un método fiable para valorar los parámetros fisicoquímicos presentes en quesos blandos. En relación a la detección microbiológica de *L. monocytogenes* en las muestras de queso blando evaluadas, los análisis no demostraron la presencia de la bacteria, lo cual resulta muy positivo desde un enfoque de seguridad alimentaria. Este trabajo brinda información útil que permite caracterizar desde el punto de vista fisicoquímico, los quesos blandos disponibles en diferentes establecimientos de Rafaela y zona.

**Palabras claves:** *Listeria monocytogenes*, quesos blandos, análisis fisicoquímico, espectroscopía infrarrojo cercano (NIRS).

"Study of relationship between physicochemical composition and presence of *Listeria monocytogenes* in soft cheese"

**ABSTRACT:**

*Listeria monocytogenes* is an important emerging pathogen in foodborne diseases, causing listeriosis, an infection from which serious consequences are triggered. It is also especially problematic because of its capacity to survive and grow under refrigerated conditions. Food may be contaminated with this pathogen at any point of the production chain, as well as during cold storage. Dairy products, such as milk and cheese, are a major cause of outbreaks linked to *L. monocytogenes*. Unripe soft cheeses, due to their high moisture and low acidity, are an ideal growing medium for the development of this bacterium. Added to this, the failures in hygiene practices and the incorrect design of equipment or facilities could facilitate the presence and persistence of *L. monocytogenes* in food, causing the permanence of this pathogen. Therefore, the objective of this work was to study the relationship between presence of *L. monocytogenes* and physicochemical characteristics of soft cheeses available on the market. For the development of this work, in first place, an adjustment of NIRS equipment (near infrared spectroscopy) was carried out for moisture, fat, protein and NaCl parameters. Subsequently, 86 samples of soft cheese of different brands were analyzed, from different commercial premises of Rafaela and area, using NIRS methodology for those calibrated. In all cheeses, *L. monocytogenes* was determined simultaneously. NIRS equipment was calibrated, obtaining an  $R^2$  of 0,94; 0,82; 0,82; 0,92 for moisture, fat, protein and NaCl parameters respectively. A fast and reliable physicochemical characterization of sampled cheeses was achieved using this methodology. The presence of *L. monocytogenes* was not detected in any of the samples analyzed, so presence of this bacterium could not be related to physicochemical characteristics of soft cheeses studied. From the results of

this thesis work, it can be concluded that NIRS technique proved to be a reliable method to assess physicochemical parameters present in soft cheeses. Regarding microbiological detection of *L. monocytogenes* in soft cheese samples evaluated, analyses did not demonstrate the presence of the bacteria, which is very positive from a food safety approach. This work provides useful information that allows characterizing, from a physicochemical point of view, the soft cheeses available in different establishments in Rafaela and area.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, soft cheeses, physicochemical analysis, near infrared spectroscopy (NIRS).

# **INTRODUCCIÓN**

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **El queso como alimento.**

El queso es un alimento que se ha consumido desde los tiempos más antiguos y que ha llegado hasta nuestros días conservando las técnicas de elaboración originales. Ocupa un lugar de privilegio dentro de los alimentos por sus características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales (Ramírez López y Vélez Ruiz, 2012). A través del tiempo se transformó en una fuente de bienestar para el hombre presentado en un sin fin de variadas formas y gustos. Diferentes autores relevan que en todo el mundo se producen entre 400 a 1000 variedades de queso (Burkhalter, 1981; Kalantzopoulos, 1993 y Fox, 2004), desde los de texturas más duras a las cremosas, desde aromas más acres a los más sencillos y desde los sabores más intensos a los más insípidos, cada queso tiene una característica que lo diferencia de los demás (Furtado, 2005).

El Código Alimentario Argentino (CAA) define al queso como “el producto fresco o madurado que se obtiene por separación parcial del suero de la leche o leche reconstituida (entera, parcial o totalmente descremada), o de sueros lácteos, coagulados por la acción física del cuajo, de enzimas específicas, de bacterias específicas, de ácidos orgánicos, solos o combinados, todos de calidad apta para uso alimentario; con o sin el agregado de sustancias alimenticias y/o especias y/o condimentos, aditivos específicamente indicados, sustancias aromatizantes y materiales colorantes”. A su vez hace una diferencia entre el queso fresco, que está listo para el consumo poco después de su fabricación, y el queso madurado, que ha experimentado los cambios bioquímicos y físicos necesarios y característicos de la variedad de queso. Además, el CAA, clasifica a los quesos en función del contenido de materia grasa del extracto seco de la pasta, en quesos doble crema (> 60 % p/p), grasos (45 % p/p a 59,9 % p/p), semigrasos (25 % p/p a 44,9 % p/p), magros (10 % p/p a 24,9 % p/p) y descremados (< 10 % p/p). Según el tiempo de maduración y el contenido de agua

de la pasta, se clasifican en quesos de pasta muy blanda o de muy alta humedad (> 55,0 % p/p), quesos de pasta blanda o de alta humedad (46 % p/p a 54,9 % p/p), quesos de pasta semidura o de mediana humedad (36 % p/p al 45,9 % p/p) y quesos de pasta dura o de baja humedad hasta 35,9 % p/p, (CAA, ANMAT, 2021).

La enorme gama de variedades y aplicaciones posibles, que van desde el consumo directo hasta la utilización como ingrediente de las comidas más sofisticadas, transforman al queso en uno de los productos más versátiles y de mayor difusión a escala global, hoy consumido incluso en las culturas orientales, como parte del fenómeno de “occidentalización” de la dieta y el auge de las comidas rápidas (Schlech *et al.*, 2008).

### **Argentina como país quesero.**

Argentina presenta una larga trayectoria como productor lácteo, más específicamente dentro de las provincias de Santa Fe, Córdoba y Buenos Aires donde se encuentran sus grandes cuencas lecheras (Manzoni, 2017). Además, cabe destacar que los quesos constituyen, en términos de volumen, uno de los principales destinos derivados de la industrialización de la leche, superando ampliamente a los demás productos lácteos. En el año 2020, según las estadísticas registradas por el Observatorio de la Cadena Láctea (OCLA, 2020), el mayor volumen de la leche producida en Argentina se destinó a la producción de quesos, lo que representó alrededor del 41,6 % de producción total; un 33,7 % se destinó a la elaboración de leche en polvo, y el resto a otros productos lácteos (leche fluida, crema, manteca, dulce de leche, postres, yogures, etc.). Del porcentaje de quesos producidos, el 16,8 % se destina a la elaboración de queso de pasta semidura, un 6,0 % a la elaboración de quesos de pasta dura, un 16,9 % a la elaboración de quesos de pasta blanda y un 1,9 % se destina a la elaboración de quesos de pasta muy blanda. Argentina ha ocupado, por los últimos 10 años, un lugar entre los principales 15 países productores de queso a nivel mundial, y en cuanto

al consumo interno, como podemos ver en la Tabla 1, se encuentra por debajo de países de arraigada tradición quesera, pero muy por encima de economías de dimensión comparable, siendo en el año 2020 la población argentina, con un consumo de 9,29 kg/per cápita, la mayor consumidora de queso en América Latina.

**Tabla 1.**

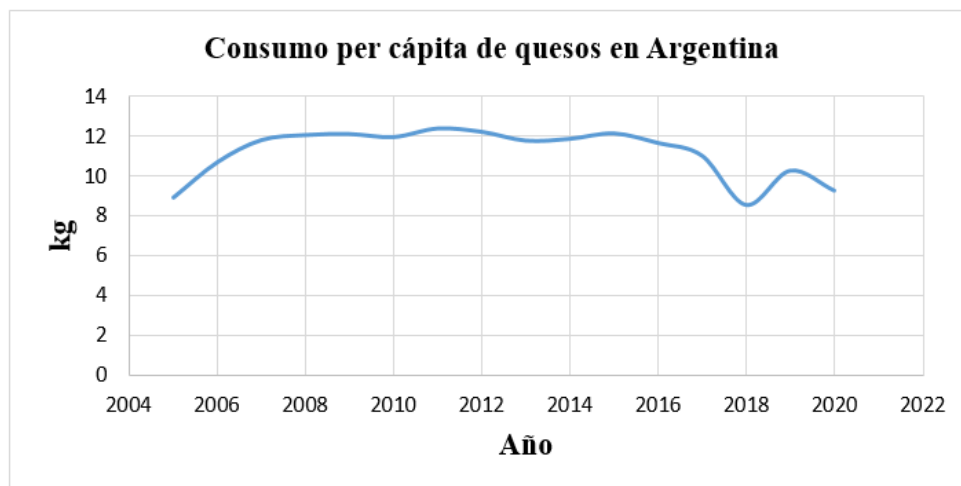
*Consumo per cápita de quesos a nivel mundial en el año 2020.*

<b>País</b>	<b>Consumo per cápita (kg/año) 2020</b>
<b>Unión Europea</b>	18,39
<b>Estados Unidos</b>	17,37
<b>Canadá</b>	14,31
<b>Australia</b>	11,96
<b>Argentina</b>	9,29
<b>Rusia</b>	9,04
<b>Nueva Zelanda</b>	7,88
<b>Bielorrusia</b>	7,51
<b>Ucrania</b>	5,03
<b>México</b>	4,26
<b>Brasil</b>	3,66
<b>Corea del Sur</b>	3,63
<b>Japón</b>	2,66
<b>Taiwán</b>	1,43
<b>Filipinas</b>	0,38

**Nota.** Los consumos per cápita de cada país fueron obtenidos dividiendo el total de consumo (fuente FAS-USDA) por el número de habitantes (fuente FAO). Fuente: Rossi, A. (2021). CLAL.it. Disponible en: [http://www.clal.it/en/?section=tabs\\_consumi\\_procapite](http://www.clal.it/en/?section=tabs_consumi_procapite).

En la Figura 1 se presentan los datos correspondientes al consumo per cápita de quesos en Argentina durante el período 2005-2020. En la misma se observa como en los últimos 15 años el consumo per cápita de quesos en nuestro país fue variando a través del tiempo, registrándose un

máximo de 12,41 kg por habitante en 2011 y un consumo mínimo de 8,57 kg por habitante en 2018 (Rossi, 2021).



**Figura 1:** Consumo per cápita de quesos en Argentina, período 2005-2020. (Fuente: Rossi, A. (2021). CLAL.it. Disponible en: [http://www.clal.it/en/?section=tabs\\_consumi\\_procapite](http://www.clal.it/en/?section=tabs_consumi_procapite)).

En la provincia de Santa Fe, se receptiona alrededor del 25 % del total de la leche cruda del país. De este total, aproximadamente el 35 % se industrializa en las PyMEs y el 65 % restante en grandes empresas. Aproximadamente el 72 % de la leche se procesa en el departamento Castellanos y Las Colonias y el 26 % restante en el resto de la provincia (Gigena, 2020).

De las diferentes variedades de queso que se producen en nuestro país, predomina el consumo de queso fresco como el queso Cremoso o Cuartirolo, Mozzarella, Port Salut. También es importante el consumo de quesos semiduros, como el Pategrás y Tybo y duros como el Reggianito y el Sardo.

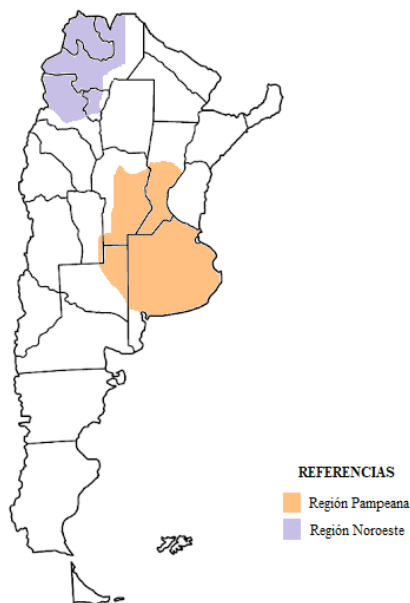
### **El queso blando**

El queso blando es definido en la Legislación Argentina (CAA, en su art. 622; ANMAT, 2021) como un “producto de alta (entre 46 % p/p y 54,9 % p/p) y muy alta humedad (> 55 % p/p),

elaborado con leche entera o leche estandarizada, con o sin el agregado de crema, acidificada por cultivo de bacterias lácticas y coaguladas por cuajo y/o enzimas específicas”. El contenido de materia grasa en el extracto seco debe ser como mínimo del 50 % p/p. Se caracteriza por ser una pasta blanda, cerrada, algo elástica y grasosa, de sabor dulce característico y ligeramente ácido, con un aroma suave y agradable, y color blanco-amarillento uniforme. Presenta una forma cilíndrica achatada o paralelepípeda, con un tiempo de maduración mínimo de 20 días para los que pesan menos de 2,5 kg y de 30 días, para los que pesan 2,5 kg a 5,0 kg”.

***Producción de queso blando en Argentina***

En la Argentina el área de producción de queso Cremoso se encuentra en la región del noroeste (en las provincias de Jujuy, Salta, norte de Tucumán y norte de Catamarca) y en la región Pampeana (en las provincias de La Pampa, Buenos Aires, sur de Santa Fe, sureste de Córdoba y sur de San Luis), tal y como se observa en la Figura 2 (Fusé, 2011).



***Figura 2:*** Regiones Argentinas productoras de queso Cremoso.

Para la elaboración de este tipo de quesos (Figura 3) se utiliza leche entera, parcial o totalmente descremada o con agregado de crema, según el contenido graso que se desea en el producto final. La leche es siempre pasteurizada, generalmente en sistema a placa (pasteurización alta) a 72°C por 15 segundos. Luego de la pasteurización la leche es enfriada a 38°C y se procede a agregar cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) a razón de 200-400 g/1000 litros, para corregir las variaciones de los contenidos en calcio de la leche o el equilibrio del calcio entre las fases soluble y coloidal debido a los efectos de la refrigeración o del tratamiento térmico, con este agregado se busca mejorar las propiedades de coagulación de la leche (Mahaut, Jeantet y Brulé, 2003). En cuanto al fermento láctico utilizado, puede ser un fermento natural de leche obtenido en la misma industria o un fermento comercial. Lo más utilizado en la actualidad, son los fermentos comerciales de uso directo a base de *Streptococcus thermophilus*. El fermento directo se agrega a la leche a 37°C como polvo o sólido congelado, o se disuelve previamente en un volumen de leche pasteurizada y enfriada. En el caso de los productos semidirectos, en primer lugar, se hace un precultivo, el cual se prepara en cada elaboración, que luego es agregado a la leche. El coagulante más comúnmente utilizado en la mayoría de las queserías, es la quimosina bovina comercial producida por fermentación de organismos modificados, aunque en algunas más artesanales, también utilizan el proveniente de bovino adulto. El coagulante se agrega a la leche ya inoculada con el fermento (2 g/100 L de leche para el caso de fermento directo), a una temperatura de 38°C. Luego de la coagulación que implica unos 20 minutos, se procede al corte de la cuajada en granos grandes de aproximadamente 2 cm de lado. La mezcla de la cuajada y suero se agita y se deja reposar alternativamente, en forma lenta y con cuidado, hasta lograr el porcentaje de humedad conveniente. La cuajada y el suero son descargados en moldes plásticos microperforados, de 24 x 24 cm de lado y de aproximadamente 15 cm de altura. Los moldes con la cuajada se apilan de a dos o tres para lograr un breve prensado

de la masa; luego son ubicados en un calorífero aproximadamente a 45°C. De esta forma se permite el desarrollo de las bacterias constitutivas del fermento, que comienzan su proceso de acidificación de la pasta. Los valores de pH y acidez (°Dornic) se controlan en la cuajada y en el suero que exuda la cuajada. Una vez que el pH de la masa ha alcanzado  $5,2 \pm 1$  (65 °D en el suero exudado), los quesos son sumergidos en salmuera a  $5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  para detener inmediatamente el proceso de acidificación. La permanencia en salmuera se prolonga a razón de una hora por kilo de peso. Cumplido este tiempo, se retiran de la salmuera y se colocan en cámara a 5°C, para llevar a cabo su proceso de maduración. El envasado al vacío en bolsas plásticas termocontraíbles se lleva a cabo a los tres o cuatro días de maduración. (Zalazar *et. al.*, 1995, 1999).



**Figura 3:** Esquema de elaboración de queso blando en Argentina.

***Aspectos fisicoquímicos de los quesos blandos***

Durante el proceso de elaboración de los quesos se logra preservar el valor nutritivo de la mayoría de los componentes de la leche, incluidas las grasas, proteínas y otros constituyentes menores como vitaminas liposolubles y minerales (Vélez Ruiz, 2009).

Desde el punto de vista fisicoquímico, el queso se define como un sistema tridimensional tipo gel, formado básicamente por la caseína integrada en un complejo caseinato fosfato cálcico, el cual, por coagulación, engloba glóbulos de grasa, agua, lactosa, albúminas, globulinas, minerales, vitaminas y otras sustancias menores de la leche, las cuales permanecen adsorbidas en el sistema o se mantienen en la fase acuosa retenida (Walstra *et al.*, 2016; Lamichhan *et al.*, 2017).

Por otro lado, el cloruro de sodio (NaCl), es agregado durante el proceso de elaboración a través de la inmersión en baño de salmuera. El mismo, además de su aporte nutricional y de potenciador del sabor, posee la función de completar el desuerado, modificar la hidratación de las proteínas, intervenir en la formación de la corteza y actuar sobre el desarrollo de los microorganismos reduciendo el agua disponible y la actividad enzimática (Eck, 1990).

El agua presente en la matriz del queso otorga efecto lubricante de baja viscosidad, es decir, plastificante (Marshall, 1990). Cabe destacar también que la misma se encuentra en parte asociada a proteínas y otros componentes de la matriz, por lo que no está disponible como solvente. Y en una mayor cantidad se encuentra libre, es decir, débilmente asociada dentro de la matriz proteica reteniendo una gran capacidad como solvente; esta última fracción es además la que se encuentra disponible para el desarrollo de los microorganismos (McMahon *et al.*, 1999).

En relación al pH o la acidez alcanzada durante el proceso de elaboración, se considera que este parámetro, junto con la concentración de sal en la humedad del queso, tiene una gran influencia

sobre los atributos sensoriales y sobre la vida útil del queso (Lamichhan *et al.*, 2017). Costabel *et al.* (2020) en su publicación registraron valores de pH entre  $5,27 \pm 0,051$ , para quesos de pasta blanda.

El NaCl, junto con el pH y la  $a_w$ , son múltiples obstáculos que contribuyen a la seguridad microbiológica de los quesos tradicionales (Shrestha *et al.*, 2011). Según lo descrito por Arévalo Arévalo (2014) los quesos blandos, se caracterizan por ser productos muy poco fermentados, aunque ligeramente ácidos, con altos contenidos de humedad ( $a_w$  de 0,9) y con un bajo porcentaje de sal (menor al 3 %). Así mismo, Wolf *et al.* (2020), en una prueba de composición global a partir de 18 quesos blandos, obtuvieron las cantidades descriptas en la Tabla 2, donde valores de humedad (entre 47 % p/p y 53 % p/p) y materia grasa en el extracto seco (entre 50 % p/p y 53 % p/p) se encuentran dentro de lo establecido por el CAA. Por su parte, datos arrojados por el INTI expresan una composición de proteínas de 19,7 % y grasa de 22,9 %, expresados cada 100 g de queso blando (Pedro, 2012).

Respecto al contenido de sal en quesos blandos, existen pocos datos en la bibliografía, y actualmente los valores óptimos no están definidos en el CAA. Álvarez, Corradetti y Recavarren (2018), en su trabajo, encontraron valores entre 0,08 % p/p y 1,00 % p/p, mientras que Peralta *et al.* (2018), registraron un valor promedio de  $0,77 \pm 0,140$  % p/p.

**Tabla 2.**

*Datos de composición global de la variedad de queso Cremoso (n=18)*

Parámetros	Queso Cremoso
pH	5,25 ± 0,130
Humedad % <sup>1</sup>	50,05 ± 2,890
Grasa % <sup>2</sup>	51,33 ± 1,710
Proteína % <sup>1</sup>	20,36 ± 1,530
NaCl%	ND

**Nota:** Fuente: Wolf, (2020). <sup>1</sup>g/100 g queso; <sup>2</sup>g/100 g queso expresado en base seca; ND: no determinado.

### ***Aspectos microbiológicos de los quesos blandos***

La microbiota dominante en el queso fresco está constituida por una diversidad de bacterias como estreptococos pertenecientes al cultivo iniciador, bacterias ácido lácticas no componentes del cultivo iniciador, estafilococos y micrococos, bacilos Gram negativos como *Pseudomonas*, *Achromobacter* y coliformes, bacilos, estreptococos del grupo D, bacterias lipolíticas, bacterias proteolíticas, corinebacterias y mohos (Robinson, 1987). Entre ellos también se encuentran los microorganismos patógenos, es decir, aquellos que interesan desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, donde se incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Campylobacter* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* y *Listeria monocytogenes*. Todos ellos, excepto los esporulados y los enterococos, se destruyen por la pasteurización (Robinson, 1987). Es habitual que la leche que se emplea en la elaboración de este producto esté contaminada con muchos microorganismos patógenos (Sharpe y Bramley, 1978). Los mismos pueden proceder de una ubre enferma (mastitis), de heces u otras excreciones de vacas infectadas o asintomáticas, del hombre, de un ambiente contaminado o del equipo de ordeño.

En Latinoamérica se estima que los patógenos más frecuentes en el queso fresco son *S. aureus* (43,71 %) y *E. coli* (18,51 %), y los menos frecuentes, *L. monocytogenes* (16,26 %), *Salmonella* spp. (11,66 %) y *C. perfringens* (8,37 %) (Merchán Castellanos, 2018).

En nuestro país, los quesos de pasta blanda tales como Cuartirolo, Cremoso y Criollo, según la reglamentación del CAA en su capítulo VIII, artículo 605, inciso 6-B, deben cumplir con los requisitos estipulados en la Tabla 3, para poder ser comercializados.

