



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

**DESARROLLO DE MICROCÁPSULAS A PARTIR DE PROTEÍNAS DE
LACTOSUERO MEDIANTE LOS PROCESOS DE EMULSIFICACIÓN Y
GELACIÓN: ENCAPSULAMIENTO DE ÁCIDOS GRASOS
POLIINSATURADOS**

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN

CIENCIA Y TECOLOGÍA AGROALIMENTARIA



DIRECCIÓN GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

DEYSI GÓMEZ MALDONADO



Chapingo, Estado de México, diciembre de 2014

“Desarrollo de microcápsulas a partir de proteína de lactosuero mediante los procesos de emulsificación y gelación: encapsulamiento de ácidos grasos poliinsaturados”

Tesis realizada por Deysi Gómez Maldonado, bajo la dirección del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA
AGROALIMENTARIA**

DIRECTORA: DRA. CONSUELO S.O. LOBATO CALLEROS

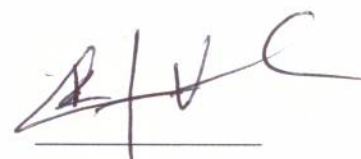
NOMBRE



FIRMA

ASESOR: DR. EDUARDO JAIME VERNON CARTER

NOMBRE



FIRMA

ASESOR: DR. ELEAZAR AGUIRRE MANDUJANO

NOMBRE



FIRMA

ASESOR: DRA. OFELIA SANDOVAL CASTILLA

NOMBRE



FIRMA

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por darme fortaleza, salud, sabiduría y paciencia para enfrentar los retos que se me han presentado y poder culminar con este proyecto de vida.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado en mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo por darme la oportunidad de superarme en una etapa más de mi formación profesional y por facilitarme sus instalaciones para el desarrollo experimental de este trabajo.

Al Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de México (COMECyT) por el apoyo económico otorgado para concluir la tesis de posgrado.

A la Dra. Consuelo S. O. Lobato Calleros, porque ha contribuido favorablemente en mi formación académica marcando de manera significativa mi futuro profesional, por la gran motivación que ha sembrado en mí en el ámbito de la investigación, por su dedicación, por estar siempre disponible, por sus consejos y paciencia en la escritura de la tesis, y por ser una gran persona.

Dr. Eleazar Aguirre Mandujano, por sus valiosas aportaciones y acertadas observaciones en la revisión de este trabajo de investigación y por todo su apoyo para la realización de este estudio.

Dra. Ofelia Sandoval Castilla, por su paciencia y asesoría durante el transcurso de la investigación, por sus sabios consejos y valiosa amistad.

Al Dr. Jaime Vernon Carter, por su participación y apoyo en la realización de este proyecto de investigación.

A la Biol. Yolanda Hornelas Orozco investigadora del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por su permanente disposición, colaboración y sobre todo por su paciencia para realizar el análisis de microestructura de esta investigación.

A la Dra. Landy Hernández Rodríguez, por sus acertados consejos y valiosa amistad que han fortalecido mi vida profesional y personal.

Al comité evaluador, por sus valiosas aportaciones y acertadas correcciones en el documento final.

A la Dra. Ma. Carmen Ybarra Moncada por su apoyo en el trámite de culminación de esta investigación.

A la Sra. Esperanza Salinas Banda, por todo el apoyo brindado y por su amistad.

DEDICATORIAS

Dedicada en especial a:

A mis padres:

María Maldonado Espinoza y Antonio Gómez Gutiérrez, como muestra de mi gratitud por los valores que han sembrado en mí, por enseñarme a luchar y darme las herramientas para ser cada día mejor inculcándome deseos de superación constante y fortaleza.

A mi esposo:

Víctor Hugo Calderón Ordoñez por ser mi fortaleza interior, por estar conmigo incondicionalmente apoyando mis decisiones y porque vives en mi corazón.

A mi hijo:

Víctor Hugo Calderón Gómez, mi razón de ser y motor de lucha en esta vida.

Con cariño a mis hermanos:

Audiel, Armando, Javier, Daniel B. Erisbelda, Nelly, Iveth y Rósali, por su amor y apoyo incondicional.

DATOS BIOGRÁFICOS

Deysi Gómez Maldonado nació el 21 de Junio de 1986 en el estado de Michoacán. En el 2009, obtuvo el título de Ingeniero Agroindustrial en la Universidad de Chapingo con la tesis “Análisis de las oportunidades para dar valor agregado al fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.) en la región oriente del estado de Michoacán”. Posteriormente laboró como Técnico Asistente en el proyecto “Red Mexicana de Investigación en Política Agroalimentaria” (AGROPROSPECTA). En 2010, prestó sus servicios profesionales en la empresa Tepehuana S.A. de C.V., donde laboró como Auxiliar de Aseguramiento de Calidad. En 2011, se desempeñó como Jefe de Control de Calidad en la empresa Fresco Logística División Alimentos S.A. de C.V. Durante su formación profesional y laboral ha recibido cursos de capacitación en las áreas de lácteos, microencapsulación, calorimetría, microscopía electrónica de barrido y evaluación sensorial de los alimentos.

DESARROLLO DE MICROCÁPSULAS A PARTIR DE PROTEÍNA DE LACTOSUERO MEDIANTE LOS MÉTODOS DE EMULSIFICACIÓN Y GELACIÓN: ENCAPSULAMIENTO DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS

DEVELOPMENT OF MICROCAPSULES USING WHEY PROTEIN BY MEANS OF EMULSIFICATION AND GELATION PROCESSES: ENCAPSULATION OF POLIUNSATURATED FATTY ACIDS

Gómez-Maldonado, D.¹; Lobato-Calleros, C.²; Vernon-Carter, J. E.³; Aguirre-Mandujano, E.²; Sandoval-Castilla, O.¹

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue microencapsular aceites de semilla de uva, de chía y linaza, usando como material encapsulante las proteínas de lactosuero, mediante emulsificación y gelación por calor; así como la evaluación de su aplicación en queso Panela reducido en grasa láctea. Se obtuvieron microcápsulas que variaron en tamaño de 485.7 ± 21.1 a 627.1 ± 31.2 μm , con rendimientos mayores a 90 % donde las M_U y M_L , mostraron porcentajes de proteína y de aceite encapsulado comparables entre sí ($p > 0.05$), y mayores ($p \leq 0.05$) que aquellos presentados por M_{CH} . Se elaboraron tres quesos Panela bajos en grasa preparados a partir de leche (13.5, 6.75 y 0 g grasa L^{-1}) adicionados con microcápsulas conteniendo aceites esenciales ($Q_{50GL,50CH}$, $Q_{25GL,75CH}$, $Q_{0GL,100CH}$, $Q_{50GL,50U}$, $Q_{25GL,75U}$, $Q_{0GL,100U}$, $Q_{50GL,50L}$, $Q_{25GL,75L}$, $Q_{0GL,100L}$). Como control se elaboró un queso completo en grasa (Q_{100GL}). Los quesos de los diferentes tratamientos después de 48 h, fueron sujetos a análisis de composición química, determinación instrumental de textura, análisis de microestructura y evaluación sensorial. Éstos difirieron ($p \leq 0.05$) en sus contenidos de grasa, humedad y proteína, dependiendo del grado de sustitución de la grasa láctea por microcápsulas, así como del tipo de aceite encapsulado, presentando aumentos en sus contenidos de proteína y disminución en aquellos de grasa. Los quesos $Q_{50GL,50CH}$, $Q_{50GL,50U}$ y $Q_{50GL,50L}$ mostraron características texturales similares al queso Q_{100GL} , siendo el $Q_{50GL,50L}$ el más aceptado por los consumidores.

Palabras clave: gelación, microencapsulación, proteína de lactosuero, queso panela.

ABSTRACT

The objective of this work was to microencapsulate grape seed, chia seed and linseed oils with heat emulsified and gelated whey proteins as encapsulating material and to evaluate their application in reduced fat Panela cheese. Microcapsules that varied in size from 485.7 ± 21.1 to 627.1 ± 31.2 were obtained with yields greater than 90%. M_U and M_L had comparable percentages of protein and encapsulated oil ($p > 0.05$), which were higher ($p \leq 0.05$) than those of M_{CH} . Three low fat Panela cheeses were prepared from milk (13.5, 6.75, 0 g fat L^{-1}) supplemented with microcapsules containing essential oils ($Q_{50GL,50CH}$, $Q_{25GL,75CH}$, $Q_{0GL,100CH}$, $Q_{50GL,50U}$, $Q_{25GL,75U}$, $Q_{0GL,100U}$, $Q_{50GL,50L}$, $Q_{25GL,75L}$, $Q_{0GL,100L}$). A whole fat cheese (Q_{100GL}) was developed as a control. After 48 h, the cheeses of different treatments were subjected to analysis of chemical composition, instrumental determination of texture, analysis of microstructure and sensory evaluation. These differed ($p \leq 0.05$) in their fat, moisture and protein contents, depending on the degree of substitution of milk fat by microcapsules, as well as on the type of oil encapsulated, presenting increases in protein content and decreases in fat. The cheeses $Q_{50GL,50CH}$, $Q_{50GL,50U}$ and $Q_{50GL,50L}$ showed textural characteristics similar to cheese Q_{100GL} and $Q_{50GL,50L}$, the latter was the most accepted by consumers.

Keywords: freezing, microencapsulation, whey protein, Panela cheese.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIAS	iii
DATOS BIOGRÁFICOS.....	iv
RESUMEN	v
LISTA DE CUADROS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo General	4
2.2 Objetivos Particulares	4
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
3.1 Alimentos funcionales	5
3.2 Generalidades del queso como alimento funcional.....	6
3.2.1 Definición de queso	6
3.2.2 Composición química del queso	7
3.2.3 Importancia funcional del queso panela.....	8
3.3 Aceites vegetales como fuente de ácidos grasos poliinsaturados	9
3.4 Generalidades e importancia de la chía.....	11
3.4.1 Aceite de chía	12
3.5 Generalidades e importancia de la uva.....	12
3.5.1 Aceite de semilla de uva	13
3.6 Generalidades e importancia de la linaza	13
3.6.1 Aceite de linaza.....	14
3.7 Emulsiones	14
3.7.1 Mecanismos de desestabilización de las emulsiones	16
3.8 Microencapsulación	18
3.8.1 Materiales usados para la formación de emulsiones y microcápsulas	19
3.8.2 Uso de proteínas de lactosuero	20
3.8.3 Microencapsulación por gelación por calor	20
3.9 Características texturales.....	21
3.10 Evaluación sensorial	23

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1 Materiales	26
4.2 Metodología	27
4.2.1 Formulaci3n y preparaci3n de las emulsiones aceite-en-agua (O/W). 27	
4.3 Caracterizaci3n de emulsiones	28
4.3.1 Distribuci3n de tama1o y morfolog1a de gota.....	28
4.4 Elaboraci3n de microc3psulas	29
4.5 Caracterizaci3n de microc3psulas	30
4.5.1 Rendimiento.....	30
4.5.2 Tama1o.....	30
4.5.3 Eficiencia de microencapsulaci3n (EME)	30
4.5.4 An3lisis qu1mico proximal.....	31
4.5.5 Microestructura	31
4.5.6 Propiedades texturales	32
4.6 Quesos tipo Panela.....	33
4.6.1 Variaciones	33
4.6.2 M3todo de preparaci3n	33
4.6.3 An3lisis qu1mico proximal.....	37
4.6.4 An3lisis Instrumental de textura	37
4.6.5 An3lisis de Microestructura.....	37
4.6.6 Evaluaci3n sensorial	38
4.7 An3lisis de datos.....	39
5. RESULTADOS Y DISCUSI3N	40
5.1 Morfolog1a y tama1o de gotas de las emulsiones	40
5.2 Rendimiento y composici3n qu1mica de las microc3psulas	43
5.3 Tama1o y eficiencia de entrapamiento de aceite de las microc3psulas.....	46
5.4 Microestructura de las microc3psulas.....	48
5.5 Propiedades texturales de las microc3psulas	53
5.6 Composici3n qu1mica de los quesos.....	54
5.7 Microestructura de los quesos	57
5.8 Propiedades texturales de los quesos	60
5.3.4 An3lisis Sensorial.....	66
6. CONCLUSIONES	73
7. BIBLIOGRAF1A	75

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Composición de ácidos grasos de los aceites de semillas de chía, linaza y uva.	11
Cuadro 2. Contenidos de grasa láctea de la leche y cantidades de microcápsulas utilizados para la elaboración de las variaciones de queso tipo Panela.....	34
Cuadro 3. Diámetro volumétrico-superficial medio ($D_{3,2}$) ($\pm$ DE) de las gotas de las emulsiones aceite-en-agua.	42
Cuadro 4. Valores medios de rendimiento ($\pm$ DE) de las microcápsulas	43
Cuadro 5. Composición química en base húmeda (valores medios $\pm$ DE) de las microcápsulas.	45
Cuadro 6. Valores medios ($\pm$ DE) de las propiedades texturales de las microcápsulas.....	53
Cuadro 7. Composición química (Valores medios $\pm$ DE) de las variaciones de queso tipo Panela, después de un día de almacenamiento.....	56
Cuadro 8. Composición química (Valores medios $\pm$ DE) de las variaciones de queso tipo Panela, después de quince días de almacenamiento.	57
Cuadro 9. Propiedades texturales de los quesos (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.	60
Cuadro 10. . Propiedades texturales de los quesos con 50 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.	62
Cuadro 11. . Propiedades texturales de los quesos con 75 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.	63
Cuadro 12. Propiedades texturales de los quesos con 100 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.	64

Cuadro 13. Propiedades texturales de los quesos (Valores medios $\pm$ DE), después de 15 días de almacenamiento. 65

Cuadro 14. Valores de (Friedman, $P < 0,05$) para la prueba Justo como lo esperaba (JAR) para atributos sensoriales en queso panela. 67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Curva fuerza- tiempo resultante del Análisis de Perfil de Textura (Bourne, 2002).....	23
Figura 2. Diagrama de bloques del proceso de elaboración de los quesos tipo Panela.....	36
Figura 3. Micrografías ópticas de emulsiones aceite-en-agua después de 1 día de almacenamiento: (a, b) E_L ; (c, d) E_U y (e, f) E_{CH}	41
Figura 4. Micrografías MEB de las microcápsulas: (a y b) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (c y d) M_U conteniendo aceite de uva y (e y f) M_L conteniendo aceite de linaza.	49
Figura 5. Micrografías MEB de la superficie de las microcápsulas: (a, b, c) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (d, e, f) M_U conteniendo aceite de uva y (g, h, i) M_L conteniendo aceite de linaza. Magnificación 5000x, 2500 × y 1000x.	51
Figura 6. Micrografías MEB de la estructura interna de las microcápsulas: (a y b) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (c y d) M_U conteniendo aceite de uva y (e y f) M_L conteniendo aceite de linaza.	52
Figura 7. Micrografías MEB de queso tipo Panela: (a y b) completo en grasa (Q_{100GL}); (c y d) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de chía ($Q_{50GL,50CH}$); (e y f) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de uva ($Q_{50GL,50U}$) y (g y h) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de linaza ($Q_{50GL,50L}$), a magnificaciones de 2500 y 1000 ×.....	58
Figura 8. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para el atributo de color.	68
Figura 9. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para el atributo de color.	69
Figura 10. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para sabor.....	69

Figura 11. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para textura..... 70

Figura 12. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para salado. 70

Figura 13. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para apariencia. 71

Figura 14. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para aceptabilidad global (A.G.)..... 72

1. INTRODUCCIÓN

En México, la obesidad y el sobrepeso representan un grave problema de salud pública. Nuestro país ocupa el primer lugar mundial en niños con obesidad y sobrepeso (5.54 millones o 26 % en edad escolar), y segundo en adultos (20.52 millones o 72 % de las mujeres mayores a 20 años; 16.96 millones o 66 % de los hombres mayores a 20 años), requiriendo su atención el 7 % del presupuesto destinado a salud, sólo debajo de Estados Unidos que invierte el 9 % (Secretaría de Salud, 2014). En general se ha encontrado que patrones dietéticos en los que se consumen alimentos con altos contenidos de grasas saturadas de origen animal y cereales altamente procesados, están frecuentemente asociados al sobrepeso y la obesidad (Baxter *et al.*, 2006). Se ha establecido que la manera más eficaz de prevenir o retardar la incidencia de sobrepeso y obesidad es a través de cambios en el estilo de vida (evitar el sedentarismo, ejercitar más) y en la dieta (consumir alimentos nutricionalmente adecuados). Sobre este último aspecto, el desarrollo de productos lácteos, como el queso, conteniendo menos grasa láctea saturada y un mejor balance de ácidos grasos saturados-insaturados, puede contribuir a mejorar la salud de los consumidores (Lobato-Calleros *et al.*, 2006).

El queso Panela, es un queso fresco de consumo popular en México, apreciado por sus características texturales y sensoriales. Para el año 2013 se produjeron 287 863 ton de queso, con un valor en el mercado de 12 908 millones de pesos, de los cuales el 17 % correspondió a queso Panela (SAGARPA, 2013). Resulta entonces interesante, el desarrollo de queso tipo Panela reducido en grasa láctea; sin embargo, para su desarrollo debe considerarse que conforme el contenido de grasa es reducido, más zonas de proteína no interrumpidas constituyen la microestructura del producto, ocurriendo un alto grado de entrecruzamiento de las cadenas de caseína y la formación de una red tridimensional con alta resistencia a la deformación (Lobato-Calleros *et al.*, 2008). Así, para la formulación de queso reducido en grasa se requiere de ingredientes que interactúen o se embeban en la red evitando la agregación de la matriz proteínica. En este sentido, se ha propuesto la sustitución parcial de la grasa láctea por aceites vegetales poliinsaturados emulsificados que ayuden a reducir los niveles de colesterol sanguíneo (Lobato-Calleros *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2010).