**Tabla 3.**  
*Requisitos microbiológicos en queso Cremoso.*

Microorganismos	Criterios de Aceptación				Categoría ICMSF	Métodos de Ensayo
<i>Coliformes/g</i> (30°C)	n <sup>1</sup> = 5	c <sup>2</sup> =2	m <sup>3</sup> = 5000	M <sup>4</sup> =10000	5	FIL 73A: 1985
<i>Coliformes/g</i> (45°C)	n= 5	c=2	m= 1000	M=5000	5	APHA 1992, Cap. 24(1)
<i>Estafilococos coag. Positiva/g</i>	n= 5	c=2	m= 100	M=1000	5	FIL 145:1990
<i>Salmonella</i> spp./25g	n= 5	c=0	m= 0		10	FIL 93A:1985
<i>L. monocytogenes/ 25g</i>	n= 5	c=0	m= 0		10	FIL 143:1990

**Nota.** Fuente: Código Alimentario Argentino (CAA). Ley 18284. Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp).

<sup>1</sup> n: número de unidades de muestra analizada.

<sup>2</sup> c: número máximo de unidades de muestra cuyos resultados pueden estar comprendidos entre m (calidad aceptable) y M (calidad aceptable provisionalmente).

<sup>3</sup> m: nivel máximo del microorganismo en el alimento, para una calidad aceptable.

<sup>4</sup> M: nivel máximo del microorganismo en el alimento, para una calidad aceptable provisionalmente.

### ***Listeria monocytogenes***

Las intoxicaciones alimentarias, son enfermedades transmitidas por los alimentos y causadas ya sea por microorganismos patógenos o por las toxinas que estos producen (Ríos *et al.*, 2012). Un informe publicado por Costard *et al.* (2017) establecieron que la leche cruda y el queso, causaron el 96% de las enfermedades en el marco de productos lácteos contaminados. Por otra parte en un

informe emitido por el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) se menciona que los productos lácteos no pasteurizados causan 840 veces más enfermedades y 45 veces más hospitalizaciones que los productos lácteos pasteurizados.

*L. monocytogenes* es un patógeno emergente importante en las enfermedades transmitidas a través de los alimentos y es muy frecuente encontrarla en productos lácteos como leche y quesos de pasta blanda (Ministerio de Agricultura, 1999; Pellicer *et al.*, 2002). Es una bacteria aerobia y anaerobia facultativa. Es un microorganismo de carácter ubiquitario que se puede encontrar en suelos, vegetales, pastos, explotaciones ganaderas, pudiendo llegar a sobrevivir entre 1 y 2 años en el medio ambiente (Aureli *et al.*, 2000).

La temperatura mínima de desarrollo de este microorganismo psicrotrófico es  $1,1^{\circ}\text{C} \pm 0,3^{\circ}\text{C}$ , la óptima de  $30^{\circ}\text{C}$  a  $37^{\circ}\text{C}$ , y la máxima de  $45^{\circ}\text{C}$ . *L. monocytogenes* es relativamente resistente al calor si se encuentra en concentraciones muy elevadas, del orden de  $10^5$  a  $10^6$  UFC/ml (ICMSF, 2001). Además, es capaz de crecer en un intervalo de pH amplio desde 4,1 hasta alrededor de 9,6. Sin embargo, su pH óptimo fluctúa entre 7,2 y 7,6. Este microorganismo es la segunda especie patógena transmitida por alimentos, después de los estafilococos, que es capaz de crecer en valores de actividad de agua ( $a_w$ ) menores de 0,93 (Jay, 2000; Laciari, 1999) y resiste a concentraciones elevadas de NaCl (30 % p/p) (Afnor, 1996). Estas características hacen a los alimentos un ambiente adecuado en el cual podemos encontrar *Listeria*. Tras la ingestión de alimentos contaminados, las bacterias entran al cuerpo a través del intestino y puede extenderse al hígado, bazo, sistema nervioso central y el feto (Ramaswamy *et al.*, 2007). Los alimentos más frecuentemente asociados con la listeriosis humana incluyen aquellos que toleran el crecimiento de *L. monocytogenes*, tienen una vida útil prolongada bajo refrigeración, se consumen sin otros tratamientos listericidas. Entre los ejemplos de alimentos asociados con brotes y con alto nivel de riesgo se encuentran los productos

cárnicos, como patés y salchichas, pescados ahumados, los productos lácteos, como el queso, ensaladas y en general productos industrializados, refrigerados, listos para el consumo, sin requerimientos de cocción o calentamiento previo (Noriega, 2010).

La listeriosis es una infección grave generalmente causada por el consumo de alimentos contaminados con la bacteria *L. monocytogenes* (80-90 % de los casos). Es una enfermedad relativamente rara con 0,1 a 10 casos por millón de personas por año, dependiendo de los países y regiones del mundo. Aunque la mayoría de los sucesos se suelen dar de forma esporádica y en un número pequeño de casos, la alta tasa de muerte asociada con esta infección la convierte en un importante problema de salud pública (WHO, 2018), dicha gravedad y alta letalidad exige un estricto control higiénico en los productos susceptibles de ser contaminados con este microorganismo (Axelson, Sonrin y Transia, 1998; Bell y Kyriakides, 1998; Donnelly *et al.*, 1992; Porto y Eiroa, 2001). Es más probable que la infección enferme a mujeres embarazadas y sus recién nacidos, adultos de 65 años o mayores y personas con el sistema inmunitario debilitado (CDC, 2017). Los síntomas varían desde un cuadro gastrointestinal leve, hasta una sepsis grave. En mujeres embarazadas puede causar infecciones intrauterinas o cervicales, que suelen resultar en abortos espontáneos o muerte fetal (Becroft *et al.*, 1971).

La supervivencia y el crecimiento de *L. monocytogenes* en entornos lácteos depende de las condiciones de fabricación, maduración y almacenamiento (Almeida *et al.*, 2013). Fallas en las prácticas de higiene o el diseño incorrecto de equipos o instalaciones pueden facilitar la presencia y persistencia de este microorganismo en instalaciones de elaboración de queso (Almeida *et al.*, 2013). Tras la colonización de las instalaciones, dicha bacteria se puede propagar fácilmente a través de materiales de contacto contaminados, movimientos de personal y flujos de trabajo alimentarios inapropiados, que pueden constituir un paso intermedio en la transmisión desde su

hábitat original (en biopelículas, agua y residuos orgánicos del suelo) a las superficies en contacto con alimentos (Muhterem Uyar *et al.*, 2015).

La reglamentación vigente obliga a los productores de queso blando a higienizar por medios mecánicos adecuados y a pasteurizar, o efectuar algún tratamiento térmico equivalente a la leche con la que se va a elaborar este producto. Dicho proceso consigue la eliminación de la bacteria. Es por esto que la principal fuente de contaminación en estos casos la constituyen las etapas posteriores a este proceso. Como ejemplo, podríamos citar las operaciones en tina o el manipuleo de la masa de queso durante el moldeo, si en las instalaciones no se respetan las buenas prácticas de manufactura, o la contaminación durante la comercialización del producto, si no se cumplen con las condiciones de higiene adecuadas durante la manipulación de los quesos, fundamentalmente si en los comercios se realiza el fraccionamiento de los mismos. A esto se le suman ciertas características intrínsecas de los quesos que resultan ser propicias para el desarrollo de *L. monocytogenes* debido a que se trata de un producto poco fermentado, es decir de baja acidez y de elevada humedad (Arévalo Arévalo, 2014).

### ***Análisis de los parámetros fisicoquímicos de los quesos***

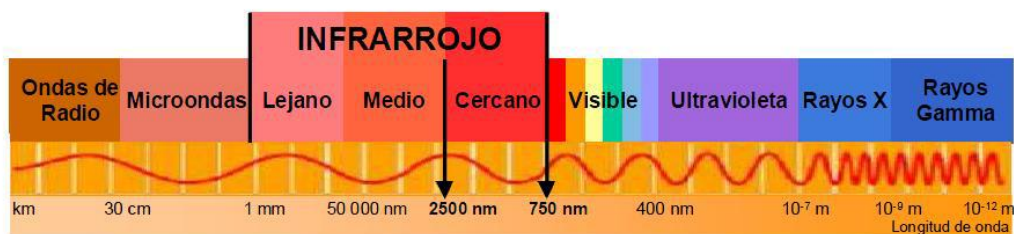
La forma en la que comúnmente se determinan los componentes fisicoquímicos en las muestras de queso es por medio de normativas estandarizadas. Los métodos tradicionales de análisis, cuantitativos y cualitativos, son laboriosos, demandan tiempo, mano de obra y presentan un elevado costo por muestra analizada. Por esto, se hace necesario desarrollar técnicas rápidas y confiables que permitan analizar los alimentos, así como controlar la calidad de los productos con los que se va a elaborar (Davies y Grant, 1987).

En la actualidad se consiguen equipos que dan resultados confiables de una manera muy simple

y en un tiempo muy acotado, a diferencia de los métodos convencionales; siendo la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS), un ejemplo. En los últimos años este tipo de técnicas se han utilizado con bastante frecuencia en las industrias agrícola y alimentaria (Rodríguez-Otero *et al.*, 1997; Pillonel *et al.*, 2003; Aernouts, 2011) para el análisis y control de numerosos productos tales como cereales, lácteos, aceites y grasas, productos cárnicos, frutas, vegetales, etc. (Davies y Grant, 1987; Nicolai *et al.*, 2007; Cen y He, 2007).

### **Analizadores NIRS**

La región del infrarrojo (IR) es aquella fracción del espectro electromagnético comprendida entre el final de la región visible y la región de microondas. Dentro de dicha región, se pueden diferenciar distintas secciones en función del intervalo de longitudes de onda considerado, aunque las fronteras entre unas y otras son un tanto arbitrarias. La región NIRS del espectro electromagnético se extiende desde los 750 nm a los 2.500 nm, expresado como longitud de onda, o lo que es igual desde  $12.800\text{ cm}^{-1}$  a  $4.000\text{ cm}^{-1}$ , expresado en número de onda, como se observa en la Figura 4 (Osborne y Fearn, 1986; Osborne *et al.*, 1993; Shenk y Westerhaus, 1995; Naes *et al.*, 2002).



**Figura 4.** Espectro electromagnético (Fuente: Martínez, 2013).

El fundamento de la tecnología NIRS se basa en la interacción que tiene lugar entre la radiación electromagnética infrarroja y la muestra que, como consecuencia, genera cambios en el estado

vibracional de las moléculas componentes de la muestra. En otras palabras, cuando el haz de luz monocromática incide sobre la muestra, en función de su composición y de la naturaleza de los enlaces presentes en sus moléculas, realizará una absorción selectiva de energía y reflejará otra determinada cantidad, la cual es cuantificada por unos detectores presentes en el instrumento NIRS, siendo utilizada para cuantificar indirectamente la cantidad de energía infrarroja absorbida. Cabe señalar que sólo las moléculas o parte de moléculas que vibren con una frecuencia similar a la de la energía incidente, absorberán radiación infrarroja. Estas características se corresponden con los grupos funcionales carbono e hidrógeno (C-H), oxígeno e hidrógeno (O-H), nitrógeno e hidrógeno (N-H) de los compuestos orgánicos que forman parte tanto de los tejidos vegetales como animales. Por esta razón, la espectroscopía NIRS está prácticamente orientada a la determinación y cuantificación de los compuestos orgánicos que presentan los grupos funcionales anteriormente descritos; en consecuencia, de los espectros obtenidos en la región infrarroja se puede obtener información sobre la composición química de la muestra analizada (Burns y Ciurczak, 1992). Si bien los minerales (compuestos inorgánicos) como, por ejemplo, NaCl no absorben energía en la región del infrarrojo, algunos de ellos pueden ser estimados, de forma indirecta, a través de su asociación con moléculas orgánicas. Según Stewart y Whitaker (1983), los factores que afectan la reflectancia de las muestras son la concentración y los coeficientes de absorción de cada constituyente, debido a que, al incrementar la concentración, disminuye la reflectancia; el tamaño y forma de la partícula, a mayor tamaño la reflectancia disminuye; homogeneidad de la muestra; temperatura de la muestra, debido a que algunas bandas de absorción son sensibles a la temperatura, como por ejemplo, la banda de absorción del agua.

Estos instrumentos se emplean para el análisis fisicoquímico de muestras con bajo contenido de humedad e involucra una medición indirecta del parámetro en estudio, basados en la ley de

Lambert-Beer, según la cual la absorbancia resultante de una muestra que contenga una sustancia con capacidad de absorber radiación NIRS es directamente proporcional a la concentración de la sustancia que absorba dicha radiación (Osborne y Fearn, 1986; Williams y Norris, 1987; Burns y Ciurczak, 1992; Osborne *et al.*, 1993; Shenk y Westerhaus, 1995; Bertrand y Dufour, 2000).

Las etapas básicas en la aplicación de esta técnica incluyen la adquisición de datos, calibración, validación y análisis de rutina, dentro de las cuales la de mayor importancia y complejidad corresponde a la calibración del equipo en base al método de referencia (Bergera *et al.*, 2006). Una vez calibrado, permite obtener resultados confiables en minutos, sin destruir la muestra ni generar desechos. Otra ventaja que presenta este instrumento es que no requiere del uso de sustancias o reactivos peligrosos y/o contaminantes para el medio ambiente, ni material de vidrio que presentan un elevado costo. Esto se traduce en un bajo costo por muestra, debido en gran parte a la ausencia de tratamiento previo de la muestra, a la velocidad de medida y a la facilidad de uso en rutina (Hernández Hierro, 2008).

## **ANTECEDENTES**

### ***Quesos***

El proceso de maduración del queso se caracteriza por una serie de cambios físicos, químicos y microbiológicos complejos (Fernández Salguero *et al.*, 1989). En todos los sucesos que tienen lugar, los factores microbianos juegan un papel fundamental (Medina *et al.*, 1989). El conocimiento de la flora microbiana de un tipo de queso, es de importancia primordial para la puesta a punto de una tecnología adecuada de fabricación (Ordóñez *et al.*, 1980; Choisy *et al.*, 1990). Por ello, tanto las características fisicoquímicas propias del medio (pH,  $a_w$ , concentración salina y acidez) como

las condiciones ambientales (temperatura y humedad), influyen notablemente en la flora microbiana capaz de desarrollarse (Trépanier *et al.*, 1991).

Numerosos investigadores (Scarpellino y Kosikowski, 1962; Gaya y Bautista, 1989; Lau *et al.*, 1991) han encontrado diferencias microbiológicas según la procedencia y el tratamiento térmico al que se somete la leche de partida. La pasteurización, consigue la desnaturalización de enzimas (Khalid y Marth, 1990) y la destrucción de la flora termolábil, incluyendo bacterias lácticas y flora secundaria (McSweeney *et al.*, 1993).

Por otro lado, Costabel *et al.*, (2016, 2019) y Ramírez y Pineda (2010) en sus trabajos publicados coinciden en que la presencia de microorganismos patógenos en productos lácteos artesanales, se debe a que éstos ofrecen condiciones favorables para su crecimiento, porque generalmente son elaborados a partir de leche cruda sin pasteurización, empleando inadecuadas prácticas de manufactura, sin respetar los tiempos de maduración establecidos por el CAA. Esto, sumado a la alta humedad de estos productos y al hecho de no estar sujetos a controles de las condiciones fisicoquímicas durante la elaboración, almacenamiento, distribución y expendio, se convierte en un vehículo potencial de transmisión para *L. monocytogenes*. Por este motivo, es que en quesos artesanales el riesgo de encontrar *L. monocytogenes* es superior que en quesos de producción a escala industrial.

Marzocca *et al.* (2004), en su publicación no lograron aislar *L. monocytogenes* en quesos de pasta blanda trozados y envasados en la sala de fraccionamiento (n=20), como así tampoco en las cadenas de supermercados que corresponden a los sitios de venta (n=65).

***Uso de tecnología NIRS en quesos***

En la industria alimentaria se emplean instrumentos de medición rápida para determinar parámetros fisicoquímicos en diferentes matrices, de esta manera se optimizan los tiempos y costos por muestra analizada.

Fue en 1960 cuando un grupo de investigadores liderado por Karl Norris en los laboratorios de Beltsville del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), impulsó la utilización de la técnica NIRS en el estudio de matrices complejas de origen natural, aplicando por primera vez en el análisis químico de la soja; sin embargo, la aplicación más importante fue la determinación del contenido de proteína en el trigo. A partir de estas pruebas, el interés por la espectroscopia comenzó a aumentar extendiéndose como consecuencia de los avances producidos en la instrumentación y en la informática.

Si bien los reportes de aplicación NIRS en quesos son escasos, algunos de los trabajos publicados hacen uso de esta técnica para la determinación de parámetros fisicoquímicos como, por ejemplo, un experimento dirigido para determinar grasa, proteína y sólidos totales en quesos españoles, utilizando 117 muestras, llevado a cabo por Otero *et al.* (1997). Los coeficientes de correlación obtenidos por las curvas de calibración fueron de 0,99 para grasa y sólidos totales y de 0,98 para proteína, presentando un buen ajuste del modelo.

En 2001, Adamopoulos, Goula y Petropakis., en su trabajo publicado, hizo uso de la metodología NIRS para el control de los parámetros fisicoquímicos durante el proceso de producción de queso feta. El mismo concluye que la técnica NIRS es confiable, precisa y rápida, además de que permite reducir el error humano significativamente.

Sánchez, (2003) profundizó en las bases científico-técnicas del análisis cuantitativo NIRS de

leche y queso en respuesta a la demanda del sector lácteo de métodos analíticos que permitan un control de calidad rápido y fiable de todos sus productos (leche, queso, suero, mantequilla, etc.), obteniendo  $R^2$  superiores a 0,9 lo que indica una excelente capacidad para predicciones cuantitativas.

***Listeria monocytogenes en alimentos***

Hasta 1960 la listeriosis fue una enfermedad muy rara (menos de 500 casos notificados en todo el mundo). Entre 1960 y 1982 se notificaron más de 10.000 casos (Rocourt, Jacquet y Reilly, 2000). El primer brote conocido se produjo durante un largo periodo (1949-1957) en Halle (Alemania), asociado al consumo de diversos productos elaborados con leche no pasteurizada (Seeliger, 1961). Posteriormente se han descrito muchos brotes, presentando los más significativos en la Tabla 4.

**Tabla 4.**  
*Primeros brotes de listeriosis de origen alimentario*

<b>Año</b>	<b>País</b>	<b>Alimento</b>	<b>Nº de casos</b>	<b>Nº de muertes</b>
1949-1957	Alemania	Leche sin pasteurizar	Alrededor de 100	-
1979	EEUU	Lechuga, apio, tomate	23	5
1981	Canadá	Ensalada de col	41	18
1983	EEUU	Leche sin pasteurizar	49	14
1985	EEUU	Queso blando estilo mexicano	314	105
1983-1987	Suiza	Queso blando	122	33
1986	Austria	Vegetales, leche sin pasteurizar	28	5
1987-1989	Reino Unido	Paté	378	-
1989-1990	Dinamarca	Queso	26	6
1992	Francia	Lengua de cerdo en gelatina	279	-
1993	Francia	Rillettes de cerdo	38	-

**Nota.** Fuente: Valero (2011) Estudio de incidencia de la listeriosis en España. 30-33.

En 2010, la bacteria *L. monocytogenes* infectó en todo el mundo a unas 23.150 personas, de las cuales murieron 5.463, según un estudio realizado por expertos europeos de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

En 2016 se reportaron 2.555 casos confirmados de listeriosis por los 30 países de la UE-EEE con una tasa de incidencia del 0,47 por 100.000 habitantes. Alemania y Francia registraron el mayor número de casos (697 y 375 respectivamente) que corresponde al 42,0% de los casos reportados en la UE-EEE. Las mayores tasas de incidencia fueron observadas en Bélgica (1,15/100.000), Finlandia (1,22/100.000) y Francia (0,85/100.000). En España esta incidencia muestra una tendencia anual ascendente, debido a que se detectaron 161 casos en 2014, 206 en 2015 y 362 en 2016, como se visualiza en la Tabla 5.

**Tabla 5.**

Casos reportados y confirmados de listeriosis: número y tasa por cada 100.000 habitantes, EU-EEE, 2012-2016.

	2012		2013		2014		2015		2016		
	Número	Índice	Número	Índice	Número	Índice	Número	Índice	Casos confirmados	Índice	Casos reportados
Austria	36	0,43	36	0,43	49	0,58	38	0,44	46	0,53	46
Bélgica	86	1,36	66	0,85	84	1,07	83	0,92	104	1,15	104
Bulgaria	10	0,14	3	0,04	10	0,14	5	0,07	5	0,07	5
Croacia	0	0,00	0	0,00	4	0,09	2	0,05	4	0,10	4
Chipre	1	0,12	1	0,12	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
Republica Checa	32	0,30	36	0,34	38	0,36	36	0,34	47	0,45	47
Dinamarca	50	0,90	51	0,91	92	1,63	44	0,78	40	0,70	40
Estoria	3	0,23	2	0,15	1	0,08	11	0,84	9	0,68	9
Finlandia	61	1,13	61	1,12	65	1,19	46	0,84	67	1,22	67
Francia	346	0,53	369	0,56	373	0,57	412	0,62	375	0,56	375
Alemania	414	0,52	463	0,57	598	0,74	580	0,71	697	0,85	707
Grecia	11	0,10	10	0,09	10	0,09	31	0,29	20	0,19	20
Hungría	13	0,13	24	0,24	39	0,39	37	0,38	25	0,25	25
Islandia	4	1,25	1	0,31	4	1,23	0	0,00	0	0,00	0
Irlanda	11	0,24	8	0,17	15	0,33	19	0,41	13	0,28	13
Italia	112	0,19	143	0,24	132	0,22	153	0,25	179	0,30	179
Letonia	6	0,29	5	0,25	3	0,15	8	0,40	6	0,30	6
Lituania	8	0,27	6	0,20	7	0,24	5	0,17	10	0,35	10
Luxemburgo	2	0,38	2	0,37	5	0,91	0	0,00	2	0,35	5
Malta	1	0,24	1	0,24	1	0,24	4	0,92	1	0,23	1
Países Bajos	73	0,44	72	0,43	90	0,53	71	0,42	89	0,52	89
Noruega	30	0,60	21	0,42	29	0,57	18	0,35	19	0,36	19
Polonia	54	0,14	58	0,15	87	0,23	70	0,18	101	0,27	101
Portugal	-	-	-	-	-	-	28	0,27	31	0,30	32
Rumania	11	0,05	9	0,04	5	0,03	12	0,06	9	0,05	9
Eslovaquia	11	0,20	16	0,30	29	0,54	18	0,33	10	0,18	10
Eslovenia	7	0,34	16	0,78	18	0,87	13	0,63	15	0,73	15
España	109	-	140	-	161	-	206	-	362	-	362
Suecia	72	0,76	93	0,97	125	1,30	88	0,90	68	0,69	68
Reino Unido	183	0,29	192	0,30	201	0,31	186	0,29	201	0,31	201
EU-EEA	1754	0,38	1905	0,40	2275	0,47	2224	0,44	2555	0,47	2570

Nota. Fuente: European Centre for Disease Prevention and Control. Annual epidemiological report 2016. Listeriosis. Estocolmo: ECDC, 2018.