Entre los aceites vegetales destacan aquellos esenciales, como el de semilla de uva, de semilla de chía y de linaza, por ser una fuente alternativa de ácidos grasos esenciales y por sus propiedades antimicrobianas y/o antioxidantes y nutricionales (Kim *et al.*, 2010; Jiménez *et al.*, 2013). No obstante, su manejo y uso en la industria alimentaria se dificulta, debido a su alta volatilidad, hidrofobicidad, labilidad y susceptibilidad a degradación (Tonon *et al.*, 2011). Una alternativa para la protección de estos aceites ante factores que causan su

deterioro; además de facilitar su uso en la industria de los alimentos y ampliar su vida de anaquel, la constituye su microencapsulación. Esta técnica también favorece la conservación de su olor, sabor y propiedades funcionales (Ahn *et al.*, 2008).

Investigaciones recientes han desarrollado formulaciones novedosas y tecnologías de microencapsulación donde aprovechan las proteínas del suero de la leche por sus propiedades como materiales de barrera y sistemas de liberación entérica.

En adición, se ha demostrado que las matrices constituidas por proteínas de lactosuero proporcionan protección efectiva contra la oxidación de los lípidos en condiciones de almacenamiento (Heidebach *et al.*, 2009). Lee *et al* (2000) informaron que mediante el método de gelación de las proteínas de lactosuero por calor se pueden generar barreras insolubles en agua que ofrecen elevada protección a compuestos bioactivos encapsulados. Además de que es un método sencillo, no representa elevados costos de producción. Con base en lo expuesto en este trabajo, se propone la microencapsulación de aceites de semilla de uva, semilla de chía y linaza, usando como material encapsulante las proteínas del suero de la leche, mediante los métodos de emulsificación y gelación por calor; así como la evaluación de su aplicación en el desarrollo de queso tipo Panela reducido en grasa láctea.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Desarrollar microcápsulas a partir de proteína de lactosuero, mediante los procesos de emulsificación y gelación, y evaluar su aplicación como vehículos de ácidos grasos poliinsaturados en queso tipo panela.

2.2 Objetivos Particulares

Estandarizar el método de obtención de microcápsulas conteniendo aceites vegetales, a partir de proteína de lactosuero, mediante los procesos de emulsificación y gelación.

Determinar la eficiencia de microencapsulación de aceite de chía, aceite de semilla de uva y aceite de linaza, tamaño de partícula, rendimiento, propiedades texturales, composición química y microestructura de las microcápsulas obtenidas.

Elaborar quesos tipo Panela reducidos en grasa mediante la sustitución parcial y total de la grasa láctea por microcápsulas conteniendo aceites de chía, uva y linaza.

Evaluar los atributos mecánico-sensoriales de los quesos tipo Panela reducidos en grasa en comparación con aquellas de un queso completo en grasa láctea.

3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

3.1 Alimentos funcionales

En los últimos años se ha desarrollado una creciente preferencia de los consumidores hacia productos alimenticios que posean propiedades funcionales. Estos además de su contribución nutricia, proporcionan beneficios a la salud del ser humano (Alvidrez-Morales *et al.*, 2002). Entre algunos ejemplos de alimentos funcionales, destacan aquellos alimentos naturales que contienen ciertos minerales, vitaminas, ácidos grasos, fitoesteroles, fibra, sustancias antioxidantes; así como los alimentos modificados y enriquecidos con este tipo de sustancias o con microorganismos probióticos (Aggett,1999). Se han descrito efectos benéficos del consumo de estos alimentos sobre el crecimiento y desarrollo, metabolismo o utilización de nutrientes, defensa antioxidante, sistema cardiovascular, fisiología o funcionamiento intestinal y funciones psicológicas y conductuales (Ashwell, 2004). De tal manera que existe una clara relación entre los alimentos que se consumen y la salud. Tal dependencia es clara en enfermedades como la diabetes no insulino dependiente, la osteoporosis, la hipertensión, el cáncer del tubo digestivo o de mama, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares, etc. Existe por tanto la posibilidad de mejorar la salud a través de una alimentación adecuada (Rowland, 2002). Lo anterior, ha favorecido el actual aumento de la demanda de alimentos que mejoren el estado de salud, llamados también

alimentos “funcionales” (Wildman, 2001), por lo que el mercado de esta categoría de alimentos continúa expandiéndose en paralelo con el creciente interés de los consumidores sobre el papel de la dieta en la conservación y mantenimiento de la salud (Stanton *et al.*, 2001) y representa una gran oportunidad para la industria de alimentos.

Entre las tendencias para el desarrollo de alimentos funcionales destacan la reducción del contenido de calorías, el desarrollo de productos con menor contenido en grasas o con grasas más saludables y productos de bajo índice glicémico, entre otros.

3.2 Generalidades del queso como alimento funcional

3.2.1 Definición de queso

El queso es un alimento de amplio consumo a nivel mundial, cuyas características nutritivas, funcionales, texturales y sensoriales difieren entre cada tipo. Se produce a partir de leches de diversas especies de mamíferos (Alais, 2001). Se estiman más de 2000 variedades de queso (Gunasekaran y Ak, 2003) entre madurados, semi-madurados y frescos. No obstante en nuestro país predomina el consumo de quesos frescos, mismos que forman parte de una enorme variedad de platillos que constituyen nuestro legado gastronómico.

La Norma Oficial Mexicana NOM-121-SSA1-1994, define como queso a los productos elaborados con la cuajada de leche estandarizada y pasteurizada de vaca o de otras especies animales, con o sin adición de crema, obtenida por la coagulación de la caseína con cuajo, gérmenes lácticos, enzimas apropiadas,

ácidos orgánicos comestibles, drenada, prensada o no, con o sin adición de fermentos de maduración, mohos especiales, sales fundentes e ingredientes comestibles opcionales, dando lugar a las diferentes variedades de quesos pudiendo por su proceso ser: fresco, madurado o procesado.

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.*, 2006).

3.2.2 Composición química del queso

La composición química del queso está determinada por factores como la calidad y contenidos de proteína y grasa de la leche de proceso, pero también se ve afectada por el contenido de agua de la pasta del queso (Alais, 2001).

La grasa láctea está constituida por diversos ácidos grasos, de los cuales los saturados representan el 70 % en peso; mientras que los monoinsaturados el 27 % y los dienos y trienos sólo el 3 % (Varnam, 1994). La grasa se encuentra en la leche bajo la forma de pequeños glóbulos de 1.5 a 10 μm de diámetro, dispersos en la fase acuosa en forma de emulsión. Los glóbulos de grasa están recubiertos por una película protectora de aproximadamente 10 nm, formada por la asociación de tres tipos de sustancias: glicéridos de alto punto de fusión, fosfolípidos (lecitina y cefalina) y próticos (Keating, 1999). Los fosfolípidos y

prótidos están ligados entre sí y se encuentran en equilibrio con el lactosuero que los contiene; hay alrededor de dos veces más proteínas (40-50%) que fosfolípidos (30%) (Alais, 2001). Las proteínas citoplasmáticas representan cerca del 1% de la proteína total en la leche. La membrana de los glóbulos de grasa también contiene elementos traza (Cu, Mo, Zn, Fe, Ca y Mg), alrededor de 10 enzimas diferentes, caroteno y colesterol. Los fosfolípidos se localizan a través de la interface y las proteínas se orientan dependiendo de la polaridad de sus residuos de aminoácidos (Alais, 2001).

3.2.3 Importancia funcional del queso panela

El queso fresco tipo Panela es un queso blanco, suave, cremoso, con una delicada textura y agradable sabor a leche fresca y sal (Villegas y Cervantes, 2011). Este tipo de queso presenta un contenido de humedad entre 50 y 60 % y un pH inicial por arriba de 6. Por estas características es un producto de vida de anaquel limitada aun a temperaturas de refrigeración (Vega, 1997). El queso fresco debe su alto contenido de humedad al suero que retiene durante la coagulación de las caseínas durante su producción (Lobato- Calleros *et al.*, 2000). Esta humedad desempeña un papel fundamental en sus atributos sensoriales y de textura, así como en su vida de anaquel y rendimiento (Escobar *et al.*, 2012). El queso fresco es un sistema metaestable que sufre con el tiempo cambios marcados en su contenido de humedad, su textura, atributos sensoriales y rendimiento (Lobato- Calleros *et al.*, 2006).