En febrero del 2021, los CDC y funcionarios de salud pública y reguladores en varios estados, y la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU. (FDA) dieron a conocer un informe donde cuatro estados de EE.UU. (Virginia, Meryland, New York, Connecticut) notificaron un total de 13 personas infectadas por una cepa de *L. monocytogenes*. Funcionarios de salud pública a nivel estatal y local realizaron entrevistas para recabar información acerca de los alimentos que consumieron durante el mes antes de enfermarse. De las 11 personas entrevistadas, ocho (el 73%) reportaron haber comido quesos frescos y quesos blandos estilo hispano. Entre las ocho personas, siete (el 88%) reportaron haber comido queso fresco (CDC, 2021).

En Argentina, hasta el presente, no se documentaron brotes asociados a alimentos contaminados. Debido a las características únicas de listeriosis, la vigilancia epidemiológica tradicional presenta debilidades para la detección temprana de brotes de esta enfermedad. Desde el Laboratorio Nacional de Referencia de Influenza y otros virus respiratorios (LNR) se registraron 310 casos de listeriosis invasiva desde el año 1985. En este contexto, y considerando que listeriosis no es de notificación obligatoria, se puede asumir una sub-notificación de la enfermedad y por ende el desconocimiento del real impacto en la salud pública de nuestro país (RSA, 2017).

En lo que respecta a queso blando, si bien como se ha mencionado anteriormente no existen en Argentina antecedentes de brotes asociados a alimentos contaminados, no puede descartarse este alimento como una probable vía de contaminación. En primer lugar, por tratarse de un alimento de alta humedad que se almacena a temperatura de refrigeración. Además, si bien es requisito que el queso blando se elabore con leche pasteurizada, se ha evidenciado que, particularmente en queserías pequeñas, las prácticas de manufactura no son adecuadas (Costabel *et al.*, 2016, 2019). Por lo tanto, es factible que se produzca contaminación con el microorganismo en etapas posteriores a la pasteurización.

Teniendo en cuenta que los quesos blandos son ampliamente consumidos en nuestro país, y que se ha reportado que los mismos han causado brotes por *L. monocytogenes*, en este trabajo de tesina se estudió como la composición fisicoquímica de los quesos puede condicionar la presencia de *L. monocytogenes* en este tipo de quesos.

# **OBJETIVOS**

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo General:**

El objetivo general de este trabajo de tesina fue estudiar la relación entre la presencia de *L. monocytogenes* y las características fisicoquímicas de quesos blandos disponibles en el mercado.

### **2.2. Objetivos Específicos:**

- Calibrar el equipo de medición rápida NIR DA 7250 (Perkin Elmer®), específicamente para composición de queso blando.
- Analizar la composición fisicoquímica de muestras comerciales de queso blando, utilizando el equipo NIR DA 7250 calibrado.
- Detectar la presencia de *L. monocytogenes* en muestras comerciales de queso blando.
- Identificar las principales variables físicoquímicas que pueden condicionar la presencia de *L. monocytogenes* en quesos blandos.

# **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

Las actividades correspondientes al desarrollo de este trabajo de tesina se realizaron en el Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria de la Estación Experimental Agropecuaria Rafaela (EEA Rafaela) del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

#### **3.1. Calibración de equipo NIR DA 7250**

El equipo se calibró según indicaciones del fabricante (Perkin Elmer Argentina ®), utilizando 40 muestras de queso blando provenientes de una industria láctea situada en las cercanías de la ciudad de Rafaela, los quesos pertenecían a lotes diferentes, elaborados a lo largo de 6 meses, con la finalidad de lograr variabilidad entre los mismos. Las muestras fueron analizadas simultáneamente por metodología infrarroja empleando el equipo de medición rápida NIR DA 7250 y por metodología de referencia correspondiente a cada parámetro (humedad, materia grasa, proteína y pH). Para la calibración del parámetro NaCl se procesaron 94 muestras.

##### **3.1.1. Tratamiento de las muestras**

3.1.1.1. *Recepción de las muestras.* Las muestras recibidas fueron identificadas con una codificación unívoca, la cual permitió una posterior trazabilidad para la recolección de datos. Se tomaron muestras representativas de la horma de queso (entre 500 g y 700 g).

3.1.1.2. *Conservación de las muestras.* Las muestras se conservaron a temperaturas de refrigeración (entre 2-4°C) en heladera destinada para tal efecto, hasta el momento de su análisis, efectuándose en el mismo día o dentro de las 48 horas desde la recepción.

3.1.1.3. *Descarte de las muestras.* Las muestras analizadas por el equipo fueron descartadas en cestos para residuos biodegradables destinados a tal fin. Las muestras analizadas por metodología

de referencia, junto a sus reactivos se descartaron en bidones codificados, según la Ley Nacional 24.051: Residuos Peligrosos.

### 3.1.2. Análisis de Referencia.

Los ensayos fisicoquímicos se llevaron a cabo por duplicado. Se analizaron los parámetros humedad, materia grasa, proteína, pH y NaCl, basados en métodos normalizados. Las muestras fueron pesadas en balanza analítica de cuatro dígitos (Mettler Toledo, modelo AL204).

3.1.2.1. *Determinación de humedad.* El contenido de humedad se determinó mediante secado de las muestras de queso blando hasta peso constante a 102°C en estufa, de acuerdo a la metodología del Instituto Argentino de Normalización y Certificación (IRAM) 14014 (2018). Para ello, en primer lugar, se pesó una cápsula limpia junto a unos 25 g de arena y una varilla de vidrio, que previamente habían sido secados durante 1 h a la misma temperatura del ensayo (102°C). Luego, se colocó, aproximadamente 3 g de queso blando molido en la cápsula y se pesó nuevamente (peso exacto). Posteriormente la muestra se homogeneizó con la arena con la ayuda de la varilla para evitar la formación de una capa que dificulte la evaporación y se llevó a estufa a 102°C hasta pesada constante (Figura 5), aproximadamente durante 6 h. Pasado ese tiempo, se retiró la cápsula de la estufa, se enfrió en desecador y registró su peso nuevamente.

El contenido de humedad se determinó mediante las ecuaciones 1 y 2, calculando la diferencia entre el peso de la muestra húmeda y la muestra seca. El resultado se expresó como porcentaje en la masa del queso (% p/p).

$$(1) \% \text{EXTRACTO SECO} = \frac{C - A}{B - A} * 100$$

$$(2) \% H = 100 - \% \text{EXTRACTO SECO}$$

A = peso de la cápsula con la arena y varilla

B = peso de la cápsula con la arena, varilla y la muestra fresca

C = peso de la cápsula con la arena, varilla y la muestra desecada

B – A = Peso de la muestra fresca

C – A = Peso de la muestra desecada



**Figura 5.** Cápsulas para determinación de humedad en queso blando según norma IRAM 14014 (2018).

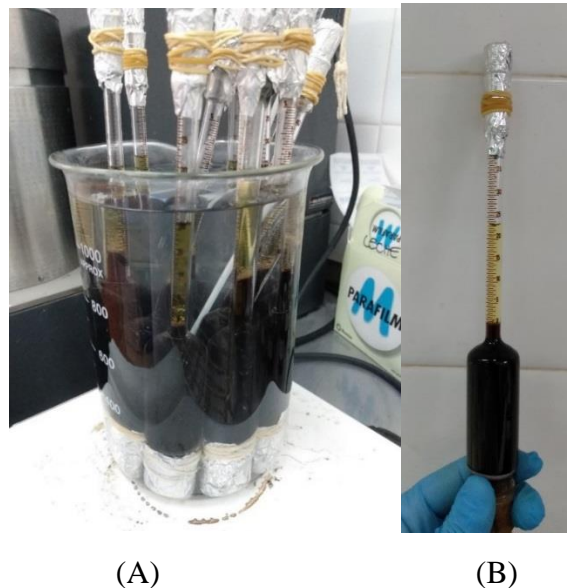
*3.1.2.2. Determinación de materia grasa.* El contenido de materia grasa en queso blando se determinó aplicando el método butirométrico de Gerber Van Gulik según norma IRAM 14003-8 (2007), empleando un butirómetro específico para queso. Para ello se pesó aproximadamente 3 g de muestra molida en la copa de vidrio perforado y se introdujo en el cuerpo del butirómetro. Por la abertura superior pequeña se agregó ácido sulfúrico (densidad 1,52) hasta llenar completamente el bulbo del butirómetro y luego se procedió a tapar la abertura. Se llevaron los butirómetros cerrados a baño maría de 65°C (Figura 6-A) hasta obtener una digestión completa de la muestra, agitando esporádicamente. Una vez digeridas las muestras se retiraron del baño y se les adicionó 1 ml de alcohol amílico, tapando nuevamente la abertura, y se agitó rápidamente. Se agregó ácido sulfúrico hasta la marca del 15 % de la escala. Se cerró, mezcló y se reguló la temperatura durante

10 minutos en el baño maría a 65°C. Por último, se centrifugó (centrífuga Gerber), durante 10 minutos, con una aceleración centrífuga relativa de 350 g ± 50 g. Pasado el tiempo de centrifugación, los butirómetros se colocaron en el baño para estabilizar la grasa, durante 10 minutos, y por último se los retiró y realizó la lectura ajustando con el tapón de la copa para llevar la parte inferior de la columna grasa al cero de la escala (Figura 6-B). Luego se calculó el contenido de materia grasa en función a la ecuación 3:

$$(3) \text{ MG} = A - B$$

A: lectura obtenida en la parte superior de la columna de grasa.

B: lectura obtenida en la parte inferior de la columna de grasa.



**Figura 6.** (A) Butirómetros en baño maría a 65°C para determinación de grasa por el método Van Gulik según norma IRAM 14003-8 (2007). (B) Volumen de grasa presente en la columna del butirómetro.

*3.1.2.3. Determinación de proteínas.* El contenido de proteínas totales en queso blando fue realizado por personal entrenado del Laboratorio de Producción Animal del INTA EEA Rafaela. El mismo se calculó sobre la base del contenido de nitrógeno, determinado por el método Kjeldahl,

adaptación interna basada en los lineamientos de la norma ISO FDIS 8968-3 (2004). El mismo consiste en una digestión de una porción de ensayo con ácido sulfúrico concentrado, usando un catalizador de cobre (II), lo que provoca la destrucción oxidativa de la materia orgánica de la muestra y convierte el nitrógeno orgánico en iones de amonio. Luego se alcaliniza y se destila en una solución ácida. El cálculo de Nitrógeno total se realiza a partir del amoníaco ligado.

La determinación se realizó sobre una porción de 0,1 g de muestra de queso procesada que se colocó en un tubo de digestión. Luego se adicionó 6 ml de ácido sulfúrico concentrado y 0,7 g de catalizador. Esta mezcla se llevó a bloque digestor marca Selecta para 40 muestras, donde se procedió a digerir la muestra empleando la siguiente rampa de tiempo y temperatura: 30' a 125°C, 30' a 270°C y 120' a 400°C, al final el líquido se torna transparente y límpido. Durante esta operación el carbono de la muestra se convierte en CO<sub>2</sub>, el hidrógeno en H<sub>2</sub>O y la mayor parte del nitrógeno en sulfato de amonio. Una vez finalizada la digestión, se agregaron 20 ml de agua destilada y se tituló con ácido sulfúrico 0,1 N, agregando NaOH (40 % p/v) en exceso, para la alcalinización del medio. El amonio liberado se destiló en un vaso de titulación, con solución indicadora de ácido bórico al 1 % p/v, rojo de metilo (0,1 % p/v) y verde de bromocresol (0,1 % p/v). La titulación se llevó a cabo en forma automática con detección del punto final usando un sistema fotométrico o de pH, a través del equipo Kjeltac™ 2300 Based on Tecator (FOSS® Argentina).

El volumen en ml que se obtiene de la solución titulante utilizada para neutralizar el N presente en la muestra se empleó para realizar los cálculos correspondientes y así obtener el % de nitrógeno usando la ecuación 4:

$$(4) \% NT = \frac{[1,4*(V_{gastado} - V_{blanco})*0,1*1]}{g \text{ muestra}}$$

Para expresar el resultado en g % de proteínas totales, se multiplicó el valor obtenido de NT por el factor 6,38, correspondiente a las proteínas provenientes de productos lácteos empleando la ecuación 5:

$$(5) \% \text{ PROTEÍNA} = \% \text{ NT} * 6,38$$

*3.1.2.4. Determinación de pH.* El pH representa la acidez actual (concentración de H<sup>+</sup> libres). La medición del pH en las muestras de queso blando se realizó de acuerdo al método potenciométrico estándar de APHA (Bradley *et al.*, 1993), para quesos según la Revista Argentina de Lactología (INLAIN 2012). Para ello, se utilizó un peachímetro portátil, calibrado, modelo pH 3310WTW, (Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH, Alemania), provisto de un electrodo de vidrio de penetración, relleno de una solución de cloruro de potasio (KCl) 3 M. La calibración se realizó con soluciones tamponadas de referencia, proporcionadas por el equipo, de pH 7,00 y de pH 4,01. La medición se efectuó por inmersión del electrodo de pH en un homogeneizado de queso triturado en agua destilada en una proporción 1:1 como se muestra en la Figura 7. La lectura de pH se realizó una vez que se estabilizó el valor del mismo y se registró el valor arrojado por el visor del peachímetro de cada una de las muestras analizadas.



**Figura 7:** Medición de pH en queso blando de acuerdo al método potenciométrico estándar de la APHA (Bradley *et al.*, 1993).

*3.1.2.5. Determinación de cloruro de sodio.* El ensayo consiste en la destrucción de la materia orgánica presente en la muestra de queso con ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) y permanganato potásico ( $\text{KMnO}_4$ ) en presencia de un exceso de nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$ ), y posterior valoración del  $\text{AgNO}_3$  no combinado con los cloruros. La valoración se realiza con tiocianato de amonio ( $\text{NH}_4\text{SCN}$ ) en presencia de sulfato de hierro III y amonio como indicador, según norma IRAM 14023-2 (2007). Para ello se comenzó pesando 2 g de queso en un erlenmeyer de 250 ml al que se le adicionó 25 ml de  $\text{AgNO}_3$  0,1 M y 25 ml de  $\text{HNO}_3$  65 %. Se agitó y llevó a plancha calefactora IKA® C-MAG HS 7 S1 donde se calentó hasta ebullición, y se agregó 10 ml de una solución de  $\text{KMnO}_4$  al 5 % manteniendo la muestra en ebullición suave. Cuando la mezcla de reacción se decoloró, se agregó 5 ml más de solución de  $\text{KMnO}_4$ . La presencia de un exceso de permanganato (color marrón) indica que la destrucción de la materia orgánica se ha completado. El exceso de  $\text{KMnO}_4$  se eliminó por adición de una pequeña cantidad de glucosa. Luego se retiró la mezcla de la plancha calefactora y se le adicionó 100 ml de agua bidestilada y 2 ml de una solución saturada de sulfato de hierro (III)

y amonio y se mezcló. Inmediatamente se valoró el exceso de nitrato de plata con  $\text{NH}_4\text{SCN}$  0,1 N hasta coloración rojo-marrón persistente durante 30 segundos. Se registró el volumen de titulante gastado.

Además de las muestras, se realizó el ensayo de un blanco reemplazando los 2 g de muestra por 2 ml de agua bidestilada.

Se procedió a realizar los cálculos correspondientes empleado las ecuaciones 6 y 7.

$$(6) \% \text{ Cloruros} = \frac{(V1-V2) * 0,0001 * 35,5}{P} * 100$$

V1 = Volumen (ml) de tiocianato de amonio utilizado en la valoración del blanco.

V2 = Volumen (ml) de tiocianato de amonio utilizado para la muestra

N = Normalidad del tiocianato de amonio (0,1 N)

P = Peso en gramos de la muestra

$$(7) \% \text{ NaCl} = \frac{(V1-V2) * 0,0001 * 58,44}{P} * 100$$

### 3.1.3. Medición en equipo NIR DA 7250.

Las muestras se analizaron en el equipo en dos formatos: en trozo y rallado, así es como se pudo evaluar cuál de los dos formatos brinda resultados más reproducibles. Para la determinación de la muestra rallada, se trituro el queso blando, con ayuda de una procesadora, hasta obtener una pasta totalmente homogénea, esta última se colocó en el platillo porta muestra, provisto por el equipo, teniendo la precaución de que la muestra no sobrepase los bordes superiores del plato, como se muestra en la Figura 8. Para el análisis de la muestra en trozo, se cortó una rebanada de queso blando de un espesor tal que no sobrepase los bordes superiores del platillo porta muestra y

se lo colocó en el mismo para proceder a su análisis. El platillo porta muestra se introdujo en el equipo NIR DA 7250 seleccionando el canal correspondiente a “QUESO ANN” el cual arroja los valores para los parámetros humedad, materia grasa, proteína, pH y NaCl, ejecutándole la orden para que el mismo comience el análisis. Para la realización de este procedimiento se siguen los pasos descritos en el protocolo de uso de equipo (NIR DA 7250) citado en el Anexo I.



**Figura 8.** Preparación de muestra para analizar por el equipo NIR DA 7250.

#### 3.1.4. Curva de calibración.

La calibración de la curva fue realizada por medio de una plantilla Excel de validación (Perkin Elmer®), tal como se muestra en el Anexo II, utilizando el método de regresión lineal. Para ello, los resultados fisicoquímicos junto a los resultados arrojados por el equipo NIR fueron ingresados en dicha plantilla, de forma tal de correlacionarlos entre sí. Este procedimiento se realizó tanto para las muestras ralladas como para las muestras en trozo.

Para evaluar y aceptar la calibración se observaron los siguientes parámetros estadísticos: el coeficiente de determinación en la calibración ( $R^2$ ), error estándar de predicción (SEP) y la prueba

T. Los  $R^2$  son obtenidos de la comparación de los análisis de referencia de todas las muestras con las predicciones del NIR. El SEP, se define como un término de error, en unidades de la variable; en este caso concentración de humedad, grasa, proteína y NaCl. A medida que incrementa el valor SEP, aumentan las diferencias entre el valor medido (química húmeda) y el observado (NIR). El valor correspondiente a la prueba T, arrojado por la plantilla, permite determinar estadísticamente si el sesgo es diferente de 0 (cero). Si esta prueba arroja un valor superior a 2,499 (valor tabulado, independiente del número de muestras utilizado), se debe aceptar el valor de ajuste propuesto en la plantilla. Dicho valor de ajuste es el sesgo o también conocido como bias por su traducción en inglés. Este último se establece calculando el promedio de las diferencias obtenidas entre los datos de química húmeda y los arrojados por el NIR, en valores absolutos. La forma en que el programa lo calcula se muestra en la ecuación 8.

$$(8) \text{ BIAS} = \sum \frac{(Q.H - NIR)}{N}$$

Donde:

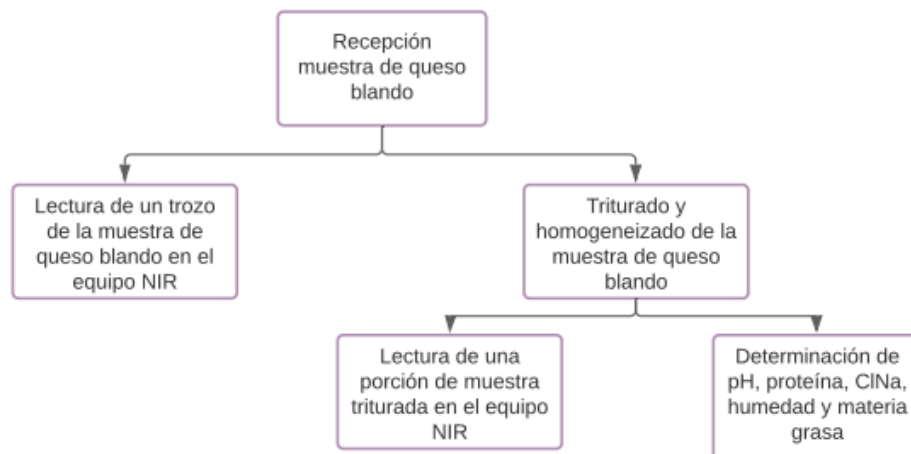
Q.H. = Valor obtenido por química húmeda.

NIR = Valor obtenido por equipo NIR.

N = Número de muestras.

Posteriormente los valores de bias propuestos fueron transferidos al equipo de medición rápida para cada parámetro en estudio.

En la Figura 9 podemos ver un diagrama donde se describen las actividades realizadas para la calibración del equipo NIR DA 7250.



**Figura 9.** Descripción de las actividades realizadas para la calibración del equipo NIR.

### 3.1.5. Validación.

Desde el punto de vista estadístico, la etapa de validación consiste en la comparación, mediante diferentes criterios estadísticos, del valor verdadero y el valor estimado (Peldoza, 1999); especificando, que en la tecnología NIRS, se considera como valor verdadero aquel determinado mediante el método de referencia mientras el valor estimado es aquel predicho en la calibración NIRS.

Se llevó a cabo una validación de la calibración obtenida en el punto 3.1.4, utilizando 10 muestras de queso blando independientes a las utilizadas en la calibración. Las mismas se analizaron paralelamente utilizando metodología de referencia y metodología infrarroja tal cual como se describen en los puntos 3.1.2 y 3.1.3. Los resultados fisicoquímicos de referencia fueron introducidos nuevamente en una plantilla Excel de validación para relacionarlos con los resultados arrojados por el equipo NIR. Finalmente, se evaluó el sesgo, con su correspondiente prueba T, asociado a cada parámetro.

### **3.2. Análisis de composición fisicoquímica de muestras comerciales de queso blando.**

#### 3.2.1. Muestreo

Se analizaron un total de 86 muestras de queso blando adquiridas en diferentes locales comerciales de Rafaela y zona, incluyendo supermercados, almacenes, despensas, minimercados y fiambrerías barriales. Se buscaron quesos de pasta blanda, tipo Cuartirolo y Cremoso, de diferentes marcas, fraccionados (listos para la venta) o trozado a pedido del consumidor.

#### 3.2.2. Tratamiento de las muestras

*3.2.2.1. Recepción de las muestras.* Las muestras recibidas fueron identificadas con una codificación unívoca. Se tomaron muestras representativas de la horma de queso (entre 500 y 700 g).

*3.2.2.2. Conservación de las muestras.* Las muestras se conservaron a temperaturas de refrigeración (entre 2-4°C) en heladera destinada para tal efecto, hasta el momento de su análisis, efectuándose en el mismo día o dentro de las 48 horas desde la recepción.

*3.2.2.3. Descarte de las muestras.* Las muestras analizadas por el equipo fueron descartadas en cestos para residuos biodegradables destinados a tal fin. Las muestras analizadas por metodología de referencia, junto a sus reactivos se descartaron en bidones codificados, según la Ley Nacional 24.051: Residuos Peligrosos.

#### 3.2.3. Análisis de las muestras.

Se efectuaron las siguientes determinaciones:

*3.2.3.1. Medición de pH, NaCl y composición por NIR.* La muestra de queso blando se trituró mediante una procesadora eléctrica, hasta obtener una pasta totalmente homogénea. A partir de la muestra procesada, se determinó el pH y el contenido de NaCl empleando los métodos descriptos

en los puntos 3.1.2.1 y 3.1.2.5 respectivamente. Seguidamente se determinaron los parámetros humedad, grasa y proteína utilizando el equipo NIR DA 7250 que se muestra en la Figura 10, previamente calibrado en el punto 3.1.



***Figura 10.*** NIR DA 7250.

**3.2.3.2. Análisis de Actividad de agua ( $a_w$ ).** Esta determinación fue realizada por un laboratorio externo, debido a que el LCLA no cuenta con el equipamiento necesario para realizar este análisis. Se determinó el contenido de  $a_w$  empleando el equipo Aqua Lab CX-2 a 20°C. El análisis se realizó por triplicado.

### **3.3. Análisis microbiológico de muestras comerciales de queso blando.**

#### **3.3.1. Análisis de *L. monocytogenes***

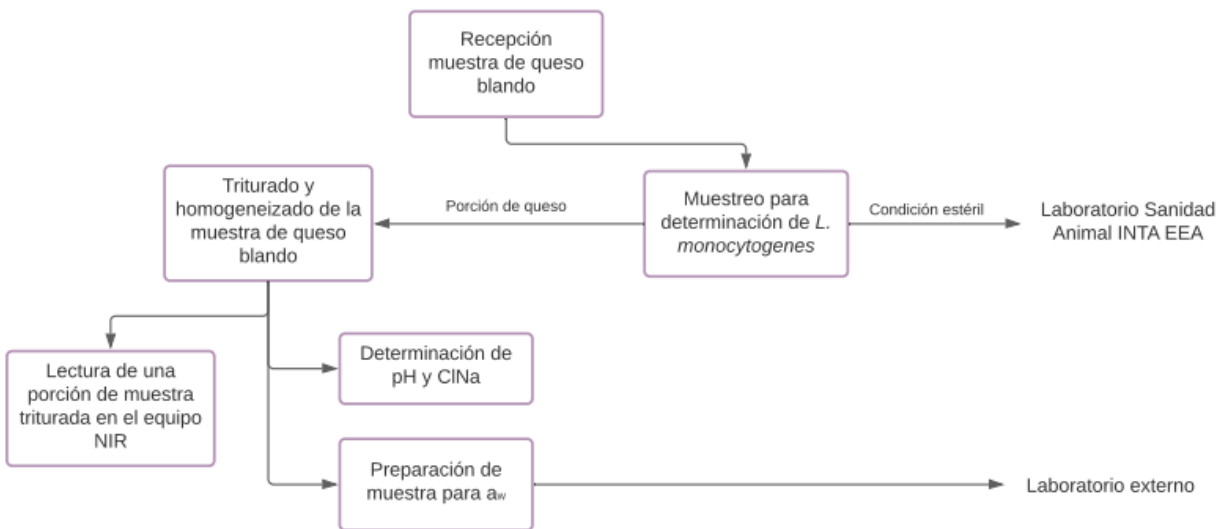
La determinación microbiológica de *L. monocytogenes* en las 86 muestras de queso blando se realizó en el Laboratorio de Sanidad Animal de la EEA INTA Rafaela, siendo llevadas a cabo por

personal entrenado bajo las condiciones adecuadas para asegurar la correcta manipulación de las muestras presuntas de contener este patógeno. Para la detección de *Listeria* spp. se utilizó la metodología descrita en la norma ISO 11290-1 (2004). La misma consiste en un enriquecimiento primario y luego un enriquecimiento secundario. Para el enriquecimiento primario se colocó 10 g de muestra de queso blando en 90 ml de caldo Half Fraser (Oxoid®, CM1053), como se observa en la Figura 11. Se incubó a 30°C durante 24 h en aerobiosis. Posteriormente se realizó el enriquecimiento secundario, para ello se inoculó 0,1 ml del cultivo en 10 ml de caldo Fraser (Oxoid®, CM0895 (ISO) y se incubó las muestras a 37°C durante 24 h en aerobiosis. Luego, 0,1 ml del caldo Fraser se sembró en la superficie de una placa de agar OXFORD (Oxoid®, CM0856). *L. monocytogenes* ATCC 19115 fue utilizada como control positivo de la técnica. Las colonias presuntivas que desarrollaron en el agar OXFORD fueron evaluadas utilizando las siguientes pruebas bioquímicas para realizar la aproximación fenotípica al género *Listeria*: tinción de Gram (+), reacción de catalasa (+), oxidasa (-), hidrólisis de esculina (+), prueba de CAMP (+).

En la Figura 12 se presenta un esquema que resume las actividades realizadas para cumplir con los puntos 3.2 y 3.3.



*Figura 11.* Muestreo de queso para ensayo de *L. monocytogenes*.



*Figura 12.* Procedimiento recepción de muestras comerciales de queso blando.

**3.4. Identificación de las variables fisicoquímicas de mayor impacto sobre la presencia de *L. monocytogenes* en quesos blandos.**

Los resultados se colectaron en una base de datos a fin de evaluar la relación entre la composición fisicoquímica de los quesos blandos y la presencia de *L. monocytogenes* en los mismos.

**3.5. Análisis estadístico.**

Para la calibración y validación del equipo, se empleó una plantilla estadística, provista por el servicio técnico del equipo. A partir de la misma, se obtuvieron los datos estadísticos  $R^2$ , SEP, prueba T y bias, los cuales permitieron evaluar la calibración y validación del NIR DA 7250.

Los parámetros físicoquímicos se analizaron a través del programa InfoStat (Grupo InfoStat, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina), a partir del cual se determinó Media (X), Desviación Estándar (DS), Máximos (Máx.) y Mínimos (Mín.) de cada uno de los parámetros analizados en las muestras de queso blando.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Calibración NIRS DA 7250**

Para la calibración del equipo se utilizaron 40 muestras de queso blando provenientes de una industria láctea situada en las cercanías de la ciudad de Rafaela, tal como se describió en la sección de Materiales y Métodos.

Según Shenk y Westerhause (1993), la calibración consiste en relacionar los valores de absorción en la región NIRS con los valores de referencia de los métodos de laboratorio. Para ello a partir de los resultados colectados durante el análisis de los parámetros evaluados, se elaboró una base de datos (Anexo IV). Se eliminaron los valores atípicos, de acuerdo a lo estipulado en la norma ISO 21543 IDF 201 (2020), considerando valor atípico a aquellas observaciones que no siguen el mismo modelo estadístico que el resto de los datos. Aplicado a los resultados obtenidos en este trabajo de tesina, se eliminaron los residuales (referencia – NIR) superiores a dos desvíos estándar.

#### **4.1.1. Curva de calibración**

Los valores obtenidos del análisis fisicoquímico y los estimados por NIR presentaron una relación lineal, con la que se calculó un coeficiente de regresión ( $R^2$ ) que determinó el ajuste de las muestras al modelo para cada componente. En la Tabla 6, se muestran los resultados del estudio de correlación ( $R^2$ ) de los diferentes parámetros analizados, allí se especifica la condición física en que se encontraba la muestra.

**Tabla 6.**

*Coefficientes de correlación obtenidos por los métodos referencia-NIRS en la etapa de calibración.*

<b>Estado físico de la muestra</b>		<b>Humedad</b>	<b>Grasa</b>	<b>Proteína</b>	<b>pH</b>	<b>NaCl</b>
<b>Trozo</b>	Coeficiente (R <sup>2</sup> )	0,75	0,85	0,77	0,02	0,45
<b>Rallado</b>	Coeficiente (R <sup>2</sup> )	0,82	0,94	0,82	0,02	0,41

**Nota.** (R<sup>2</sup>) coeficiente de correlación. Fuente: Autoría propia.

En la Tabla 6 se pueden observar como los R<sup>2</sup> obtenidos para las muestras trozadas son inferiores a los conseguidos por las muestras ralladas, siendo esta última la correlación más favorable para los componentes humedad, grasa y proteína con un coeficiente de correlación 0,82, 0,94 y 0,82 respectivamente, en todos los casos usando una población superior a 32 muestras una vez eliminados los outliers. De esta manera se determinó que la muestra debe ser rallada antes de analizarlas por el equipo NIR. Estos resultados se condicen con lo expresado por Sánchez (2003) quien observa que los R<sup>2</sup> de las muestras homogeneizadas son mayores que los de las muestras intactas.

En las Figuras 13, 14 y 15, se puede ver en mayor profundidad los diagramas de dispersión de los datos correspondientes a humedad, grasa y proteína, respectivamente, que derivan del análisis de las muestras de queso blando. En estas gráficas se identifica el rango de valores con el que se colectaron las muestras, para cada parámetro evaluado.

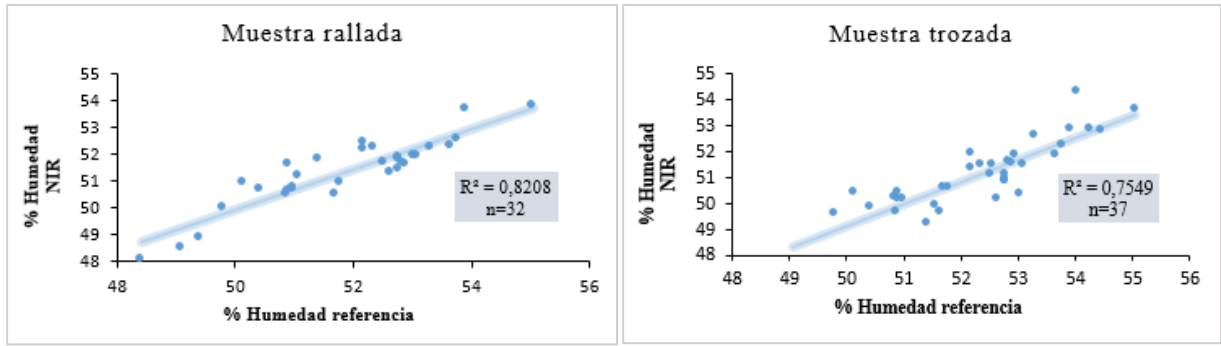


Figura 13. Diagrama de dispersión sobre los valores de humedad (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=32. Muestra trozada: n=37

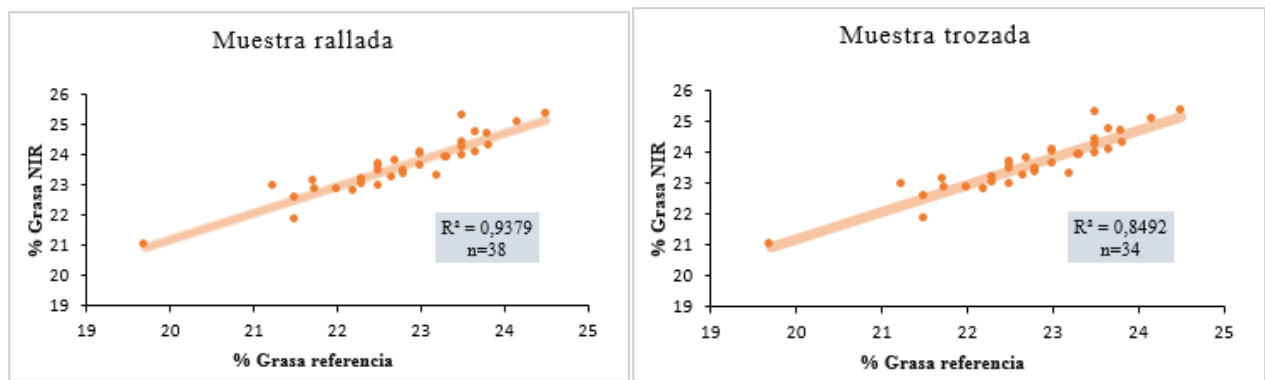


Figura 14. Diagrama de dispersión sobre los valores de materia grasa (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=38. Muestras trozada: n=34

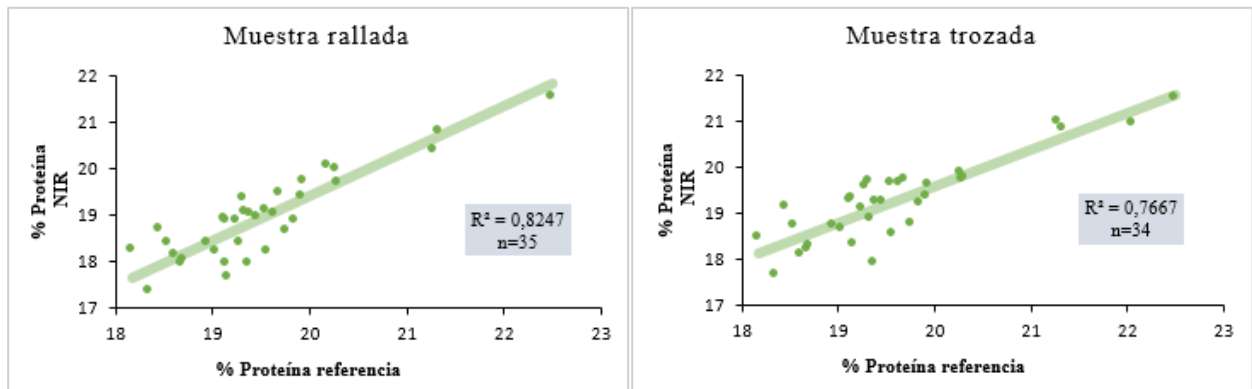
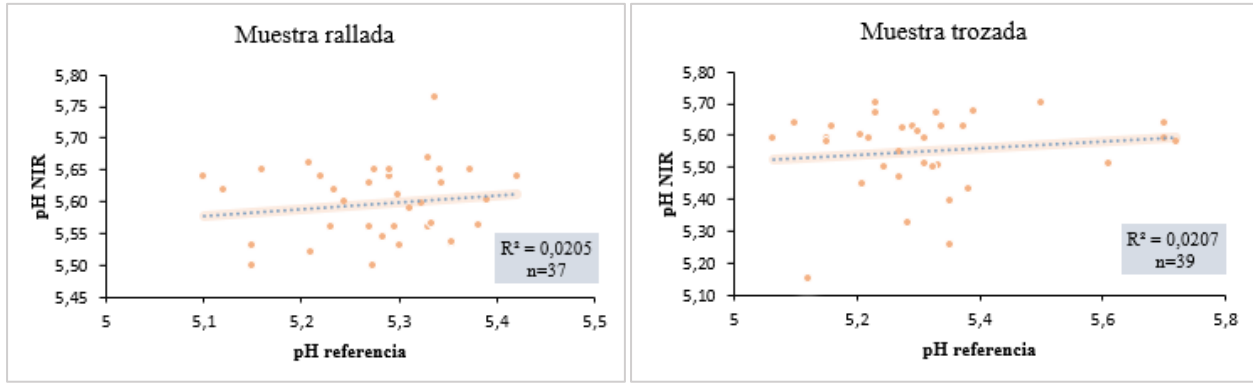


Figura 15. Diagrama de dispersión sobre los valores de proteína (% p/p). Datos reales versus estimados. Muestra rallada: n=35. Muestra trozada: n=34

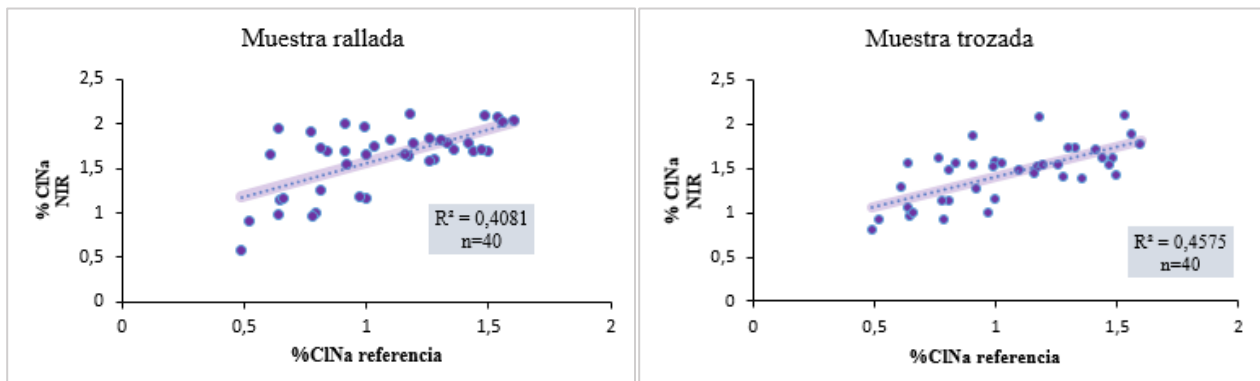
En la Figura 16, se muestra el diagrama de dispersión de los datos correspondientes a las muestras analizadas para el parámetro pH. Los coeficientes obtenidos en este caso no podrían emplearse para

predecir. Debido a que la medición de pH por referencia resulta un método sencillo, fácil de determinar y rápido, que requiere la misma preparación de muestra que el equipo NIR, se decidió analizar las muestras por metodología de referencia tal como se indica en el punto 3.2.3.1.

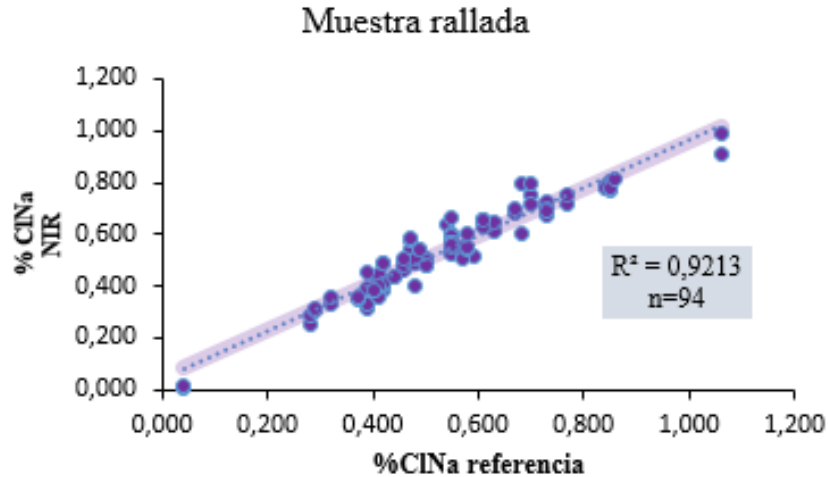


**Figura 16.** Diagrama de dispersión sobre los valores de pH. Datos reales versus estimados.  
Muestra rallada: n=37. Muestra trozada: n= 39

Para el parámetro NaCl, las 40 muestras analizadas no fueron suficientes para obtener una predicción favorable. Por ello, se analizaron 54 muestras adicionales logrando un total de 94 muestras para realizar el ajuste del equipo, lo que finalmente reportó un coeficiente de correlación de 0,92. En las Figuras 17 y 18 se observan los diagramas de dispersión de los datos correspondientes a NaCl para 40 y 94 muestras respectivamente.



**Figura 17.** Diagrama de dispersión sobre los valores de NaCl (% p/p). Datos reales versus estimados.  
Muestra rallada: n=40. Muestra trozada: n= 40



**Figura 18.** Diagrama de dispersión sobre los valores de NaCl (% p/p). Datos reales versus estimados.  
Muestra rallada: n=94

De acuerdo a lo establecido en el manual del equipo NIR y a las sugerencias del servicio técnico del mismo, se considera que con un  $R^2$  mayor a 0,70 existe una buena correlación entre los datos obtenidos como valor verdadero y los arrojados por el equipo, y un  $R^2$  superior a 0,90 expresa una fuerte correlación de los mismos.

Por otro lado, Shenk y Westerhaus (1996) y Williams (2003) expresaron que la precisión para la calibración con base en los valores de  $R^2$  se puede definir en los siguientes niveles de precisión de la calibración: hasta 0,25 las calibraciones NIRS no pueden utilizarse, entre 0,26 y 0,49 la correlación es muy pobre, valores de  $R^2$  entre 0,50 y 0,65 indican que se puede discriminar entre valores altos y bajos; valores de  $R^2$  entre 0,66 y 0,81 para hacer predicciones aproximadas; valores de  $R^2$  entre 0,82 y 0,90 indican una precisión de las predicciones muy alta; y ecuaciones con valores de  $R^2$  mayores que 0,91 permiten predicciones excelentes.