3.3 Aceites vegetales como fuente de ácidos grasos poliinsaturados

Los componentes de reserva de las semillas consisten en proteínas, carbohidratos y lípidos. La proporción relativa y localización de estos compuestos varía de acuerdo a la especie (Baud *et al.*, 2010).

Las semillas, en general, son fuente de compuestos lipídicos que incluyen ácidos grasos, tocoferoles, triglicéridos, fosfolípidos, esfingolípidos y esteroides (Matthaus *et al.*, 2003). Los lípidos son nutrientes importantes en la dieta tanto humana como animal; entre sus componentes, destacan los ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI), los cuales son componentes dietarios que participan en múltiples procesos fisiológicos, cumpliendo un rol estructural en los fosfolípidos de las membranas celulares y son sustratos para la síntesis de diversos mediadores que modelan múltiples procesos como inmunidad, patologías infecciosas y enfermedades inflamatorias.

Existe un grupo de ácidos grasos que se denominan ácidos grasos esenciales (AGE), los cuales no pueden ser producidos por el hombre y deben ser incorporados en la dieta. Los AGE para el hombre son: ácidos grasos omega 3 y ácidos grasos omega 6, cuyo precursor es el ácido linoleico. El primer exponente de los ácidos grasos omega-3 es el ácido α -linolénico (C18:3), el cual vía desaturasas y elongasas se puede transformar en el ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y posteriormente en el ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA). A su vez, el primer exponente de los ácidos grasos omega-6 es el ácido linoleico (C18:2) y uno de sus derivados más importantes es el ácido araquidónico (C20:4, AA) (Valenzuela *et al.*, 2011; Knoch *et al.*, 2009).

El AA, el EPA y el DHA son importantes componentes estructurales de los fosfolípidos de las membranas y son el sustrato para la formación de una serie de derivados lipídicos llamados eicosanoides.

Los ácidos EPA y DHA pueden ser aportados por la dieta (preformados), encontrándose en pescados, mariscos y algas o a partir de su precursor de origen vegetal. El ácido linolénico, precursor de DHA, tiene baja disponibilidad a partir de la dieta, siendo muy restringido su consumo en algunas poblaciones.

Actualmente los cambios en los patrones de alimentación han provocado un mayor consumo de aceites vegetales ricos en ácido linoleico (omega-6), por lo que la relación omega-6/ omega-3 es del orden de 15:1 en muchos países, cuando la relación ideal es 5:1 o máximo 10:1 (Valenzuela *et al.*, 2011).

La utilización de semillas con aceites de alto contenido de ácido linolénico o del aceite mismo en alimentación es una herramienta interesante para aumentar el aporte de ácidos grasos omega 3 a la dieta. Una alternativa la constituyen los aceites de semillas de linaza (*Linum usitatissimum* L), chía (*Salvia hispánica* L), semilla de uva (*Vitis vinífera* L) que son ricos en ácidos grasos poliinsaturados por lo que se consideran de alto valor nutricional (Cuadro 1).

Cuadro 1. Composición de ácidos grasos de los aceites de semillas de chía, linaza y uva.

Ácido graso	Chía [*] (%)	Linaza [*] (%)	Uva ^{**} (%)
C-14:0	0.08 ± 0,0	0.05 ± 0,0	0.06
C-15:0	-	-	0.01
C-16:0	7.29 ± 0.17	5.21 ± 0.10	7.36
C-17:0	0.03 ± 0.04	0.07 ± 0,0	0.06
C-18:0	3.84 ± 0.09	3.40 ± 0.07	4.45
C-20:0	0.23 ± 0.00	0.47 ± 0.02	-
C-22:0	-	0.13 ± 0.02	0.05
C-24:0	-	0.10 ± 0.00	0.01
C-16:1	0.06 ± 0.00	-	0.16
C-17:1	-	-	0.04
C-18:1	8.91 ± 0.30	15.76 ± 0.47	14.55
C-20:1	-	-	0.242
C-18:2	19.36 ± 0.16	16.23 ± 0.8	72.26
C-18:3	51.82 ± 1.49	55 ± 0.18	0.4
C-20:2	0.28 ± 0.03	-	0.04
SFA ^a	11.47	9.43	12.02
MUFA ^b	12.88	16.76	15
SFA + MUFA	24.35	26.19	27.02
PUFA ^c	74.18	73.54	72.73
Relación SFA:MUFA : PUFA	1:1.12:6.47	1:1.77:7.79	1:1.24:6.05

SFA: ácidos grasos saturados; MUFA: ácidos grasos monoinsaturados; PUFA: ácidos grasos poliinsaturados).

^{*} (Jiménez *et al.*, 2013); ^{**} (Lutterodt *et al.*, 2011).

3.4 Generalidades e importancia de la chía

La chía (*Salvia hispanica* L) es una especie que pertenece a la familia de la *labiatae*. Es una semilla nativa del sur de México y norte de Guatemala.

En la actualidad, la semilla de chía se ha convertido en fuente de gran interés gracias a su alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados, en especial del ácido α -linolénico (C18:3). El consumo de ácidos grasos poliinsaturados, en especial del α -linolénico se ha caracterizado por sus grandes efectos nutricionales.

La semilla de chía está constituida principalmente por aceite α -linolénico (32-39 %), no contiene colesterol, posee alrededor de 20 % de proteínas, 28 % de materia grasa y de 30 % de fibra dietética, además de calcio y hierro. (Figuerola *et al.*, 2008)

3.4.1 Aceite de chía

El aceite de chía es una fuente atractiva de ácido α -linolénico, 50-58 % del perfil de ácidos grasos presentes en la semilla. Otros componentes en orden decreciente, son el ácido linoleico (18-20 %), oleico (7- 9%), palmítico y esteárico (Ayerza, 2004). El aceite de semilla de chía es un producto natural, que tiene una composición química variable dependiendo de varios factores, tales como el entorno de cultivo y el sistema de extracción (Prámparo *et al.*, 2003).

3.5 Generalidades e importancia de la uva

La uva pertenece a la familia Vitaceae que agrupa unas 600 especies, la más conocida es la *Vitis vinífera* L. La piel u hollejo del fruto encierra en el interior la pulpa y semillas. Desde el punto de vista químico contiene agua, celulosa, ácidos orgánicos, minerales, y dos sustancias muy importantes taninos y flavonas. Las semillas contienen numerosas sustancias entre las que destacan taninos y ácidos grasos poliinsaturados (Shaker, 2006; Ahnet *et al.*, 2008; Choi y Lee, 2009).

México aunque no destaca entre los grandes productores de uva a nivel mundial, cuenta con una producción aproximada de 308 mil Ton de uva (SIAP, 2014).

3.5.1 Aceite de semilla de uva

El aceite de semilla de uva está compuesto en promedio de 90 % de ácidos grasos mono y poliinsaturados, los cuales le dan un valor como aceite comestible nutritivo, particularmente el ácido linoleico (58-78%, 18:2 n-6) seguido por ácido oleico (3-15%, 18:1n-9) y en menor proporción los ácidos grasos saturados (10%) (Bail *et al.*, 2008).

3.6 Generalidades e importancia de la linaza

La linaza (*Linum usitatissimum*) actualmente se cultiva en alrededor de 50 países, la mayoría de los cuales se encuentran en el hemisferio norte. Canadá es el principal productor, seguido por China, Estados Unidos e India (Daun *et al.*, 2003). La linaza contiene alrededor de 40% de lípidos, 30 % de fibra dietética y 20 % de proteína. La composición proximal varía considerablemente entre las variedades y de acuerdo a las condiciones ambientales en las que haya crecido la planta. En los cotiledones se encuentra el 87% de los lípidos y el 76% de la proteína de la semilla, en tanto que en el endosperma está sólo el 17% de los lípidos y el 16% de la proteína (Babu y Wiesenfeld, 2003; Daun *et al.*, 2003; Oohma, 2003).

La semilla de linaza es de 4 a 6 mm de longitud, aplanada, de forma oval y con un extremo aguzado. La cubierta de la semilla es de apariencia suave y brillante, y su color puede variar entre marrón oscuro y amarillo claro. (Daun *et al.*, 2003; Oomah, 2003).

Existen variedades de semillas de color amarillo o doradas y de color marrón; a pesar de la creencia de que el color externo de la semilla es un indicador de la

composición química de la linaza, no se han encontrado variaciones que sustenten que haya una diferencia entre ellas más allá de las causadas por la condiciones de cultivo (Daun *et al.*, 2003; Morris y Vaisey-Genserb, 2003).

3.6.1 Aceite de linaza

El aceite de linaza se compone de ácidos grasos saturados (9%), monoinsaturados (18 %) y poliinsaturados (73%), conteniendo una alta proporción de ácido α -linolénico (omega 3) en relación al ácido linoleico (omega 6). Se considera fuente importante de omega 3, el cual puede constituir del 52 a 57 % del total de los ácidos grasos (Tonon *et al.*, 2012).