Comparando resultados reportados en trabajos anteriores, con las ecuaciones generadas en esta investigación se observó que presentan una eficiencia de predicción alta, siendo respaldada esta afirmación por estadísticas comparativas donde se obtuvieron correlaciones de 0,82 para proteína y

humedad lo cual indica una buena predicción y  $R^2$  de 0,92 y de 0,94 para NaCl y grasa respectivamente por lo que también indican una muy alta confiabilidad de estas ecuaciones para predecir, utilizándose con confianza en análisis de rutina. Esto también se condice con lo que expresan autores como Shenk y Wester Haus (1996), los cuales afirman que una buena calibración puede tener como mínimo un  $R^2$  de 0,69, lo que significa que la calibración realizada es cuantitativamente viable para los parámetros humedad, grasa, proteína y NaCl; no así para el pH ( $R^2$  0,02) donde el coeficiente de correlación obtenido es inadecuado para predecir.

Cabe destacar, además, que para el caso del NaCl, al ser un componente inorgánico y que por ende no es capaz de absorber energía en la región del infrarrojo, el equipo estima su valor, de forma indirecta, a través de su asociación con moléculas de agua, a diferencia del resto de los componentes que son determinados de forma directa. Es por ello que requiere de más muestras para brindar una mejor predicción.

#### 4.1.2. Ajuste de equipo NIR DA 7250

El ajuste de la curva de calibración de las lecturas realizadas por el equipo NIR consiste principalmente en una corrección a la diferencia sistemática que se origina entre los valores obtenidos por química húmeda y los predichos por el equipo NIR. Para hacer este ajuste se dispuso de una plantilla Excel de calibración que permitió visualizar los valores del sesgo obtenido para cada una de las variables en estudio, los cuales se muestran, en la Tabla 7. La diferencia obtenida a partir de la relación entre los resultados referencias-NIR se fundamenta en base al valor T arrojado en dicha prueba, donde valores superiores a 2,499 (valor tabulado) exigen aceptar la corrección propuesta por la misma, a través del bias. Los bias calculados en dicha plantilla, se tomaron para realizar el ajuste del canal “queso blando rallado” del equipo. En la Tabla 7 se pueden observar los bias de cada parámetro que fueron introducidos al equipo para ajustar la diferencia entre valores

referencia y NIR.

La pendiente, o también llamada slope por su traducción en inglés, describe la inclinación de la recta con respecto al eje de abscisas, modificando la sensibilidad espectral del resultado. Como podemos observar en la Tabla 7, este valor estadístico se mantuvo en todos los casos en uno, valor acorde con las indicaciones del fabricante.

**Tabla 7.**

*Valores de bias obtenidos para cada parámetro. Etapa de Ajuste NIRS.*

<b>n</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Slope</b>	<b>Bias</b>	<b>Coefficiente de correlación</b>	<b>SEP</b>	<b>Valor T</b>
32	<b>Humedad</b>	1	0,525	0,82	0,831	4,547
38	<b>Grasa</b>	1	-0,444	0,94	0,511	-10,725
35	<b>Proteína</b>	1	0,447	0,82	0,622	6,016
94	<b>NaCl</b>	1	0,0003	0,92	0,050	-0,059

**Nota.** n: cantidad de muestras.

#### 4.1.3. Validación de la calibración

Para validar que el instrumento funciona con precisión, se construyó una nueva base de datos empleando la plantilla Excel provista por el fabricante del equipo, donde se valida la relación de linealidad entre las variables en estudio (referencia-NIR).

Los datos estadísticos evaluados fueron el  $R^2$ , el SEP y la prueba T acorde a lo estipulado en la norma ISO 21543 IDF 201 (2020). Los resultados de esta última etapa se muestran en la Tabla 8.

**Tabla 8.**

*Datos estadísticos obtenidos de la composición química de los quesos blandos analizados en la etapa de validación.*

	<b>Humedad</b>	<b>Grasa</b>	<b>Proteína</b>	<b>NaCl</b>
Coefficiente ( $R^2$ )	0,96	0,97	0,94	0,96
SEP	1,213	1,056	0,908	0,251
Valor T	8,818	8,502	-7,134	13,967

Los resultados estarían indicando que el 95% de los datos tendrán un error de 2 veces el SEP. Se estima que estos datos son susceptibles de mejora mediante el incremento del número de muestras en el grupo de calibración y validación.

Así mismo, de acuerdo a lo descrito por la norma ISO 21543 IDF 201 (2020), los datos estadísticos obtenidos en la verificación del ajuste indican que la calibración fue cuantitativamente viable para los parámetros humedad, grasa, proteína y NaCl.

Con las actividades realizadas en este trabajo se asume que el equipo se encuentra calibrado y es capaz de emitir resultados confiables para las muestras analizadas en el laboratorio. Luego de la validación del ajuste aún se observan valores T superiores a 2,499, razón por la cual se planifica incorporar nuevas muestras a la calibración, para ampliar el rango de trabajo y de esta forma lograr una calibración más robusta reduciendo así los errores de predicción (referencia-NIR).

#### **4.2. Análisis de composición fisicoquímica de muestras comerciales de queso blando**

Según el rótulo de los quesos muestreados, los mismos fueron: 63 % Cremosos, 6 % Cremosos doble crema, 19 % Cremosos Port Salut y 13 % Cuartirolo. El 54 % fue adquirido en almacenes, el 21 % en supermercados, el 17 % en despensas y el 7 % en hipermercados.

El 93 % de los quesos analizados eran fraccionados y envasados en el punto de venta, de los cuales el 80 % se fraccionaba en el momento de la venta a pedido del consumidor y el 20 % restante ya estaba fraccionado, disponible para el consumidor.

La composición química de las muestras de queso blando determinadas a través de los métodos descritos en el punto 3.2 se muestran en el Anexo IV. Se menciona que, si bien en este trabajo se logró calibrar el equipo NIRS para el parámetro NaCl, las muestras de quesos comerciales fueron analizadas por método de referencia, debido a que, al momento de recibir dichas muestras, el canal no estaba aún calibrado.

En la Tabla 9 se resumen las medias, desviación estándar, el valor mínimo y máximo de cada parámetro, derivado del análisis de la composición fisicoquímica de las 86 muestras de queso blando.

**Tabla 9.**

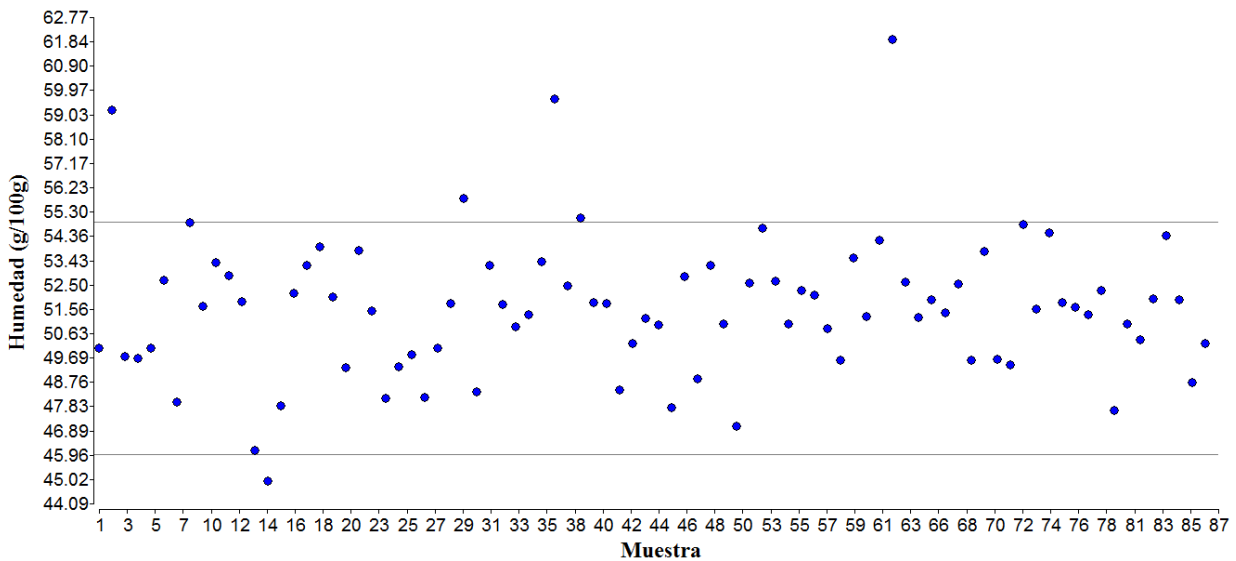
*Parámetros estadísticos de la composición química de muestras de queso blando adquiridas en diferentes locales comerciales de Rafaela y zona*

<b>Variable</b>	<b>n<sup>1</sup></b>	<b>Promedio ± DE</b>	<b>Mín<sup>2</sup></b>	<b>Máx<sup>3</sup></b>
<b>Humedad</b>	86	51,58 ± 2,701	44,94	61,92
<b>Grasa</b>	86	32,48 ± 5,185	7,67	51,1
<b>Proteína</b>	86	23,18 ± 2,429	16,25	29,27
<b>pH</b>	86	5,24 ± 0,110	4,82	5,44
<b>NaCl</b>	86	0,70 ± 0,291	0,04	1,58
<b>a<sub>w</sub></b>	86	0,97 ± 0,004	0,958	0,978

**Nota.** Los valores están expresados en base seca (g/100 g de muestra seca). <sup>1</sup> Cantidad de muestras <sup>2</sup> Mínimo <sup>3</sup> Máximo.

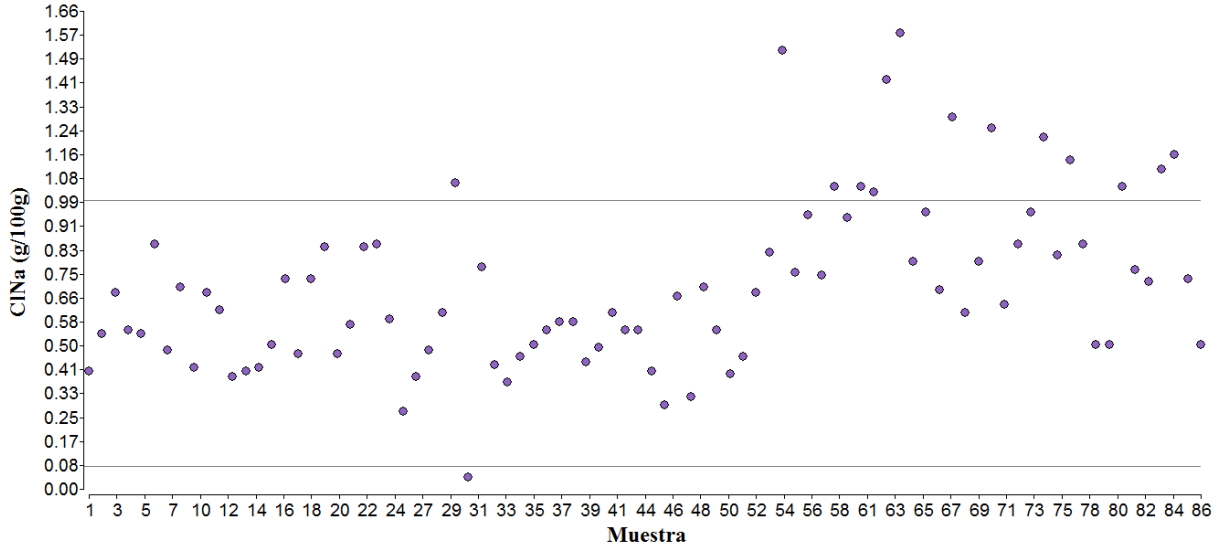
El contenido de humedad promedio de las muestras ensayadas fue de 51,58 ± 2,701 g/100 g. Observando la distribución de los datos en la Figura 19, se puede notar que el 93 % de las muestras clasifican como quesos de pasta blanda (contenido de humedad entre 46,0 % y 54,9 %) según los

criterios establecidos en el CAA. El 7 % restante corresponde a seis de las 86 muestras analizadas, que no se incluyen dentro de la clasificación mencionada, debido a que cinco arrojaron valores de humedad superiores a 54,9 % (59,19 %, 59,62 %, 55,05 % y 61,92 %), siendo clasificadas según el CAA como quesos de muy alta humedad (superiores a 55,00 %); solo una muestra arrojó un valor de 44,94 % por lo que se clasifica como queso de mediana humedad (contenido de humedad entre 36,00 % y 45,90 %) según lo establecido en el mencionado código.



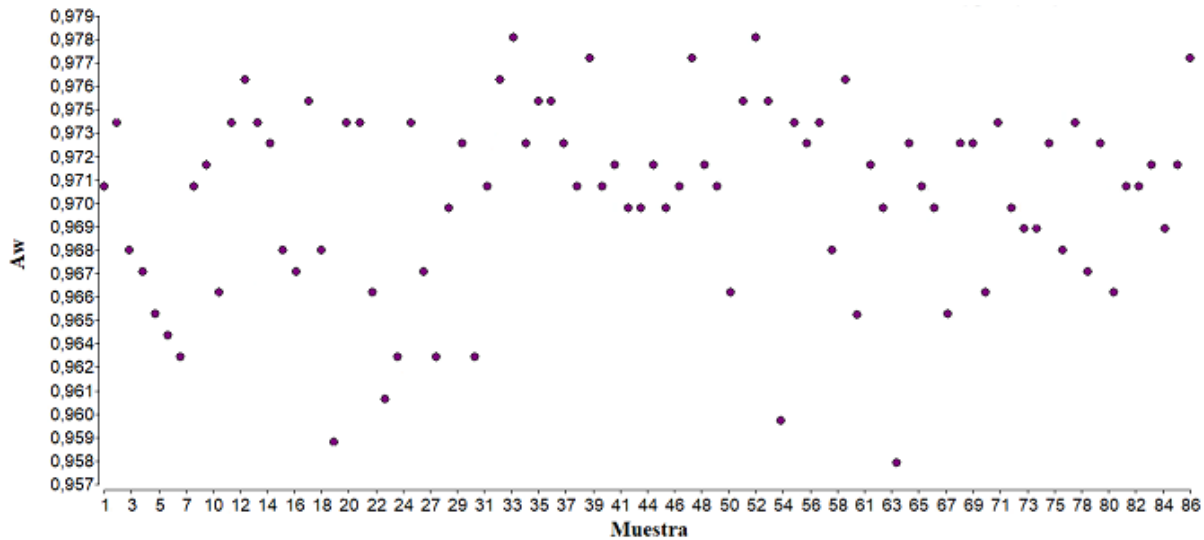
**Figura 19:** Gráfico de dispersión de los valores de humedad obtenidos en las muestras de queso blando. Las líneas representan los valores de humedad establecidos por el CAA para quesos de pasta blanda (46,0 % y 54,9 %).

El valor promedio de NaCl arrojado en este muestreo fue de 0,70 %  $\pm$  0,291 g/100 g MS. Este resultado se corresponde con lo reportado para este tipo de quesos por Arévalo Arévalo (2014), quien reportó valores menores al 3 % p/p para quesos blandos. Por su parte, Álvarez, Corradetti y Recavarren (2018), en su publicación obtuvieron valores de NaCl entre 0,08 % p/p y 1,00 % p/p. En la Figura 20 podemos notar que la minoría de las muestras excede valores de 1,00 % de NaCl, donde el mayor contenido de sal encontrado fue de 1,58 % p/p. Por su parte, Costabel *et al.* (2020) obtuvieron un valor medio de 0,77  $\pm$  0,140 % p/p.



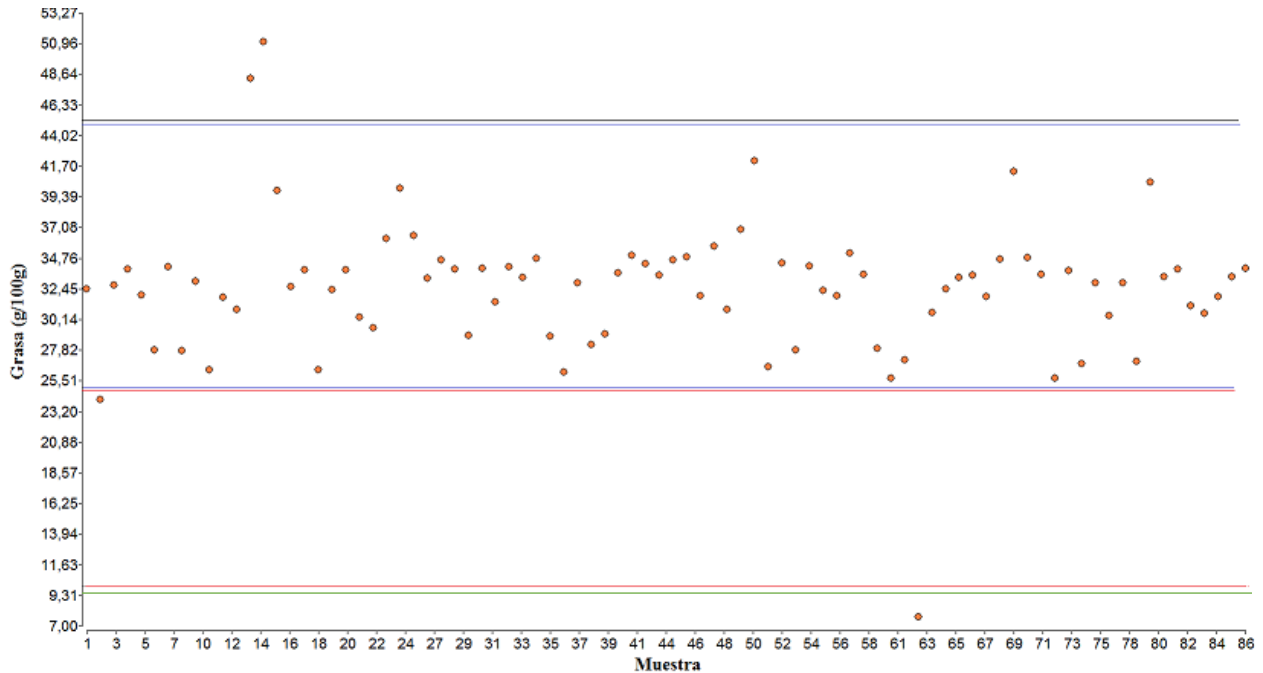
**Figura 20:** Gráfico de dispersión de los valores de NaCl obtenidos en las muestras de queso blando. Las líneas representan los valores de NaCl reportado por Álvarez, Corradetti y Recavarren, (2018) para quesos de pasta blanda (0,08 % y 1,00 %).

Con respecto a la determinación de  $a_w$ , en la Figura 21 se puede observar que los valores son poco variables, con un valor medio de 0,970. Estos resultados coinciden con lo reportado por Arévalo Arévalo (2014) y se encuentra dentro de lo esperado para este tipo de muestras (valores de  $a_w$  de 0,970 a 0,990).



**Figura 21:** Gráfico de dispersión de los valores de  $a_w$  obtenidos en las muestras de queso blando.

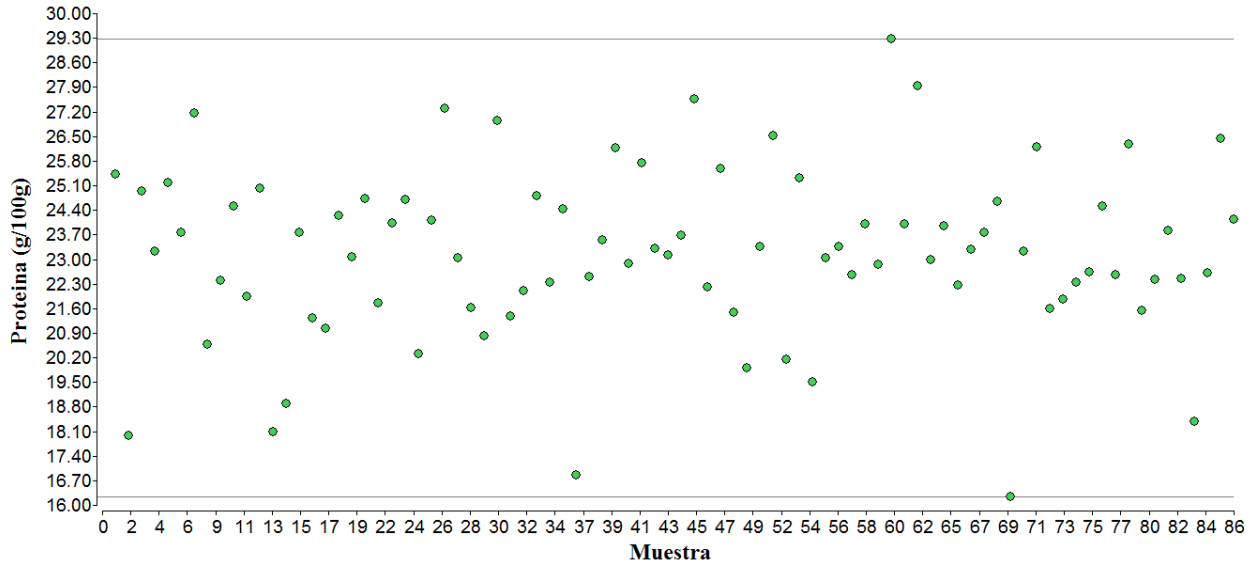
En la Figura 22 se pueden observar los datos registrados respecto al contenido de materia grasa de los quesos analizados. El valor promedio fue de  $32,48 \pm 5,185$  g/100 g MS. Observando los valores, y considerando los criterios del CAA, se puede notar que la mayoría de los quesos muestreados (96,5%) fueron semigrasos (valores de materia grasa entre 25,0 % y 44,9 %). Del total de muestras analizadas, solo una, que corresponde a un queso Cremoso doble crema, contenía un 51,10 % p/p de grasa. La muestra que menor contenido graso presentó fue de 7,67 % p/p de grasa, perteneciendo a un queso Cremoso Port Salut. Esta muestra, según el CAA, clasifica como descremado.