3.7 Emulsiones

Una emulsión es una dispersión coloidal de dos líquidos inmiscibles. La fase dispersa se obtiene al romper uno de los líquidos, por medios mecánicos, en pequeñas gotas entre 0.1 y 10 μm , las cuales se distribuyen en la fase continua o dispersante. Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables y se pueden romper a través de diferentes procesos fisicoquímicos, dependiendo de su composición, microestructura, etc. (McClements, 2005). Las emulsiones pueden convertirse en cinéticamente estables en presencia de agentes tensoactivos (emulsionantes) que se adsorben en las superficies de las gotas y reducen la tensión interfacial.

Una emulsión estable es aquella que no muestra cambios notables en el tamaño y la forma de sus gotas, en su estado de agregación o en el arreglo espacial, a través de un tiempo de almacenamiento establecido (Aranberri, 2006).

Existen dos tipos posibles de emulsiones sencillas, dependiendo cuál fase esté dispersa en la otra; en una emulsión aceite-en-agua (O/W), el aceite es disperso en forma de gotas en la fase continua que es el agua y el fenómeno contrario ocurre en una emulsión agua-en-aceite (W/O) (McClements, 2005).

Los componentes de una emulsión se distribuyen de acuerdo a su polaridad y concentración en el sistema, constituyendo tres regiones principales: fase interna, fase continua y la interfase; en esta última se localizan las moléculas anfifílicas que actúan como agentes emulsificantes y/o estabilizantes (Dickinson y Stainby, 1982; McClements, 1999).

La formación de una emulsión sencilla puede realizarse en presencia de emulsificantes de bajo peso molecular y biopolímeros, tales como las proteínas lácteas (Lobato-Calleros *et al.*, 2002). La emulsión (O/W) es elaborada mediante homogenización de una fase oleosa y una fase acuosa en la presencia de uno o más emulsificantes. Durante la homogenización, los emulsificantes se adsorben en la superficie de la gotas recién formadas y reducen la tensión interfacial formando una capa protectora alrededor de las gotas, lo cual ayuda a protegerlas de la agregación mediante fuerzas repulsivas y/o estéricas (McClements, 2006; McClements, 2007). Los emulsificantes son aquellas sustancias que añadidas a los alimentos, hacen posible la formación y/o mantenimiento de una dispersión uniforme entre dos o más sustancias inmiscibles.

Las sustancias con capacidad emulsionante presentan una estructura donde se distingue una parte hidrófila (afín al agua) formada por grupos disociables o grupos hidroxilo y otra lipófila (afín a aceites y grasas) de cadena alquílica.

3.7.1 Mecanismos de desestabilización de las emulsiones

El proceso de ruptura de las emulsiones, separación de las dos fases, puede ocurrir mediante varios mecanismos.

Agregación y coalescencia; suelen ser fenómenos encadenados. La agregación procede normalmente a la coalescencia y consiste en la formación de aglomerados de las partículas de la fase dispersa. La coalescencia se da cuando los aglomerados formados en la agregación se unen dando lugar a partículas macroscópicas. Estos fenómenos en estado avanzado pueden dar lugar a la separación de las fases emulsionadas (Damodaran, 2005; Cubero *et al.*, 2002).

Cremado o sedimentación. Se trata de un proceso causado por la acción de la gravedad y produce un gradiente de concentración vertical de las gotas, sin variar la distribución del tamaño de las mismas. El cremado describe el movimiento de las gotas hacia la parte superior del sistema, esto es debido a que la densidad de la fase dispersa es menor que la de la fase continua. Mientras que en la sedimentación las gotas migran hacia la parte inferior.

Floculación. Consiste en la adhesión o agregación de las gotas dispersas sin fusionarse, debido a las colisiones provocadas por el movimiento Browniano, y no existe una variación en la distribución de tamaño de gotas. Este proceso es reversible y está controlado por un equilibrio global entre las fuerzas de atracción electrostáticas, de van der Waals, repulsivas, de tipo estérico y de hidratación.

Coalescencia. Involucra la colisión o fusión irreversible de las gotas dispersas para crear gotas más grandes con la eliminación de parte de la interfase líquido/líquido, conduce a una reducción del área interfacial, y por ende de la energía libre superficial del sistema. Este cambio irreversible requeriría un aporte extra de energía para restablecer la distribución de tamaño de partícula original.

Engrosamiento de gotas (Ostwaldripening). Se debe al crecimiento de las gotas más grandes a costa de las más pequeñas, hasta que estas últimas prácticamente desaparecen. Este proceso ocurre a una velocidad que es función de la solubilidad de la fase dispersa en la fase continua y se debe a que la presión interna de las gotas (presión de Laplace) es mayor en las gotas más pequeñas.

Inversión de fases. Es el proceso mediante el cual una emulsión de agua en aceite se convierte en una emulsión de aceite en agua, o viceversa.

En general, el complejo proceso de la inestabilidad de las emulsiones suele ocurrir mediante la combinación de los cuatro posibles procesos de inestabilidad, los cuales pueden suceder simultáneamente a diferentes velocidades.

La mayoría de las veces, dos de los procesos anteriormente citados se suelen acoplar; por ejemplo, las velocidades de flotación en las emulsiones diluidas son más rápidas en sistemas floculados que en los no floculados, debido al aumento del tamaño de partícula flotante en el primer caso (Aranberri, 2006).

Existe una amplia variedad de materiales que pueden ser usados como agentes emulsificantes y/o estabilizantes: carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas, carboximetilcelulosas); ésteres y éteres de celulosa (carboximetilcelulosa, metilcelulosa, etilcelulosa); gomas (goma Arábiga, mezquite, agar, acacia, alginato de sodio y proteínas (gelatina, de soya, de suero de leche, caseinatos, zeína) (Madene *et al.*, 2006; Moschakis *et al.*, 2010; Yáñez *et al.*, 2002).

3.8 Microencapsulación

La microencapsulación se define como una técnica por la cual gotas líquidas, partículas sólidas o gaseosas, son cubiertas con una película polimérica. Esta membrana, barrera o película está generalmente compuesta de componentes con cadenas para crear una red con propiedades hidrofóbicas y/o hidrofílicas conteniendo una sustancia activa (Fuchset *al.*, 2006). Mediante esta técnica se obtienen microcápsulas selladas que pueden liberar su contenido a velocidades controladas en condiciones específicas (Shahidi y Han, 1993). El tamaño de las microcápsulas puede estar en el intervalo de 0.2 a 5000 μm , teniendo una variedad de formas diferentes, dependiendo de los materiales y métodos usados para su preparación.

Existen diversos procesos que pueden ser utilizados para producir microcápsulas. La selección de la técnica de microencapsulación depende de las propiedades deseadas en el producto final: vida útil, propiedades de liberación, el formato de la microcápsula y su aplicación final. (Gharsallaoui *et al.*, 2007).

Los procesos de microencapsulación se pueden dividir en dos: químicos y mecánicos. Los procesos químicos comprenden las técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, gelificación por calor, incompatibilidad polimérica, atrapamiento por liposomas e inclusión molecular. Entre los procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Yáñez *et al.*, 2002).

3.8.1 Materiales usados para la formación de emulsiones y microcápsulas

En la formulación de sistemas dispersos; por ejemplo emulsiones, normalmente se distinguen dos tipos de ingredientes, los emulsificantes y los estabilizantes, los cuales promueven su formación y estabilización mediante su acción interfacial. Las proteínas participan como agentes emulsionantes, debido a que presentan carácter anfifílico y actividad superficial; mientras que los polisacáridos actúan como estabilizantes, debido a que modifican y controlan las propiedades de flujo de la fase dispersante o continua a través de efectos espesantes o gelificantes. Estos biopolímeros pueden ser de origen natural o sintético (Benichou, 2002).

Los estabilizantes son generalmente macromoléculas (polímeros), término que comprende a las proteínas y polisacáridos; ambas macromoléculas contribuyen a la estructura, la textura y la estabilidad de los sistemas alimenticios (Jafari, 2008).

Las proteínas son hidrocoloides ampliamente utilizados como microencapsulantes, por ejemplo: proteínas alimenticias como caseinato de

sodio, proteína de lactosuero, aislados de proteína de soya (Madene *et al.*, 2006), gluten, gernetina (Kwak, Ihm y Ahn, 2001; Yáñez *et al.*, 2002), caseína y proteínas de trigo (Sáenz *et al.*, 2009).

3.8.2 Uso de proteínas de lactosuero

Las proteínas del lactosuero son ampliamente utilizadas en la industria de alimentos en forma de concentrados o de aislado debido a sus propiedades funcionales y nutricionales. Entre las propiedades funcionales, la gelificación tiene gran importancia para la obtención de sistemas dispersos alimenticios (Girard *et al.*, 2002). El aislado de proteína de lactosuero (WPI) está constituido fundamentalmente por las proteínas solubles en el suero lácteo. Estas últimas representan alrededor del 20% del total de las proteínas de la leche y están compuestas principalmente por β -lactoglobulina, α -lactoalbúmina, albúmina sérica bovina, inmunoglobulinas y fragmentos de β -caseína (Girard *et al.*, 2002). Investigaciones recientes sobre formulaciones novedosas y tecnologías de microencapsulación aprovechan las proteínas del suero de la leche por sus propiedades como materiales de barrera y como sistemas de liberación entérica. Además de que se ha demostrado que las matrices constituidas por proteínas de lactosuero proporcionan protección efectiva contra la oxidación de los lípidos en condiciones de almacenamiento (Heidebach *et al.*, 2009).

3.8.3 Microencapsulación por gelación por calor

La gelificación de las proteínas es considerada como el resultado del desenrollamiento de las cadenas de proteína, seguido por una alteración en las interacciones proteína–proteína; cualquier acción que produzca cambios en la

conformación de la estructura nativa de la proteína tiene el potencial de inducir la gelificación (Foegeding *et al.*, 2002).

La funcionalidad de los geles es determinada por la distribución espacial de las partículas de proteína y por la contribución de los enlaces covalentes y no covalentes a la red (Yamul *et al.*, 2004).

La contribución relativa de estos dos tipos de enlaces, además de las propiedades intrínsecas de las proteínas (hidrofobicidad, interacciones electrostáticas, enlaces disulfuro, masa molecular, y composición de aminoácidos), dependen de las condiciones aplicadas durante la gelificación (concentración de proteínas, pH, temperatura, fuerza iónica, tipo de ion y presión hidrostática) (Yamul *et al.*, 2004).

La gelificación de las proteínas del lactosuero puede ser inducida por varias vías: por calor, por frío, fuerza iónica, por sal, por ácidos, y por enzimas. La gelificación producida por calor es la responsable de la estructura presente de muchos alimentos sometidos a procesos térmicos (Yamul *et al.*, 2004) y es muy utilizada como un método de microencapsulación. Según Lee *et al* (2000) mediante el método de gelación por calor se pueden generar barreras insolubles en agua que ofrecen mayor protección a agentes encapsulados. Además de que es un método sencillo que no representa elevados costos de producción.

3.9 Características texturales

Las características texturales de un material, son el grupo de propiedades físicas que surgen de la forma en la cual sus componentes estructurales están

arreglados en una macro y microestructura. Estas características están relacionadas con la deformación, la desintegración y el flujo del material bajo una fuerza y se miden objetivamente a través de funciones de masa, tiempo y distancia (Lobato-Calleros *et al.*, 2000).

Las características texturales de los alimentos se clasifican en tres categorías: atributos mecánicos, que indican el comportamiento mecánico del alimento ante la deformación y pueden a su vez dividirse en primarios (dureza, cohesividad, viscosidad, elasticidad y adhesividad) y secundarios (fracturabilidad, masticabilidad y gomosidad) (Halmos, 1997; Szczesniak, 1998); atributos geométricos que se relacionan con la forma o la orientación de las partículas del alimento (granulosidad, cristalinidad, porosidad y fibrosidad), y atributos de composición, que indican la presencia de algún componente del alimento (humedad, grasosidad, harinosidad, etc.) (Anzaldúa, 1994).

Las propiedades mecánicas se manifiestan a través de la respuesta del alimento; por ejemplo, el queso, al estrés provocado por una presión ejercida desde un texturómetro, lo cual simula la fuerza de masticación (Pinho *et al.*, 2004).

Este aparato permite establecer la fuerza necesaria para efectuar una prueba de compresión en dos ciclos en función del tiempo, lo cual se denomina Análisis de Perfil de Textura (TPA, por sus siglas en inglés) (Bourne 2002).

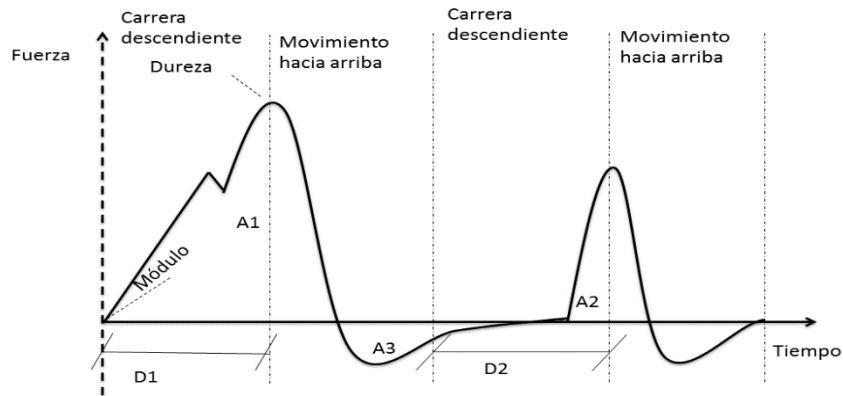


Figura 1. Curva fuerza- tiempo resultante del Análisis de Perfil de Textura (Bourne, 2002).

En la Figura 1 se observa una curva de fuerza en función del tiempo. A partir de esta curva se pueden calcular algunos parámetros y obtener otros derivados; como ejemplo: cohesividad = A_2/A_1 , elasticidad = D_2/D_1 , gomosidad = dureza $\times$ cohesividad y masticabilidad = gomosidad $\times$ elasticidad. Dicho de otra manera la Masticabilidad es igual a la Dureza por la Cohesividad por la Elasticidad y es una función de trabajo (Masticabilidad = $(f_2) (A_2 A_1^{-1})$ (Elasticidad) (Szczesniak *et al.*, 1998).

3.10 Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es un método científico usado para evocar, medir, analizar e interpretar como son percibidas las características de los alimentos por los sentidos de la vista, tacto, gusto, oído y olfato (Kappes *et al.*, 2006).

Es frecuentemente usada para medir y cuantificar la relación entre el perfil sensorial de un alimento y la aceptabilidad del consumidor (Xiong y Meullenet, 2004).

El análisis sensorial de los alimentos se lleva a cabo de acuerdo a diferentes pruebas, según sea la finalidad para la que se efectúe. Existen tres tipos

principales de pruebas: afectivas, discriminativas y descriptivas. Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, indicando si le gusta o le disgusta, si lo acepta o lo rechaza, o lo prefiere a otro (Anzaldúa-Morales, 2005).

La respuesta hedónica de los consumidores se obtiene por lo general aplicando técnicas cuantitativas, cuyo objetivo principal es evaluar la reacción afectiva de los consumidores hacia el alimento, solicitando que indiquen cuánto les gusta el producto en una escala hedónica de aceptabilidad (Popper *et al.*, 2004). Aunque los consumidores son capaces de definir claramente qué productos les gustan y cuáles no, puede ocurrir que la descripción sensorial realizada por ellos y el juicio hedónico sean independientes, y que aunque los consumidores sean capaces de detectar diferencias sensoriales entre las muestras, esas diferencias no afecten su aceptabilidad (Worch, 2012). Para evitar esta situación, Worch (2012) sugiere integrar en la evaluación una referencia. Una de las formas para llevar a cabo esto es mediante las escalas de adecuación o escalas JAR (Just-About-Right). En esta metodología, se solicita a los consumidores que describan la intensidad percibida de cada atributo como “muy intenso”, “poco intenso” o “lo justo” de acuerdo a la representación que cada uno posee del ideal (Li *et al.*, 2014).

La textura se puede decir que es un concepto puramente sensorial. Su percepción depende principalmente de la deformación del alimento al aplicarle una presión y/o de determinadas propiedades estructurales estimadas por el tacto o por la vista. La correlación de la percepción sensorial de textura con parámetros instrumentales es clave para entender cómo la formación específica

de la estructura puede influenciar la aceptabilidad del consumidor sobre un producto alimenticio. La relación entre la microestructura de geles alimenticios y su calidad sensorial es importante en la producción de alimentos y en la aceptación del consumidor final (Pereira *et al.*, 2006).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Materiales

Como material de pared de las microcápsulas se usó aislado de proteína de lactosuero (WPI, 93 % p/p de proteína en base seca; Hilmar™9400; Hilmar Ingredients, CA, EUA). Las fases oleosas de las emulsiones aceite-en-agua (O/W) estuvieron constituidas por: aceite de linaza (AL, extraído por prensado, sin adición de aditivos ni antioxidantes y conservado en congelación, 72 % p/p AGPI; Olimu, S.A., Cuernavaca, Mor., México); aceite de semilla de uva mexicano (ASU; Vid®, Extractos Naturales Vista al Mar, S.P.R.de R.L., Ensenada, B.C., México) y aceite de chía (ACH, Técnico Distribuidor INFAC., Distrito Federal., México). El agente emulsificante utilizado para formar las emulsiones W/O fue monoesterato de glicerilo (HLB = 3.8; Panodan® SDK DATEM, Danisco, S. A. de C. V., Distrito Federal, México).