**Figura 22:** Gráfico de dispersión de los valores de materia grasa obtenidos en las muestras de queso blando. Las líneas representan los valores de materia grasa establecidos por el CAA para quesos grasos (línea negra), semigrasos (línea azul), magro (línea roja) y descremado (línea verde).

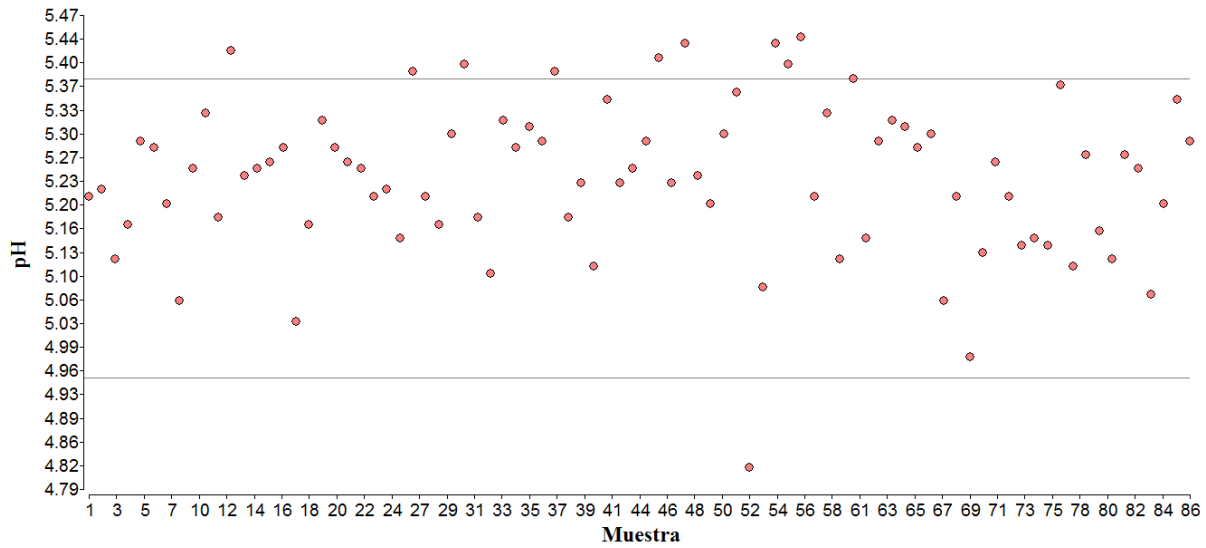
En cuanto a los valores promedios de proteína, los mismos se encontraron entre el  $23,18 \pm 2,429$  g/100 g de queso. Se observa que solo el 17 % estuvo dentro de lo establecido por Wolf (2021), donde se especifica que los quesos frescos analizados en su trabajo presentaron un contenido de

proteína entre el 18,83 % p/p y el 21,89 % p/p). En la Figura 24 se presentan los datos registrados para este parámetro.



**Figura 23:** Gráfico de dispersión de los valores de proteína obtenidos en las muestras de queso blando. La línea representa el valor máximo (29,27) y mínimo (16,25) obtenido.

Por último, respecto al pH de los quesos analizados se encuentran entre  $5,24 \pm 0,110$ , valores que se localizan dentro del rango publicado por Wolf (2021), donde se registraron valores de pH entre 4,95 y 5,38. En la Figura 24 se presentan los datos registrados para este parámetro.



**Figura 24:** Gráfico de dispersión de los valores de pH obtenidos en las muestras de queso blando. Las líneas representan los valores hallados por Wolf (2021) 4,95 y 5,38.

#### **4.3. Análisis microbiológico de muestras comerciales de queso blando.**

En ninguna de las muestras analizadas se detectó presencia de *L. monocytogenes*. Si bien la reglamentación vigente, obliga a los productores de queso blando a pasteurizar la leche con la que se va a elaborar dicho producto y este proceso consigue la eliminación de la bacteria, la principal fuente de contaminación en estos casos la constituyen las etapas posteriores. Este resultado se condice con el reporte realizado por Ramírez y Pineda (2010), en el cual tampoco obtuvieron resultados positivos de *L. monocytogenes* en las muestras de quesos blandos procesados industrialmente.

#### **4.4. Identificación de las variables fisicoquímicas de mayor impacto sobre la presencia de *Listeria monocytogenes* en quesos blandos**

Todas las etapas de la cadena de elaboración de quesos presentan riesgo de contaminación por *L. monocytogenes* debido a la característica de ubicuidad del microorganismo. Sin embargo, la eficacia de los procesos de limpieza y desinfección llevados a cabo durante las etapas de producción, y la correcta higiene durante las etapas de comercialización y fraccionamiento, son vitales para determinar la presencia o ausencia del microorganismo en el producto final. Considerando que en ninguno de los quesos analizados se identificó *L. monocytogenes*, los resultados de este estudio podrían inferir una correcta implementación de buenas prácticas a nivel de toda la cadena de producción y comercialización del producto. Sin embargo, para asegurar esto, se debería analizar la presencia de otros microorganismos indicadores de higiene como por ejemplo recuento de bacterias coliformes.

Si bien en ninguna de las muestras analizadas se identificó presencia de *L. monocytogenes*, una vez elaborados los quesos, los mismos poseen características intrínsecas y extrínsecas que limitan y hasta reducen la carga microbiana en función de su capacidad de adaptación o resistencia a dichas condiciones.

Dentro de las condiciones intrínsecas, se puede considerar el contenido de agua de los quesos, la concentración de NaCl, y el pH, los cuales actúan como múltiples obstáculos que contribuyen a la seguridad microbiológica de los quesos tradicionales (Shrestha *et al.*, 2011).

Ramírez (2006), plantea que los microorganismos requieren la presencia de agua en forma disponible, para poder crecer y llevar a cabo sus funciones metabólicas. Los quesos frescos pasteurizados latinoamericanos presentan un alto contenido de humedad, alrededor del 50 %, que

hace que la  $a_w$  sea mucho mayor, entre 0,97 y 0,99, a pesar de que su contenido de sal es también más alto. Estos elevados valores de  $a_w$  permiten el crecimiento de bacterias asociadas con el deterioro microbiológico de estos productos. Para contrarrestar este efecto, el pH y el contenido de sal en la matriz, son factores que actúan como obstáculos reduciendo moderadamente la actividad de agua y generando un potencial de membrana que provoca la ruptura de la misma y la consecuente reducción de la carga bacteriana (Arévalo Arévalo, 2014).

En relación a las características extrínsecas, es oportuno citar la temperatura de almacenamiento desde su elaboración hasta su consumo, como así también el tiempo de maduración de los quesos. El queso, contiene enzimas y microorganismos activos que provocan cambios de gran importancia a lo largo de la maduración, fuertemente dependientes de la temperatura. En los quesos de mayor humedad, como los quesos blandos que requieren refrigeración, las alteraciones en la cadena de frío favorecen el crecimiento o la supervivencia de microorganismos, entre ellos los microorganismos patógenos (Costabel *et al.*, 2020).

# **CONCLUSIONES**

## 5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos y bajo las condiciones en las que se llevó a cabo este trabajo de tesina, se extraen las siguientes conclusiones:

Dada la ausencia de *L. monocytogenes* en las muestras de queso analizadas, no se pudo relacionar la presencia de esta bacteria con las características fisicoquímicas de los quesos blandos estudiados.

La técnica NIRS mostró ser un método fiable para valorar los parámetros fisicoquímicos presentes en quesos blandos. Por lo que se logró calibrar el equipo NIR DA 7250 para el canal de quesos blandos en los parámetros humedad, grasa, proteína y NaCl, debido a que se pudo comprobar la viabilidad de la técnica NIRS para la predicción de los parámetros mencionados, mostrando una alta correlación con los datos de laboratorio. Se prevé continuar con el análisis de nuevas muestras, para ampliar el rango de trabajo y de esta forma robustecer la calibración, reduciendo los errores de predicción entre los valores obtenidos por referencia y a través de la técnica NIR. Para el parámetro pH, no sucedió lo mismo, a causa de que se obtuvieron resultados incongruentes de la calibración con la valoración del parámetro. Por lo tanto, se recomienda realizar la medición por el método de referencia.

En base al estudio de correlación, se pudo confirmar que los  $R^2$  obtenidos para las muestras de queso trozadas son inferiores a los conseguidos en el análisis con las muestras de queso ralladas. Por lo tanto, se determinó que la condición analítica más adecuada para el análisis de la composición fisicoquímica en este tipo de muestras, sería que la misma se encuentre rallada antes de su análisis por el equipo NIRS.

A partir de la puesta a punto de la técnica NIRS, se obtuvo una caracterización fisicoquímica rápida y confiable de las muestras de queso blando evaluadas.

## *Conclusiones*

En relación a la detección microbiológica de *L. monocytogenes* en las muestras de queso blando provenientes de diferentes locales comerciales de Rafaela y zona de influencia, los análisis no demostraron la presencia de la bacteria, lo cual resulta muy positivo desde un enfoque de seguridad alimentaria. Basado en los resultados obtenidos para este patógeno, se podría inferir una correcta implementación de buenas prácticas de manufactura y una adecuada higiene durante la manipulación y fraccionamiento de los quesos muestreados.

Este trabajo brinda información útil que permite caracterizar desde el punto de vista fisicoquímico, los quesos blandos disponibles en diferentes establecimientos de Rafaela y zona.

# **BIBLIOGRAFÍA**

## **6. BIBLIOGRAFÍA**

- Aernouts, B., Polshin, E., Lammertyn, J., y Saeys, W., (2011). Visible and near-infrared spectroscopic analysis of raw milk for cow health monitoring: Reflectance or transmittance? *Journal of Dairy Science*. 94: 5315-5329.
- Aureli, P., Fiorucci, G. C., Caroli, D., Marchiaro, G., Novara, O., Leone, L. y Salmaso, S., (2000). An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *New England Journal of Medicine*. 342, 1236–1241.
- Adamopoulos, K.G., Goula, A.M., y Petropakis, H.J. (2001). *Quality Control During Processing of Feta Cheese NIRS Application*. Laboratory of Food Process Engineering, Department of Chemical Engineering, School of Engineering. Aristotle University of Thessaloniki, University Campus, Thessaloniki, Greece. *Journal of food composition and analysis* 14, 431-440.
- Almeida, G., Magalhães, R., Carneiro, L., Santos, I., Silva, J., Ferreira, V., Hogg, T., y Teixeira, P. (2013). Foci of contamination of *Listeria monocytogenes* in different cheese processing plants. *International Journal of Food Microbiology*. 167, 303–309.
- Álvarez, M. V., Corradetti, A., y Recavarren, M. (2018). *Evaluación del contenido de Sodio y Cloruros en quesos de la Cuenca lechera Mar y Sierras* (Tesis de Grado). Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Association Française de Normalisation AFNOR., (1996). NF ISO 11290-1: *Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes– Part 1: detection method*.
- Arévalo Arévalo, M. L. (2014). *Determinación de la actividad de agua y pH y su relación en la*

- actividad microbiológica de queso que se expende en el mercado central de Machala* (Tesis Pregrado). Universidad Técnica de Machala, Ecuador.
- Axelsson, F., y Sonrén, M. (1998). *Listeria*. Technical Handbook. Sweden: Diffchamb AB.
- Becroft, D. M. K., Farmer, R. J., Seddon, R., Sowden, J. H., Stewart, A., Vines, y Wattie, D. A., (1971). *Epidemic listeriosis in the newborn*. British Medical Journal. 3, 747–751.
- Bell, C., y Kyriakides, A. (1998). *Listeria. Una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos*. España. Acribia S.A.
- Bergera, G., Jaren, C., y Arazuri, S. (2006). *Introducción a la espectroscopia de infrarrojo cercano en la horticultura*. Horticulture International Journal. 52, 58-62.
- Bertrand, D., y Dufour, E. (2000). *La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques*. París, Francia. Editions TEC & DOC.
- Burkhafer, G. (1981). Catalogue of Cheese. *Document 141, International Dairy Federation*, Brussels, Belgium.
- Burns, D.A., y Ciurczak, E. W. (1992). *Handbook of near infrared analysis*. Burns, D. A. and Ciurczak, E.W. New York, NY, USA. Marcel Dekker.
- Bradley R., Arnold E., Barbano D., Semerad R., Smith D., y Vines B. (1993). Cap.15: Chemical and physical methods. Marshall, R (Ed.). Standard methods for the examination of dairy products. *American Public Health Association*, Washington, USA. 433-531.
- Cen, H., y He, Y. (2007). *Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality*. Trends in Food Science and Technology. 18, 72-83.
- Centers for Disease Control and Prevention [CDC]. (2017). Enfermedades Transmitidas por los

Alimentos, el Agua y el Medioambiente. Disponible en: <https://www.cdc.gov/spanish/listeria/risk.html>. *Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades*. Visitado 10 de enero de 2021.

CDC. (2021). Brote de *Listeria* vinculado a queso fresco fabricado por El Abuelito Cheese Inc. *Epidemic Listeriosis - evidence for transmission by food. New England Journal of Medicine*. 308, 203. Disponible en: <https://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/hispanic-soft-cheese-02>. Visitado el 23 de septiembre de 2021.

Código Alimentario Argentino (CAA). Ley 18284. Cap. VIII: Alimentos Lácteos Disponible en: [http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas\\_alimentos\\_caa.asp](http://www.anmat.gov.ar/alimentos/normativas_alimentos_caa.asp). Visitado 12 de agosto de 2021.

Costabel, L., Audero, G., Costamagna, D., Butarelli, S., Trulls, B., Boffa, S., Mancuso, W., Aimar, B., Karlen, J., Aguilar, L., y Páez, R. (2016). *Caracterización de calidad y estudio de inocuidad de leche y quesos artesanales producidos en tambos fábrica de Entre Ríos*. Disponible en: [http://www.publitec.com.ar/system/noticias.php?id\\_prod=1041](http://www.publitec.com.ar/system/noticias.php?id_prod=1041). Visitado el 22 de septiembre de 2021.

Costabel, L., Costamagna, D., Audero, G., Cuffia, F., Peralta, G. H., Rubel, I. A., Valenzuela López, J. A., Karlen, J., Pilatti, L., Signorini, M., Nuñez, M., y Vasek, O., (2019). Evaluación de Riesgos de Quesos Artesanales Elaborados con Leche Bovina- Informe Final. *Grupo Ad-Hoc Quesos Artesanales, Red de seguridad Alimentaria. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas*. 51, 2618-2785.  
Disponible en: <https://rsa.conicet.gov.ar/wpcontent/uploads/2019/03/INFORME-RSA-Evaluacion-de-riesgos-deQuesos-Artesanales-Bovinos.pdf>.

- Costabel, L., Bergamini, C., Peralta, G., Cuatrín, A., De Noya, G., Sanow, C., y Audero G. (2020) Efecto de diferentes enzimas coagulantes en el rendimiento, la calidad fisicoquímica y la maduración de queso blando. *Información Técnica de Producción Animal 2020. Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Publicación Miscelánea Año VIII - N° 1. ISSN en línea 2314-3126, 138-149.*
- Costard, S., Espejo, L., Groenendaal, H., Zagmutt, F.J., (2017). Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of Unpasteurized Cow's Milk and Cheese, United States, 2009-2014. *Emerging Infectious Diseases* (2017). 23(6), 957-964.
- Choisy, C., Gueguen, M., Lenoir, J., Schmidt, J. L. y Tourneur, C. (1990). Los fenómenos microbianos en “El queso”. Barcelona. Ed. A. Eck. Editorial Omega S.A.
- Davies, A.M. y Grant, A., (1987). *Near infrared analysis of food. International Journal of Food Science and Technology.* 22, 191-207.
- Donnelly, Brackett, Doores, Lee y Lovett., (1992). Listeria. In: Vanderzant C, Splittstooser DF, (eds). *Compendium of methods for the microbiological examination of foods. (3rd Ed.) Washington DC: American Public Health Association. 637-63.*
- European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC] (2018). *Annual epidemiological report.*
- Eck, A. (1990). *El Queso.* Barcelona, España. Ediciones Omega S.A.
- Fernández-Salguero, J., Marcos, A., Alcalá, M., y Esteban, M.A. (1989). Proteolysis of Cabrales cheese and other European blue vein cheese varieties. *The Journal of Dairy Research.* 56, 141-145.

- Fox. (2004). Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. In: P.F. Fox, *et al.*, (Ed.). *Cheese: chemistry, physics and microbiology*. Elsevier Academic Press, London, GBR. 207-259.
- Furtado, M. M. (2005). *Quesos típicos de Latinoamérica*. São Paulo (Brasil). *Fonte Comunicações e Editora*. 29-32.
- Fusé, J.M. (2011). “Efecto de la inclusión de la etapa de termo – excitación sobre la velocidad final de elaboración de un queso Cuartirolo.” (Tesis de Grado). Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
- Gaya, P., y Bautista, L. (1989). Mejora de la calidad higiénico-sanitaria de quesos de leche cruda. 2, 59-65.
- Gigena, G.G. (2020). Santa Fe, la provincia más tampera. *Disponible en:* <https://www.agroclave.com.ar/edicion-impres/santa-fe-la-provincia-mas-tampera-n2679261.html>. Visitado el 15 de marzo de 2021.
- Hernández-Hierro, J. M., García, R. J., y Villanova, González-Martín, I. (2008). *Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market*. 622 (1-2), 189–194.
- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF), (2001). *Métodos recomendados para análisis microbiológico en alimentos*. Microorganismos de los Alimentos I, Técnicas de Análisis Microbiológicos (2da. Ed.). Zaragoza, España. .Acribia S.A
- ICMSF, (2005). *Chap.16: Milk and dairy products. Microorganisms in Foods. Microbial Ecology of food commodities*. (2da. Ed.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, 643-715.
- Instituto Argentino de Normalización [IRAM] 14003-8 (2007). Leche y productos lácteos.

Determinación del contenido de materia grasa. Parte 8- Quesos y quesos procesados. Método de Van Gulik. Buenos Aires, Argentina.

IRAM 14023-2 (2007). Quesos y quesos procesados. Determinación del contenido de cloruros. Parte 2 – Método por valoración de Volhard. Buenos Aires, Argentina.

IRAM 14014 (2018). Quesos y quesos procesados. Determinación del contenido de sólidos totales (método de referencia). (3ra. Ed.).

International Organization for Standardization [ISO] 8968-3 (2004). Determinación del contenido de nitrógeno. Método por digestión en bloque (Método rápido de rutina semimicro).

ISO 11290-1 (2011). Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. Part 1: Detection Method.

ISO 21543/IDF 201 (2020). Milk and milk products — Guidelines for the application of near infrared spectrometry.

Jay, J.M. (2000). *Microbiología moderna de los alimentos*. (4ta. Ed.). Zaragoza, España. Acribia, S. A. 457-480.

Kalantzopoulos, G. C. (1993). Cheese from ewe's and goat's milk. In P. F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Major cheese groups* (Vol. 2, 2da. Ed.) London. 507-553.

Khalid, N.M., y Marth, E.H. (1990). Lactobacilli-their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese: a review. *Journal of Dairy Science*. 73, 2669-2684.

Lau, K.Y., Barbano, D.M., y Rasmussen, R.R., (1991). Influence of pasteurization of milk on protein breakdown in Cheddar cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*. 74, 727-740.

Laciar, A. L., Vaca, L., y De Centorbi, O. N. P. (1999). *Listeria* spp., en alimentos de origen animal. *Revista Argentina de Microbiología*. 31, 25-30.

Lamichhane, Prabin, Kelly, A. L., y Sheehan, J. J. (2017). Invited review: Structure-function relationships in cheese. *Journal of Dairy Science*. Mahaut, M., Jeantet, R., y Brulé, G., (2003). *Introducción a la Tecnología Quesera*. Zaragoza, España. Acribia S. A.

Manzoni, C. (2017). *La Nación*. Disponible en: <https://www.lanacion.com.ar/economia/el-queso-reina-en-las-mesas-argentinas-nid2092001.Listeriosis>. Visitado el 22 de septiembre de 2021.

Marshall. R.J. (1990). Combined instrumental and sensory measurement of the role of fat in good texture. *Food Quality and Preference*. 2, 117-129.

Martínez, C. C. (2013). *Implantación de la tecnología NIRSS en aplicaciones in-situ como herramienta de apoyo a las decisiones en el sector primario* (Máster). Universidad de Oviedo, España.

Marzocca, M.A., Marucci, P.L., Sica, M.G., y Álvarez, E. (2004). Detección de *Listeria monocytogenes* en distintos productos alimenticios y en muestras ambientales de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 36, 179.

Medina, M., Fernández Del Pozo, B.S., y Núñez, M. (1989). Quesos españoles artesanales de leche de oveja. 2, 34-39.

Ministerio de Agricultura (1999). *Oficina de Información Agraria. Producción Pecuaria e Industria Avícola*. Lima, Perú. 54.

Ministerio de Justicia y Derechos Humanos. Ley Nacional N° 24051, (1991). Residuos peligrosos. Disponible en: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/0-4999/450/texact.htm>.

Visitado el 20 de mayo de 2021.