Como medio de calentamiento para la gelación de la proteína de lactosuero de las emulsiones O/W se usó aceite de canola (AC; Maravilla, Aceites, Grasas y Derivados, S.A. de C.V. Distrito Federal, México). Otros reactivos usados para la preparación de las microcápsulas fueron éter de petróleo (J.T. Baker, Xalostoc, Estado de México, México) y detergente grado alimenticio (Tritón® X - 100, SIGMA ALDRICH, S. A. de C. V., Distrito Federal, México).

Para la elaboración de los tratamientos de queso tipo Panela se utilizó leche cruda (Unidad Tecnológica Lechera de la Universidad Autónoma Chapingo), agente coagulante (fuerza 1:10 000, Industrias Cuamex, S.A. de C.V., Ciudad de México), cloruro de calcio (J.T. Baker, Xalostoc, Estado de México, México) y sal de mesa (Morelos[®], Mercova, S.A. de C.V., Ecatepec, Edo. de México, México). Para el análisis de microestructura de las microcápsulas y quesos se utilizó tetraóxido de osmio (IGMA ALDRICH, S. A. de C. V., Distrito Federal, México) y glutaraldehído (SIGMA ALDRICH, S. A. de C. V., Distrito Federal, México).

4.2 Metodología

4.2.1 Formulación y preparación de las emulsiones aceite-en-agua (O/W)

Se realizaron pruebas preliminares para establecer las condiciones de elaboración que resultaran en emulsiones O/W estables por un periodo mínimo de 7 días bajo refrigeración (4 °C) y con tamaños de gota entre 0.1 y 3 µm. Para ello, se variaron: la fracción volumétrica de aceite (0.2, 0.3 y 0.4); la velocidad de homogenización (4000, 5200, 6400 y 7200 rpm) y el tiempo de homogenización (10 y 15 min).

La fase oleosa de las emulsiones estuvo constituida por aceite de canola y la fase acuosa por una dispersión de WPI (30 g 100 g⁻¹). El WPI se dispersó en agua destilada a temperatura ambiente (20 ± 2 °C), mediante la aplicación de agitación moderada (2250 rpm) durante 15 min, usando un equipo Caframo (modelo RZR1, Cole-Parmer, Vernon Hills, IL, EUA).

Las dispersiones de WPI se refrigeraron a 4 °C durante 24 h antes de su uso para la completa rehidratación de la proteína.

Para la preparación de las emulsiones O/W, el aceite de canola se incorporó gota a gota a la fase acuosa usando un homogeneizador (Ultra-Turrax® T50 basic, IKA-WERKE Works Inc., Wilmington, NC, EUA), manteniendo la temperatura de la mezcla (< 30 °C) con un baño de hielo.

A partir de las pruebas anteriores se seleccionaron las siguientes condiciones para preparar las emulsiones de los aceites de uva, chía y linaza: $\Phi = 0.35$, homogenización a 6400 rpm, durante 15 min. Tres emulsiones de aceites de linaza, chía y uva se elaboraron por triplicado, aplicando un diseño completamente al azar y siguiendo el procedimiento seleccionado. Las emulsiones se codificaron como E_L (aceite de linaza), E_{CH} (aceite de chía), y E_U (aceite de uva) y se almacenaron bajo refrigeración hasta su caracterización.

4.3 Caracterización de emulsiones

4.3.1 Distribución de tamaño y morfología de gota

El diámetro volumétrico-superficial medio ($D_{3,2}$) de las gotas de las emulsiones se determinó con un equipo analizador de tamaño y distribución de partícula (Malvern IM 026 serie 3000, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido) después de 1,3 y 7 días de almacenamiento (Lee y Rosenberg, 1999).

La morfología de las gotas de las emulsiones fue determinada por microscopía óptica de acuerdo al método propuesto por Tonon *et al.* (2011), usando un microscopio óptico Olympus BX41 (Olympus Corp., Tokio, Japón) y una cámara

digital Infinity 1 (Lumenera Corp., ON, Canadá). Muestras de cada emulsión diluida en agua destilada (1:10 v/v), se colocaron sobre un portaobjetos de vidrio con cubreobjetos y se observaron a una magnificación de 100x. Se analizaron 200 gotas de cada emulsión usando el software procesador de imagen Motic Images Plus 2.0 (Motic, Corp., Ltd, China).

4.4 Elaboración de microcápsulas

A partir de las emulsiones E_L , E_{CH} , y E_U se prepararon las microcápsulas correspondientes, codificadas como M_L , M_{CH} , y M_U , respectivamente. Para ello, 100 g de cada emulsión se re-emulsificó en una fase oleosa constituida por 518.75 g de aceite de canola y 6.25 g de monoesterato de glicerilo a una temperatura de $85 \pm 1^\circ\text{C}$. La emulsión se incorporó gota a gota a la fase oleosa mediante agitación constante con el equipo Caframo operado a 2250 rpm, manteniendo la temperatura a $85 \pm 1^\circ\text{C}$. A partir de la adición de la última gota de emulsión, las condiciones de calentamiento y agitación se mantuvieron por 15 min.

Las microcápsulas obtenidas se separaron por filtración usando una malla de tela; se lavaron con una solución del detergente Tritón grado alimenticio en agua destilada (0.1 % v/v) para eliminar la mayor cantidad de aceite superficial posible; se dejaron escurrir durante 4 h para eliminar el exceso de agua y se almacenaron a 4°C hasta su caracterización.

4.5 Caracterización de microcápsulas

4.5.1 Rendimiento

Se determinó el rendimiento de microcápsulas (R_M) considerando la cantidad de capsulas obtenidas respecto a la cantidad de emulsión sometida al proceso de gelación, usando la ecuación 1:

$$R_M(\%) = \frac{\text{g de microcápsulas resultantes}}{\text{g de emulsión aceite-en-agua}} * 100 \quad (1)$$

Se cuantificó el contenido de proteína presente en la dispersión de WPI y en las microcápsulas después de 1 día de elaboración por el método de microkjeldahl (AOAC, 1999), con el fin de determinar el rendimiento de proteína gelada (R_{PG}) que conformó las microcápsulas, utilizando la ecuación 2:

$$R_{PG}(\%) = \frac{\text{g de proteína en las microcápsulas resultantes}}{2.808 \text{ g de proteína gelificable en la dispersión de WPI}} * 100 \quad (2)$$

4.5.2 Tamaño

A 100 microcápsulas, después de 1 día de elaboradas, se les midió el tamaño, usando el equipo analizador de tamaño y distribución de partículas. El tamaño fue evaluado mediante el diámetro medio de distribución de volumen o diámetro de Brouchere ($D_{4,3}$; donde $D_{4,3} = \Sigma D^4 / \Sigma D^3$); el cual es el diámetro medio de una esfera con el mismo volumen de la microcápsula y es generalmente usado para caracterizar partículas (Tseng *et al.*, 2007).

4.5.3 Eficiencia de microencapsulación (EME)

Para determinar la eficiencia de microencapsulación de aceite (EME) se siguió el método propuesto por Polavarapu *et al.* (2011), con algunas modificaciones.

Para cuantificar el contenido de aceite superficial se colocaron 3 g de microcápsulas con 30 mL de éter de petróleo en un matraz erlenmeyer cubierto con papel aluminio y se aplicó agitación moderada durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, la solución orgánica se filtró mediante papel Whatman No. 4 y se evaporó el disolvente a temperatura ambiente. El contenido total de aceite de 3 g de microcápsulas fue determinado por el método Gerber (AOAC, 1999).

La EME fue calculada usando la ecuación 3:

$$EME = \frac{ATM - ASM}{ATM} * 100 \quad (3)$$

Dónde: ATM = aceite total en las microcápsulas (g); ASM = aceite superficial de las microcápsulas (g).

4.5.4 Análisis químico proximal

Después de 1 día de elaboradas, las microcápsulas fueron sometidas a análisis de contenidos de proteína (método Kjeldahl), grasa (método Gerber) y humedad (método de secado por estufa) (AOAC, 1999).

4.5.5 Microestructura

El estudio de la microestructura de las microcápsulas se realizó mediante la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido. Las microcápsulas fueron fijadas en una disolución de glutaraldehído al 2.5 % v/v en buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.2) durante 2 h agitando cada 15 min; transcurrido este tiempo se renovó el glutaraldehído y se dejaron las microcápsulas sumergidas en esta solución durante 24 h.

Las microcápsulas se lavaron con la solución de fosfatos cinco veces y se cubrieron con una solución de tetraóxido de osmio al 1% (p/v), permaneciendo en ella durante 2 h. Posteriormente, las microcápsulas se deshidrataron en disoluciones de etanol de concentraciones crecientes (30, 40, 50, 70, 80, 90 y 100 % v/v), permaneciendo 1 h en cada una.