- Muhterem-Uyar, M. M., Dalmasso, M., Bolocan, A. S., Hernandez, M., Kapetanakou, A. E., Kuchta, T., Manios, S. G., Melero, ... Wagner, M. (2015). Environmental sampling for *Listeria monocytogenes* control in food processing facilities reveals three contamination scenarios. *Food Control* 51, 94–107.
- McMahon, D.J., Fife, R.L., y Oberg, C.J. (1999). Water Partitioning in Mozzarella Cheese and Its Relationship to Cheese Meltability. 82, 0–1369.
- Mcsweeney, P.L.H., Fox, P.F., Lucey, J.A., Jordan, K.N., y Cogan, T.M. (1993). Contribution of the indigenous microflora to maturation of Cheddar cheese. *The International Dairy Journal*. 3, 613-634.
- Naes, T., Issaksson, T., Fearn, T., y Davies, T. (2002). A user-friendly guide to multivariate calibration and classification. *NIRS Publications*. Chichester, UK.
- Nicolaï, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I, y Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIRS spectroscopy. A review. *Postharvest Biology and Technology*. 46, 99-118.
- Noriega, E. (2010). *Seguridad alimentaria modelización y control del desarrollo de listeria en sistemas estructurados* (Tesis Doctoral). Universidad de Oviedo, España.
- Nosetto, E. (2002). Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. En embutidos secos obtenidos en mercados de la ciudad de La Plata. *Revista Argentina de Microbiología*. 34, 219-221.
- Merchán Castellanos, N.A. (2018). *Microorganismos comúnmente reportados como causantes de enfermedades transmitidas por el queso fresco en las Américas, 2007-2016*. (Vo. 56).

- Observatorio de la Cadena Láctea [OCLA], (2020). *Lechería Argentina-Elaboración*. Disponible en: <https://www.ocla.org.ar/contents/newschart/portfolio/?categoryid=46>. Visitado el 11 de junio de 2021.
- Ordóñez, J.A., Masso, J.A., Mármol, M.P., y Ramos, M. (1980). Contribution a l'étude du fromage Roncal. *Lait* 60, 283-294.
- Osborne, B.G., y Fearn, T., (1986). *Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis Longman Scientific and Technical*, Halow, Essex, UK.
- Osborne, B.G., Fearn, T. y Hindle, P.H., (1993) *Practical NIRS Spectroscopy with Applications in Food and Beverage Analysis*. Longman Scientific and Technical, Harlow. *American Journal of Analytical Chemistry*. (Vol. 8).
- Pillonel, L., Luginbühl, W., Picque, D., Schaller, E., Tabacchi, R., y Bosset, J.O. (2003). Analytical methods for the determination of the geographic origin of Emmental cheese: mid- and Near-Infrared Spectroscopy. *European Food Research and Technology* (2003). 216, 174–178.
- Pedro, M.C. (2012). “*Evaluación del Contenido de Calcio y Fósforo en Quesos Blandos Comerciales. Estudio de Parámetros Tecnológicos que Definen la Concentración de los Mismos en el Queso* (Tesis de Posgrado)”. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Peldoza, A. C. (1999). Desarrollo de ecuaciones de calibración para predecir la composición nutricional de ensilaje de pradera mediante espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 126.
- Pellicer, K., Copes, J., Malvestiti, L., Lanfranchi, M., Stanchi, N., Echeverria, G., y Nosetto, E. (2002). Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* y *Listeria* spp. en embutidos

- secos obtenidos en mercados de la ciudad de La Plata, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*. 34, 219-221.
- Peralta, G. H., Bergamini, C. V., Costabel, L.; Audero, G., Ale, A. C., Binetti, L., Wolf, I. V., Cuatrín, A., Nieto, I., Perotti, M.C., y Hynes, E. R. (2018). Performance of *Lactobacillus paracasei* 90 as an adjunct culture in soft cheese under cold chain interruption. *International Dairy Journal*. 109, 1-10.
- Porto, E., y Eiroa, M. N., (2001). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in vegetables. *Dairy Food Environ Sanit*. 21, 282-6.
- Ramaswamy, V., Cresence, V. M., Rejitha, J. S, Lekshmi, M. U., Dharsana, K. S., Prasad, S. P., y H. Vijila, M. (2007). Listeria—review of epidemiology and pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 40, 4–13.
- Ramírez, T.E., y Pineda, S. (2010). Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en productos lácteos, artesanales y hortalizas. *Revista Ciencia Y Tecnología*. 7, 35–46.
- Ramírez López, C., y Vélez Ruiz, J. F. (2012). *Queso fresco: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad*. Universidad de las Américas Puebla. Ex hacienda Sta. Catarina Mártir S/N, San Andrés Cholula, Puebla, México. 6(2), 131-48.
- Ríos, C., Paris, E., Bettini, M. y Repetto, G. (2012). *Manejo clínico de las intoxicaciones alimentarias*. Díaz de Santos, Argentina.
- Robinson, R. K. (1987). *Microbiología Lactológica*. (Vol.2) Zaragoza, España. Acribia, S. A.
- Rocourt, J., Jacquet, C., y Reilly, A. (2000). Epidemiology of human listeriosis and seafoods. *International Journal of Food Microbiology*. 62, 197-209.

- Rodríguez Otero, J. L., Hermida, M., y Centeno, J. (1997). Analysis of dairy products by near-infrared spectroscopy: a review. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 45, 2815–2819.
- RSA-CONICET., (2017). Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en chacinados embutidos secos y salazones crudas. *Red de Seguridad Alimentaria. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas*. 14-60.
- Rossi, A. (2021). Per capita Consumption. CLAL.it. Disponible en: [https://www.clal.it/en/?section=tabs\\_consumi\\_procapite](https://www.clal.it/en/?section=tabs_consumi_procapite).
- Sánchez, N.N. (2003). *Control de calidad de leche y queso de oveja mediante espectroscopía de infrarrojo cercano* (Tesis Doctoral). Universidad de Córdoba, España.
- Seeliger, H. P. R. (1961). Listeriosis, (2da. Ed.). *Hafner Publishing Company*. New York.
- Schlech, W. F., Lavigne, P. M., Bortolussi, R. A., Allen, A. C., Haldane, E. V., Wort, A. J., Hightower, A. W., Johnson, S. E., King, S. H., Nicholls, E. S., y Broome, C. V. (2008). Epidemic listeriosis — Evidence for transmission by food. *New England Journal of Medicine*. 308, 203–206.
- Scarpellino, R., y Kosikowski, F.V. (1962). Evolution of volatile compounds in ripening raw and pasteurized milk Cheddar cheese observed by gas chromatography. *Journal of Dairy Science*. 45, 343-348.
- Shenk, J.S., y Westerhaus, M. O. (1993). Analysis of Agriculture and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph. EE.UU. Lehmann., *Infrasoft International*. 112.
- Shenk, J. S., y Westerhaus, M. O. (1995). Analysis and Food Products by Near Infrared Reflectance Spectroscopy. Monograph. *NIRS Systems Inc.*, Silver Spring, MD, USA.

- Shenk, J.S., y Westerhaus, M.O (1996). Calibration the ISI way. In: Davies AMC; Williams PC, eds. *Near Infrared Spectroscopy: The future waves. NIRS Publications*, Chichester, Reino Unido. 198–202.
- Shrestha, S., Grieder, J.A., McMahon, D.J., y Nummer, B.A. (2011). Survival of *Listeria monocytogenes* introduced as a post-aging contaminant during storage of low salt cheddar cheese at 4, 10, and 21°C. *Journal of Dairy Science*. 94,4329-4335.
- Terán, J. C., Castellano, A., Issaly, L. C., Iturrioz, G., y Mateos, M. (2009). La cadena de la leche en Santa Fe. *Análisis de la cadena de la leche en Argentina*. INTA, Buenos Aires, Argentina.
- Trépanier, G., Simard, R.E., y Lee, B.H. (1991). Effect of added Lactobacilli on composition and texture of Cheddar cheese during accelerated maturation. *Journal of Dairy Science*. 56 (3), 696-700.
- Valero, F. P. (2011). ESTUDIO DE INCIDENCIA DE LA LISTERIOSIS EN ESPAÑA (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Medicina Departamento de Pediatría, Obstetricia y Medicina Preventiva. Barcelona, España.
- Vélez Ruiz, J.F. (2009). Rheology and Texture of Cheese. En: Sosa-Morales, M.E. y Velez-Ruiz, J.F. (Eds). *Food Processing and Engineering Topics*. Ed. *Nova Science Publishers*. Nueva York. EE.UU. 87-122.
- Williams, P., y Norris, K. (1987) *Near-Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries*. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, 330.
- Williams, P.C. (2003). Near-infrared technology – getting the best out of light: A short course in the practical implementation of near-infrared spectroscopy for the user. *PDK Projects Inc.*, Nanaimo, BC, Canadá.

Wikipedia (2019). *Queso*. Disponible en <https://es.wikipedia.org/wiki/Queso>. Visitado el 11 de junio de 2021.

Wolf, I., Palma, S., Bergamini, C., y Perotti M.C. (2020). *Avances y tendencias en la industria láctea: Caracterización de quesos típicos argentinos* (Ediciones UNL, 2020 ed., Vol. 280.; 25x17). Jorge Reinheimer.

World Health Organization [WHO] (2018). Listeriosis. Disponible en: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>. Visitado el 30 de febrero de 2021.

Zalazar, C., Meinardi, C., Candiotti, M., Bernal, S., y Hynes, E. (1995). La maduración del queso Cremoso argentino. *Revista Argentina de Lactología*. Centro de publicaciones Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe, Argentina. *11*, 59-72

Zalazar, C. S., Bernal, S., y Zalazar, C. (1998). Quesos reducidos en materia grasa: Revisión del estado actual de conocimientos y tecnologías. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*. *16*, 135–142.

Zalazar, C., Meinardi, C., y Hynes, E. (1999). Los quesos argentinos: Queso Cremoso argentino. Una revisión general sobre su producción y características. *Centro de publicaciones Universidad Nacional del Litoral*. Santa Fe, Argentina. 20-49.

# **ANEXOS**

## 7. ANEXOS

### Anexo I: Protocolo de uso de equipo: NIR DA 7250 (Perkin Elmer®)

#### 1. Objetivo

El instructivo de ensayo provee un procedimiento para la determinación de la composición fisicoquímica en alimentos con bajo contenido de humedad, a través de la medición de la absorción de radiación en infrarrojo a las longitudes de onda representativas de cada componente.

#### 2. Alcance/ Responsable/Principio

- *Alcance:* Este método es aplicable para la determinación de todos los parámetros físicoquímicos, para aquellos productos con bajo contenido de humedad (sólidos) desde muestras de polvo a pellets, granos, pastas y papillas
- *Principio:* NIR DA 7250 utiliza tecnología de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR) para analizar muestras. Los instrumentos NIR miden la absorción de luz a longitudes de onda específicas y relacionan esta información con el contenido del parámetro. Para establecer la relación entre las mediciones espectrales y el parámetro, las muestras de contenidos conocidos se miden tanto con el instrumento NIR como con un método de referencia. La relación se determina mediante análisis multivariante, lo que resulta en un modelo de calibración.
- *Responsable:* La aplicación del procedimiento es responsabilidad del DT y de los A del Laboratorio de Calidad de Leche y Agroindustria.

#### 3. Documentación de referencia

Norma ISO/FDIS 12099, (2017). *Animal feeding stuffs, cereals and milled cereal products — Guidelines for the application of near infrared spectrometry.*

#### 4. Definición y abreviaturas

- A: Analista
- DT: Director Técnico
- P: Proteína
- ST: Sólidos Totales
- G: Grasa

- H: Humedad

## **5. Medidas de seguridad**

Para la manipulación de muestras, durante el ensayo el personal deberá utilizar guardapolvo y guantes de nitrilo.

## **6. Equipo e instrumental**

- Analizador composicional NIR DA 7250.
- PC. Plantilla de cálculo.

## **7. Reactivos y materiales**

- Paño sin pelusa
- Pincel
- Agua destilada
- Alcohol 70%
- Alcohol isopropílico
- Solución diluida detergente doméstico

## **8. Condiciones ambientales**

- *Acciones correctivas:* en caso en que las condiciones ambientales en el momento de la determinación no sean estables, el equipo comienza a realizar ajustes automáticos hasta que los parámetros ambientales se estabilicen. Regular dichas condiciones utilizando el aire acondicionado. Hasta que el ambiente de trabajo no sea el adecuado, no comenzar con el ensayo.

## **9. Requisitos Técnicos. Conservación y Manipuleo de las Muestras**

### **9.1. Recepción de la muestra**

9.1.1. **Queso:** la muestra de queso debe llegar al laboratorio cerrada a temperatura de refrigeración.

9.1.2. **Leche en polvo:** La muestra de leche en polvo debe ingresar al laboratorio en un recipiente hermético a temperatura ambiente y protegido de la luz.

*Muestras de ensayo:* las muestras recibidas son identificadas con una codificación unívoca.

## 9.2. Conservación de la muestra

9.2.1. **Queso:** hasta 48 horas temperatura de refrigeración almacenado en recipiente hermético.

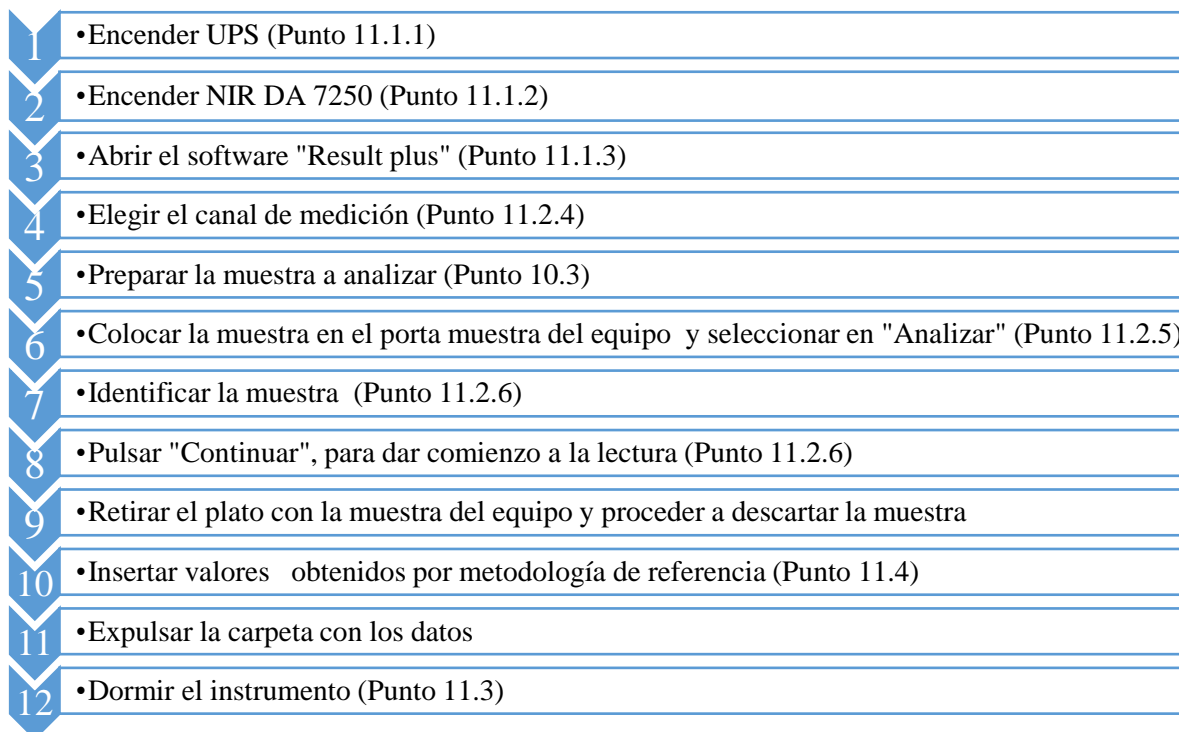
9.2.2. **Leche en polvo:** hasta 1 mes a temperatura ambiente.

## 9.3. Preparación de muestra a analizar según página 14 NIRS DA 7250 Installation and Operation Manual

9.3.1. Llenar el plato con la muestra justo antes de comenzar el análisis para evitar cambios en el contenido de humedad. **Nota:** Se debe asegurar de cargar un exceso de muestra y luego quitarlo con un borde recto, para que la superficie de la muestra no exceda el borde superior del plato.

## 10. Descripción

A continuación, en la figura 1, se expone un diagrama de flujo que permite visualizar en forma sencilla la determinación:



**Figura 1:** Diagrama de flujo, uso de equipo NIR DA 7250.

## 10.1. Inicio

10.1.1. Encender UPS (presionar el botón, “I test”). **Nota:** Fijarse que se encuentre cargada la batería.

10.1.2. Encender el equipo NIR DA 7250 Perten, presionando el interruptor de alimentación principal (tecla verde) que se encuentra al costado izquierdo en la parte inferior trasera del equipo. **Nota:** Comprobar que se haya encendido la luz verde ubicada en la parte frontal del instrumento, según lo indica página 6 NIR DA 7250 Installation and Operation Manual.

10.1.3. Iniciar el software del equipo, realizando doble clic en la carpeta “Result plus”, este se actualizará cuando se encuentre conectado a la red de internet. Puede que esta acción deba omitirse si el instrumento se encuentra en modo automático. **Nota:** Dejar unos minutos encendidos antes de comenzar el análisis.

## 10.2. Medición

10.2.1. Dar comienzo al software tal como se indica en el inciso 11.1 Inicio.

10.2.2. Para iniciar el análisis preparar la muestra tal como se indica en el inciso 10.3 “preparación de la muestra a analizar”.

10.2.3. Tocar en la sección “análisis” que se presentará al abrir el software del equipo.

Puede que esta acción deba omitirse si el equipo se encuentra en modo automático.

10.2.4. Para medir una muestra elegir el canal de medición, en la ventana “seleccionar producto”. Ejemplo: para queso es “Queso ANN”, para leche en polvo es “Daily Powders”. Para ver productos adicionales que no se muestran, emplee la barra de desplazamiento a lo largo del borde derecho de la ventana.

10.2.5. Para dar inicio al análisis colocar la muestra en el equipo.

10.2.6. Se abrirá un cuadro “registrar muestra” donde solicita que se ingrese información; esto incluye la identificación de la muestra, “ID muestra” la cual determinará el analista, también podemos agregar un “comentario” sobre la misma. Y para muestras que serán empleadas para calibración tocar en para identificarla.

Luego clicar en “continuar”.

La muestra es analizada por simplificado.

**Nota:** controlar que el plato seleccionado sea el que se está empleando para el análisis, “tray”.

10.2.7. Al finalizar la medición, retirar la muestra del equipo. En caso de realizar repeticiones de lectura se vuelve a presionar en analizar y repetir los pasos especificados desde el inciso 11.2.6 hasta el anterior.

### 10.3. Dormir el instrumento

10.3.1. Ir al inicio del software:

10.3.1.1. Ir a la ventana de inicio de “Result Plus”.

10.3.1.2. Marcar “Exit”.

10.3.1.3. Confirmar con “si”.

10.3.2. Presionar “exit”.

10.3.3. A continuación, presionar en la barra inferior inicio de Windows y tocar en “shut down”.

10.3.4. Esperar unos segundos que se apague la pantalla.

10.3.5. Apagar el equipo con la tecla verde que se encuentra en la parte trasera (misma tecla de encendido). **Nota:** Si el equipo será empleado varios días consecutivos es conveniente dejarlo encendido.

### 10.4. Calibración

10.4.1. Para ingresar los resultados de los análisis obtenidos por métodos de referencia ir a la sección de informes como se indica en el inciso 11.5.

10.4.2. Luego Seleccionar la muestra.

10.4.3. Dar clic en detalles.

10.4.4. Seleccionar que aparece en la barra de arriba y completar la casilla “LAB” para cada parámetro con los valores obtenidos por el método de referencia.

#### 10.5. Resultados de análisis y correcciones.

Los resultados están disponibles para verlos inmediatamente luego de cada análisis.

Vea los resultados del análisis básico inmediatamente después del análisis en la ventana “*resultados*” (los resultados mostrados dependerán del producto que se esté analizando). Tocar en “*detalles*” para ver resultados de análisis detallados, incluidos límites y objetivos atípicos. Cuando haya terminado, tocar en “*guardar o cancelar*” para volver al menú de resultados.

- Tocar la pestaña historial (H) para ver una lista de resultados de análisis anteriores para el producto actual.
- Tocar la pestaña gráfica de resultados para ver un gráfico de resultados de análisis anteriores para el producto actual.
- Tocar la pestaña gráfico espectral (v) para ver el espectro de absorbancia de la muestra actual.
- Tocar la pestaña resultados (R) para volver a la vista predeterminada.

Para ver el historial completo:

10.5.1. Ir a la sección de “informes” en el inicio del software y seleccionar por reporte de producto, aquí se encontrará el historial completo de las muestras. **Nota:** Se puede limitar la búsqueda de la muestra por nombre tocando en el campo “ID muestra”; ingresando fecha y hora (por 24 horas) o incluso por producto.

10.5.2. Luego tocar en “buscar” para mostrar la lista de resultados de análisis.

Correcciones:

- Para EDITAR la muestra por ejemplo si se quisiera cambiar/corregir la ID de la muestra o agregar un comentario:
  - a) Seleccionar el cuadro según lo que se quiera modificar, agregar, o corregir.
  - b) Confirmar acción con “OK”
  - c) Dar clic en “guardar”.
- Para BORRAR la muestra:
  - a. Tocar en “borrar” que se encuentra en la parte inferior de la ventana de color rojo.
  - b. Confirmar la acción introduciendo el código de seguridad 1234.

## **11. Agregar nuevo canal**

Para incorporar un nuevo canal a partir de uno ya existente se debe dirigir al inicio del software “Result plus” en el apartado configuración y dar permiso a través del código 1234. Luego tocar en Analysis profiles y buscar el canal que se desea duplicar. Una vez encontrado el canal seleccionar y tocar en copiar dando acceso a copiar todos los productos del perfil en cuestión. A continuación, se abrirá una nueva pestaña donde debemos asignarle un nombre y luego dar clic en guardar.

## **12. Exportar datos**

Para poder exportar los resultados obtenidos se debe dirigir al inicio del software “Result plus” en el apartado configuración y dar permiso a través del código 1234. Luego tocar en “Analysis profiles” y buscar el canal que desea exportar. Posteriormente aparecerán en la barra inferior una serie de opciones entre ellas la de importar, tocar allí y seleccionar la carpeta dentro de la biblioteca del equipo donde se quieren guardar los datos y luego confirmar. A continuación, introducir un pen drive en el puerto USB del equipo situado en la parte posterior, dirigirse a la carpeta donde se guardaron los datos en el equipo y copiarlos en el pen drive.

## **13. Calibrar**

Para realizar un ajuste al equipo se debe dirigir al inicio del software “Result plus” en el apartado configuración y dar permiso a través del código 1234. Ir al apartado “Analysis profile”, seleccionar el canal a ajustar y tocar en editar. Posteriormente en la barra del costado derecho ir a la sección BIAS/INTERCEP, allí se podrán cargar los bias correspondiente a cada parámetro del canal.

## **14. Limpieza**

Limpieza de la pantalla táctil y la carcasa según página 90 NIR DA 7250 Installation and Operation Manual; Si la pantalla táctil y / o la carcasa de su DA 7250 se ensucian, usted debe desenchufar el instrumento y limpiar con un paño suave y húmedo. Si es necesario, humedezca el paño con una solución diluida de detergente doméstico. **Nota:** Tenga cuidado de que no entre agua o detergente en la ventana óptica o en la bandera de referencia. Nunca vierta ni rocíe líquidos de limpieza directamente sobre la pantalla táctil o la carcasa. Esto puede causar daños permanentes al instrumento.

## **15. Descarte de muestra**

Las muestras analizadas por el equipo serán descartadas en cestos para residuos biodegradables destinados a tal fin.

Anexo II: Plantilla Excel de calibración (Perkin Elmer ®)

Se muestra un ejemplo de los datos estadísticos obtenidos para el ajuste del parámetro grasa.


### Validation Template

#### Pertem Instruments

Site: LABORATORIO leche  
 Date: 12/08/2019  
 Product: Queso blando rallado  
 Parameter: Materia grasa  
 Ref. method:  
 Moisture basis:  
 S/N:  
 Calibration:

Existing Slope: 1,00  
 Existing Bias: 0,00

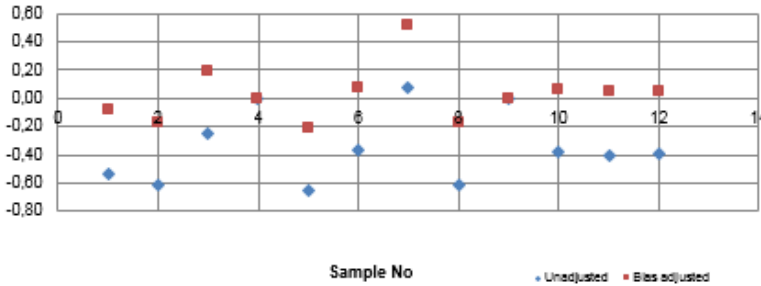
No.	ID	Date	Time	Results		Diff Ref - NIR	Accept? (y/n)	Outlier? (y/n)
				Ref.	NIR			
1	NOVA	12/08/2019		21,31	21,84	-0,53	y	OK
2	MAXIREN	12/08/2019		22,28	22,89	-0,61	y	OK
3	CHIMAX	12/08/2019		21,73	21,98	-0,25	y	OK
4	NOVA	12/08/2019		21,46	29,95		n	missing
5	MAXIREN	12/08/2019		21,24	21,89	-0,65	y	OK
6	CHIMAX	12/08/2019		21,74	22,11	-0,37	y	OK
7	NOVA	12/08/2019		23,3	23,23	0,07	y	OK
8	MAXIREN	12/08/2019		21,5	22,11	-0,61	y	OK
9	CHIMAX	12/08/2019		21,09	23,27		n	missing
10	CHIMAX	12/08/2019		24,42	24,80	-0,38	y	OK



### Result summary

Materia grasa					
N (Total)	40	Min	19,70	R <sup>2</sup>	0,94
N (Excl. Outliers)	38	Max	24,50	Bias	-0,444
<b>NEW SLOPE &amp; BIAS</b>	<b>Slope</b>	<b>Bias</b>	<b>SEP</b>	T-bias	-10,725
No Adjustment	1,000	0,000	<b>0,511</b>	Data is biased	
Bias Adjust	1,000	-0,444	<b>0,255</b>	<b>Slope</b>	0,929
Bias & Slope Adjust	0,929	1,210	0,248	T-slope	1,792
<b>Recommended Setting</b>	<b>1,000</b>	<b>-0,444</b>		Data is not sloped	

#### LAB-NIR Difference



## Anexo III. Base de datos de muestras de queso blando utilizadas para la calibración.

N° de muestra	ANÁLISIS POR REFERENCIA					ANÁLISIS POR NIRS (MUESTRA TROZADA)				
	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH
	g/100 g					g/100 g				
1	23,50	19,05	52,63	1,54	5,29	25,27	18,32	50,15	2,09	5,50
2	23,50	18,44	52,78	1,49	5,32	24,25	18,75	50,91	1,61	5,61
3	22,67	18,24	54,26	1,56	5,27	23,23	17,66	52,90	1,88	5,70
4	23,67	19,65	51,69	1,17	5,23	24,05	18,77	50,62	1,50	5,57
5	24,17	19,46	51,56	1,26	5,29	25,09	18,55	49,95	1,53	5,70
6	22,00	19,04	53,30	1,37	5,30	22,84	17,40	52,65	1,86	5,72
7	19,70	19,27	55,04	1,77	5,42	21,05	17,93	53,61	2,06	5,70
8	23,20	19,45	52,77	1,00	5,29	23,32	19,66	50,84	1,56	5,70
9	22,30	19,35	52,34	1,15	5,33	23,16	19,25	51,47	1,61	5,61
10	22,20	18,84	54,45	1,03	5,21	22,79	18,73	52,83	1,56	5,67
11	23,00	19,53	50,98	1,10	5,33	24,02	19,68	50,20	1,46	5,67
12	23,67	18,93	50,89	1,33	5,34	24,75	18,65	50,42	1,72	5,63
13	23,00	19,73	50,91	1,30	5,39	23,60	19,21	50,17	1,72	5,68
14	23,83	20,18	49,78	1,42	5,31	24,32	19,74	49,64	1,71	5,59
15	23,33	18,60	52,18	1,19	5,28	23,90	18,29	51,95	1,52	5,62
16	24,50	19,29	51,63	0,61	5,35	25,34	19,26	49,68	1,27	5,26
17	23,00	18,07	52,94	0,95	5,35	24,06	18,50	51,85	1,54	5,40
18	22,50	18,35	52,56	1,49	5,38	23,68	19,16	51,50	1,51	5,43
19	21,50	18,51	54,04	1,60	5,37	21,83	18,10	54,36	1,75	5,63
20	23,50	20,08	50,83	0,92	5,33	23,94	19,78	50,24	1,26	5,51
21	22,50	19,23	52,89	1,26	5,30	23,65	18,89	51,58	1,55	5,61
22	22,50	18,57	53,76	1,21	5,21	23,48	18,21	52,26	1,48	5,60
23	22,80	19,81	52,82	1,44	5,32	23,47	19,39	51,63	1,61	5,50
24	23,50	19,83	51,78	1,16	5,28	24,38	19,63	50,63	1,44	5,33
25	22,80	19,14	52,52	1,36	5,06	23,35	19,12	51,11	1,52	5,59
26	22,3	19,04	53,66	1,36	5,27	23,00	19,34	51,89	1,37	5,55

N° de muestra	ANÁLISIS POR REFERENCIA					ANÁLISIS POR NIRS (MUESTRA TROZADA)				
	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH
	g/100 g					g/100 g				
27	22,8	19,18	53,03	1,50	5,27	24,83	19,61	50,35	1,41	5,47
28	23,8	19,58	50,86	1,28	5,24	24,67	19,73	49,66	1,39	5,50
29	22,5	19,21	52,77	1,47	5,34	22,98	19,72	50,89	1,52	5,60
30	22,7	19,02	52,78	1,26	5,34	23,78	19,30	51,12	1,40	5,52
31	21,31	19,22	51,40	0,81	5,23	23,63	21,49	49,26	1,12	5,70
32	22,28	25,4	49,40	0,79	5,31	25,15	23,63	45,86	0,92	5,51
33	21,73	22,39	50,41	0,64	5,15	23,11	21,55	49,88	1,04	5,59
34	21,46	20,84	49,07	0,49	5,12	25,02	22,46	47,31	0,79	5,15
35	21,24	20,17	53,90	0,78	5,1	22,96	19,88	52,90	1,12	5,64
36	21,74	18,68	53,09	1,00	5,15	22,87	20,72	51,47	1,15	5,58
37	23,3	21,23	50,12	0,65	5,22	23,89	20,87	50,44	0,96	5,59
38	21,5	21,18	52,17	0,66	5,16	22,56	21,02	51,37	0,99	5,63
39	21,09	18,06	51,07	0,97	5,23	23,26	20,20	52,18	0,99	5,67
40	24,42	21,94	48,41	0,52	5,21	24,12	20,97	50,03	0,92	5,45

N° de muestra	ANÁLISIS POR REFERENCIA					ANÁLISIS POR NIRS (MUESTRA RALLADA)				
	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH	grasa	proteína	humedad	NaCl	pH
	g/100 g			g/100 g						
1	23,50	19,05	52,63	1,54	5,29	23,90	17,65	51,31	2,07	5,59
2	23,50	18,44	52,78	1,49	5,32	23,89	18,42	51,14	2,10	5,63
3	22,67	18,24	54,26	1,56	5,27	23,00	17,37	52,54	2,02	5,63
4	23,67	19,65	51,69	1,17	5,23	24,00	18,67	50,52	1,64	5,65
5	24,17	19,46	51,56	1,26	5,29	24,73	18,22	49,93	1,84	5,57
6	22,00	19,04	53,30	1,37	5,30	21,95	17,98	52,23	2,01	5,71
7	19,70	19,27	55,04	1,77	5,42	19,73	17,96	53,83	2,11	5,65
8	23,20	19,45	52,77	1,00	5,29	23,17	19,13	51,43	1,66	5,66
9	22,30	19,35	52,34	1,15	5,33	22,56	18,95	52,28	1,92	5,61
10	22,20	18,84	54,45	1,03	5,21	22,63	18,40	52,65	1,75	5,68
11	23,00	19,53	50,98	1,10	5,33	23,73	19,03	50,72	1,82	5,67
12	23,67	18,93	50,89	1,33	5,34	24,19	18,23	50,61	1,79	5,76
13	23,00	19,73	50,91	1,30	5,39	23,65	18,91	51,66	1,82	5,60
14	23,83	20,18	49,78	1,42	5,31	24,07	19,70	50,01	1,78	5,59
15	23,33	18,60	52,18	1,19	5,28	24,09	18,02	52,46	1,79	5,65
16	24,50	19,29	51,63	0,61	5,35	24,80	19,03	50,74	1,66	5,53
17	23,00	18,07	52,94	0,95	5,35	23,91	18,25	52,29	1,95	5,54
18	22,50	18,35	52,56	1,49	5,38	23,25	18,71	52,35	1,97	5,56
19	21,50	18,51	54,04	1,60	5,37	22,07	18,15	53,50	2,03	5,65
20	23,50	20,08	50,83	0,92	5,33	23,63	20,09	50,58	1,55	5,57
21	22,50	19,23	52,89	1,26	5,30	23,08	19,08	51,61	1,70	5,61
22	22,50	18,57	53,76	1,21	5,21	23,02	17,97	52,54	1,73	5,66
23	22,80	19,81	52,82	1,44	5,32	23,38	19,43	51,69	1,70	5,60
24	23,50	19,83	51,78	1,16	5,28	24,03	19,73	50,93	1,65	5,54
25	22,80	19,14	52,52	1,36	5,06	23,51	18,88	51,67	1,69	5,71
26	22,3	19,04	53,66	1,36	5,27	22,41	18,91	52,32	1,71	5,63
27	22,8	19,18	53,03	1,50	5,27	23,74	18,41	51,91	1,70	5,56
28	23,8	19,58	50,86	1,28	5,24	24,17	19,48	50,52	1,61	5,60

N° de muestra	ANÁLISIS POR REFERENCIA					ANÁLISIS POR NIRS (MUESTRA RALLADA)				
	Grasa	Proteína	Humedad	NaCl	pH	Grasa	Proteína	Humedad	NaCl	pH
	g/100 g					g/100 g				
29	22,5	19,21	52,77	1,47	5,34	22,83	19,38	51,86	1,71	5,63
30	22,7	19,02	52,78	1,26	5,34	23,40	18,94	51,83	1,59	5,65
31	21,31	19,22	51,40	0,81	5,23	21,84	20,68	51,81	1,26	5,56
32	22,28	25,4	49,40	0,79	5,31	22,89	22,94	48,90	1,00	5,34
33	21,73	22,39	50,41	0,64	5,15	21,98	21,56	50,68	0,98	5,50
34	21,46	20,84	49,07	0,49	5,12	29,95	22,47	48,52	0,58	5,62
35	21,24	20,17	53,90	0,78	5,1	21,89	20,00	53,66	0,97	5,64
36	21,74	18,68	53,09	1,00	5,15	22,11	20,82	51,95	1,16	5,53
37	23,3	21,23	50,12	0,65	5,22	23,23	20,82	50,92	1,15	5,64
38	21,5	21,18	52,17	0,66	5,16	22,11	20,42	52,17	1,17	5,65
39	21,09	18,06	51,07	0,97	5,23	23,27	20,51	51,22	1,18	5,56
40	24,42	21,94	48,41	0,52	5,21	24,80	22,05	48,07	0,91	5,52

## Anexo IV: Base de datos de muestras de quesos blandos analizados.

ID MUESTRA		PROTEÍNA <sup>1</sup> (%p/p)	HUMEDAD <sup>2</sup> (%p/p)	GRASA <sup>1</sup> (%p/p)	pH	NaCl <sup>1</sup> (%p/p)	Aw
1	Queso Cremoso	25,42	50,04	32,45	5,21	0,41	0,971
2	Queso Cremoso	17,97	59,19	24,12	5,22	0,54	0,974
3	Queso Cuartirolo	24,94	49,75	32,73	5,12	0,68	0,968
4	Queso Cremoso	23,22	49,66	33,96	5,17	0,55	0,967
5	Queso Cremoso	25,17	50,05	32,00	5,29	0,54	0,965
6	Queso Cremoso	23,76	52,68	27,83	5,28	0,85	0,964
7	Queso Cuartirolo	27,15	48,00	34,08	5,20	0,48	0,963
8	Queso Cuartirolo	20,57	54,86	27,76	5,06	0,70	0,971
9	Queso Cremoso	22,40	51,65	33,03	5,25	0,42	0,972
10	Queso Cremoso	24,52	53,33	26,31	5,33	0,68	0,966
11	Queso Cremoso	21,94	52,83	31,79	5,18	0,62	0,974
12	Queso Cremoso	25,01	51,84	30,91	5,42	0,39	0,976
13	Queso Cremoso- doble crema	18,08	46,12	48,31	5,24	0,41	0,974
14	Queso Cremoso- doble crema	18,90	44,94	51,10	5,25	0,42	0,973
15	Queso Cremoso	23,75	47,85	39,85	5,26	0,50	0,968
16	Queso Cremoso	21,34	52,18	32,60	5,28	0,73	0,967
17	Queso Cremoso	21,02	53,22	33,90	5,03	0,47	0,975
18	Queso Cremoso	24,25	53,95	26,34	5,17	0,73	0,968

	<b>ID MUESTRA</b>	<b>PROTEÍNA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>HUMEDAD<sup>2</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>GRASA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>pH</b>	<b>NaCl<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>A<sub>w</sub></b>
19	Queso Cremoso	23,08	52,03	32,36	5,32	0,84	0,959
20	Queso Cremoso	24,72	49,31	33,87	5,28	0,47	0,974
21	Queso Cremoso	21,75	53,82	30,33	5,26	0,57	0,974
22	Queso Cremoso-"Port Salut"	24,04	51,48	29,52	5,25	0,84	0,966
23	Queso Cremoso	24,71	48,14	36,21	5,21	0,85	0,961
24	Queso Cremoso	20,32	49,35	40,03	5,22	0,59	0,963
25	Queso Cremoso- doble crema	24,12	49,82	36,45	5,15	0,27	0,974
26	Queso Cuartirolo-"Port Salut" c/sal	27,29	48,18	33,25	5,39	0,39	0,967
27	Queso Cremoso	23,03	50,04	34,61	5,21	0,48	0,963
28	Queso Cremoso	21,62	51,78	33,94	5,17	0,61	0,970
29	Queso Cremoso-"Port Salut"	20,81	55,80	28,92	5,30	1,06	0,973
30	Queso Cuartirolo-"Port Salut" s/sal	26,96	48,39	34,00	5,40	0,04	0,963
31	Queso Cuartirolo	21,38	53,25	31,44	5,18	0,77	0,971
32	Queso Cremoso	22,09	51,73	34,09	5,10	0,43	0,976
33	Queso Cremoso	24,80	50,86	33,31	5,32	0,37	0,978
34	Queso Cremoso	22,34	51,35	34,75	5,28	0,46	0,973
35	Queso Cremoso	24,42	53,39	28,85	5,31	0,50	0,975
36	Queso Cremoso	16,86	59,62	26,14	5,29	0,55	0,975
37	Queso Cremoso	22,50	52,45	32,90	5,39	0,58	0,973
38	Queso Cremoso	23,55	55,05	28,24	5,18	0,58	0,971

	<b>ID MUESTRA</b>	<b>PROTEÍNA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>HUMEDAD<sup>2</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>GRASA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>pH</b>	<b>NaCl<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>Aw</b>
39	Queso Cuartirolo	26,18	51,80	29,05	5,23	0,44	0,977
40	Queso Cremoso	22,89	51,76	33,65	5,11	0,49	0,971
41	Queso Cremoso	25,74	48,45	34,98	5,35	0,61	0,972
42	Queso Cremoso	23,31	50,22	34,34	5,23	0,55	0,97
43	Queso Cremoso	23,11	51,20	33,48	5,25	0,55	0,97
44	Queso Cremoso	23,67	50,95	34,62	5,29	0,41	0,972
45	Queso Cremoso-"Port Salut" c/sal	27,57	47,78	34,83	5,41	0,29	0,97
46	Queso Cremoso	22,22	52,82	31,90	5,23	0,67	0,971
47	Queso Cremoso	25,59	48,89	35,68	5,43	0,32	0,977
48	Queso Cuartirolo	21,48	53,25	30,91	5,24	0,70	0,972
49	Queso Cremoso	19,90	50,97	36,90	5,20	0,55	0,971
50	Queso Cremoso	23,37	47,06	42,13	5,30	0,40	0,966
51	Queso Cremoso-"Port Salut"	26,51	52,54	26,57	5,36	0,46	0,975
52	Queso Cremoso	20,16	54,66	34,38	4,82	0,68	0,978
53	Queso Cremoso	25,31	52,63	27,82	5,08	0,82	0,975
54	Queso Cremoso	19,50	50,99	34,19	5,43	1,52	0,960
55	Queso Cremoso	23,03	52,28	32,30	5,40	0,75	0,974
56	Queso Cremoso	23,36	52,09	31,94	5,44	0,95	0,973

	<b>ID MUESTRA</b>	<b>PROTEÍNA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>HUMEDAD<sup>2</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>GRASA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>pH</b>	<b>NaCl<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>Aw</b>
57	Queso Cremoso	22,56	50,79	35,16	5,21	0,74	0,974
58	Queso Cremoso	24,01	49,59	33,52	5,33	1,05	0,968
59	Queso Cuartirolo	22,84	53,51	27,95	5,12	0,94	0,976
60	Queso Cremoso-"Port Salut"	29,27	51,28	25,69	5,38	1,05	0,965
61	Queso Cremoso	24,00	54,19	27,09	5,15	1,03	0,972
62	Queso Cremoso	27,93	61,92	7,67	5,29	1,42	0,97
63	Queso Cremoso-"Port Salut"	23,00	52,60	30,66	5,32	1,58	0,958
64	Queso Cremoso	23,95	51,23	32,44	5,31	0,79	0,973
65	Queso Cremoso	22,26	51,91	33,32	5,28	0,96	0,971
66	Queso Cremoso	23,29	51,40	33,48	5,30	0,69	0,970
67	Queso Cremoso	23,75	52,52	31,85	5,06	1,29	0,965
68	Queso Cremoso	24,65	49,58	34,70	5,21	0,61	0,973
69	Queso Cremoso	16,25	53,78	41,31	4,98	0,79	0,973
70	Queso Cremoso	23,22	49,61	34,78	5,13	1,25	0,966
71	Queso Cremoso	26,19	49,40	33,51	5,26	0,64	0,974
72	Queso Cuartirolo	21,59	54,82	25,69	5,21	0,85	0,97
73	Queso Cremoso	21,87	51,54	33,81	5,14	0,96	0,969
74	Queso Cremoso	22,35	54,50	26,82	5,15	1,22	0,969

	<b>ID MUESTRA</b>	<b>PROTEÍNA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>HUMEDAD<sup>2</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>GRASA<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>pH</b>	<b>NaCl<sup>1</sup></b> <b>(%p/p)</b>	<b>Aw</b>
75	Queso Cremoso	22,64	51,79	32,87	5,14	0,81	0,973
76	Queso Cremoso	24,52	51,64	30,43	5,37	1,14	0,968
77	Queso Cremoso	22,56	51,35	32,92	5,11	0,85	0,974
78	Queso Cremoso-"Port Salut"	26,27	52,27	26,95	5,27	0,50	0,967
79	Queso Cremoso- doble crema	21,55	47,65	40,49	5,16	0,50	0,973
80	Queso Cremoso-"Port Salut"	22,43	51,00	33,38	5,12	1,05	0,966
81	Queso Cremoso-"Port Salut"	23,81	50,37	33,93	5,27	0,76	0,971
82	Queso cuartirolo	22,45	51,96	31,19	5,25	0,72	0,971
83	Queso Cremoso	18,38	54,37	30,58	5,07	1,11	0,972
84	Queso Cremoso	22,61	51,93	31,89	5,20	1,16	0,969
85	Queso Cremoso-"Port Salut" c/sal	26,44	48,73	33,37	5,35	0,73	0,972
86	Queso Cremoso	24,13	50,23	33,99	5,29	0,50	0,977

**Nota:**

<sup>1</sup> g/100 g de queso expresados en base seca

<sup>2</sup> g/100 g de queso.