Las microcápsulas fijadas se secaron a punto crítico en un CPA II Technics Critical Point Dryer (Tousimis, Rockville, MD, EUA), se montaron en soportes de aluminio y finalmente se cubrieron con una capa fina de oro en un Fine Coat Ion Sputter JFC 1100 (Jeol Ltd., Akishima, Japón).

Finalmente las microcápsulas se observaron en un microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (JEOL Scanning Electron Microscope JMS-035, Jeol Ltd., Akishima, Japón), operado a 20 kv a una magnificación de 1000 y 5000× (Lobato Calleros *et al.*, 2002).

4.5.6 Propiedades texturales

Las microcrocápsulas se sometieron a Análisis de Perfil de Textura Instrumental (Bourne, 2002) utilizando un Texturómetro Stable Micro Systems modelo TA-XT2i (Texture Technologies Corp., Gran Bretaña), equipado con una celda de carga de 2 kg. Para garantizar la reproducibilidad de la prueba, considerando la naturaleza particulada de las cápsulas, se utilizó una sonda cilíndrica de aluminio con área de contacto relativamente grande (35 mm de diámetro).

Cada medición se llevó a cabo a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) sobre 40 g de cada variación de cápsulas; estas últimas colocadas sobre una placa de vidrio debajo de la sonda.

La detección automática del contacto de la sonda con las cápsulas, se realizó con una fuerza de contacto de 0.981N (Artignan *et al.*, 1997).

En todos los casos, las muestras de las cápsulas se comprimieron 30 % utilizando dos ciclos de compresión a una velocidad del cabezal de 3 mm s⁻¹. Las propiedades texturales primarias de dureza, cohesividad, elasticidad y resiliencia (relación entre las áreas bajo la curva de compresión y descompresión) (Choonara *et al.*, 2008), fueron obtenidas utilizando el software del equipo Texture Expert para Windows versión 3.2.

La determinación de las propiedades texturales de cada variación de cápsulas se realizó por triplicado.

4.6 Quesos tipo Panela

4.6.1 Variaciones

Se elaboró un queso tipo Panela completo en grasa (Q_{100GL}) como control, a partir de leche cruda conteniendo 27 ± 0.1 g de grasa láctea L⁻¹. Adicionalmente se prepararon nueve quesos tipo Panela reducidos en grasa, mediante la sustitución del 50, 75 y 100 % de la grasa láctea por cantidades equivalentes de microcápsulas conteniendo los distintos aceites (Cuadro 2).

4.6.2 Método de preparación

Para la elaboración de las variaciones de queso se utilizaron lotes de 15 L de leche cruda (Unidad Tecnológica Lechera de la Universidad Autónoma Chapingo), a la cual se estandarizó su contenido de grasa de acuerdo a la variación de queso a preparar (Cuadro2).

Cuadro 2. Contenidos de grasa láctea de la leche y cantidades de microcápsulas utilizados para la elaboración de las variaciones de queso tipo Panela.

Código del queso	Grasa láctea (g L⁻¹)	Microcápsulas (g L⁻¹)
Q _{100GL}	27.00	0.00
Q _{50GL, 50Y}	13.50	13.50
Q _{25GL, 75Y}	6.75	20.25
Q _{0GL, 100Y}	0.00	27.00

GL: grasa láctea; Y: microcápsulas conteniendo aceites de semillas de linaza (L), de chía (CH) o de uva (U).

Para la elaboración de los quesos se siguió el procedimiento propuesto por Lobato-Calleros *et al.* (2008) con ligeras modificaciones (Fig. 2) e involucró las siguientes operaciones: pasteurización de la leche (63 ± 1 °C, 30 min); enfriamiento (37 ± 1 °C); adición de cloruro de calcio (0.15 g L⁻¹); adición de cuajo (0.15 mL L⁻¹); coagulación (30 min); corte de la cuajada (cubos de ~ 1 cm³) y agitación suave durante 5 min para promover el desuerado y favorecer la formación de granos de cuajada pequeños y uniformes en tamaño. El grano de la cuajada se dejó reposar durante 10 min más para favorecer la separación del suero; transcurrido este tiempo se eliminó cerca del 85 % del suero y se adicionó la sal (4 g de sal de mesa L⁻¹ de leche), agitando moderadamente y dejando reposar durante 10 min. En este momento se incorporaron las microcápsulas dispersándolas de manera uniforme en toda la cuajada de manera suave. Una vez incorporadas las microcápsulas, la cuajada se colocó

en moldes de plástico (de aproximadamente 1 kg de capacidad), permaneciendo a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) durante media hora.

Posteriormente, los quesos se voltearon y se volvieron a colocar en los moldes, dejándolos desuerar a temperatura ambiente durante 2 h más.

Los quesos se sacaron de los moldes y se mantuvieron a temperatura ambiente 2 h, antes de ser colocados en bolsas de polietileno, las cuales se sellaron térmicamente. Los quesos se mantuvieron bajo refrigeración (4 ± 0.5 °C) hasta su caracterización.

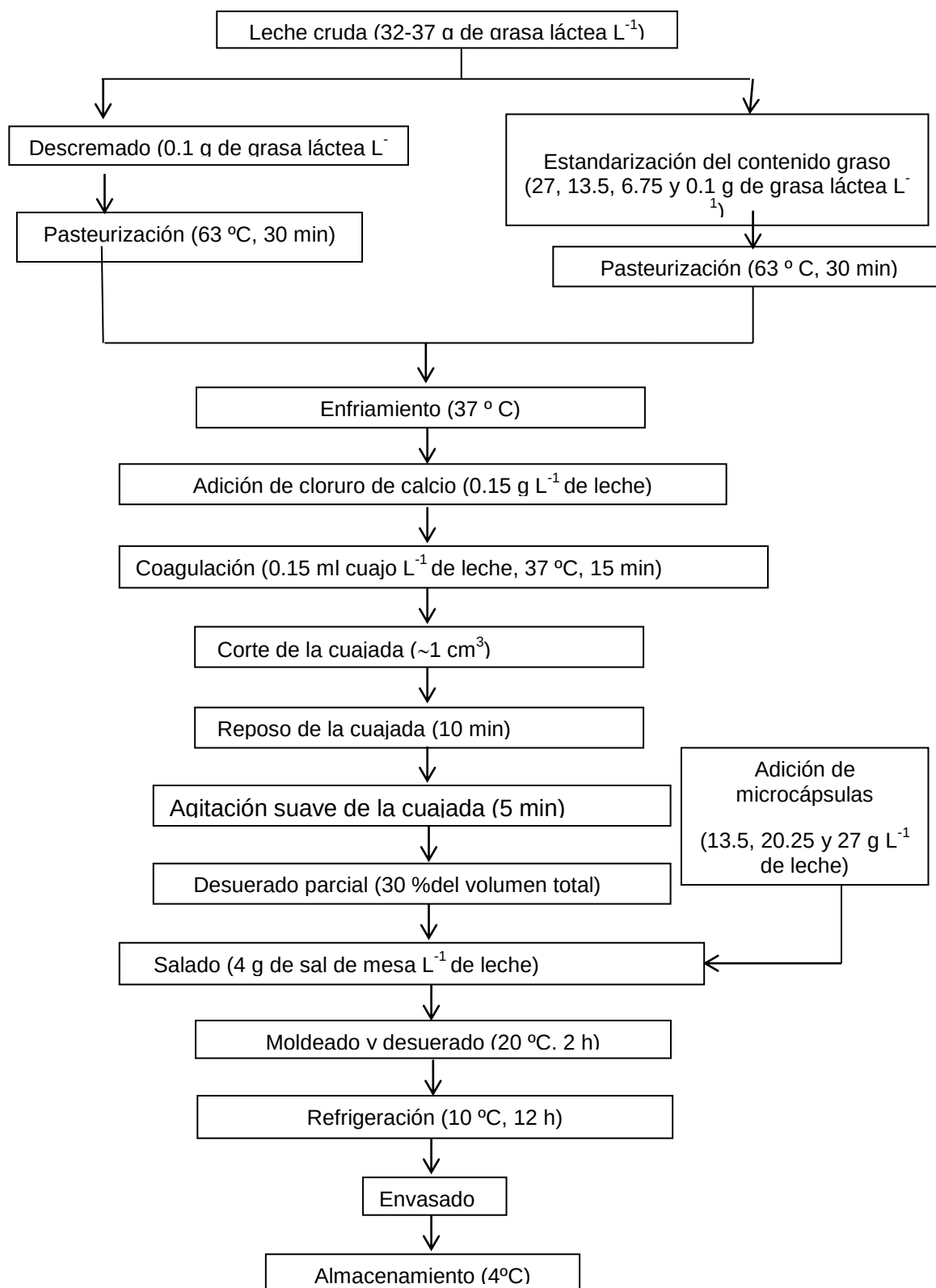


Figura 2. Diagrama de bloques del proceso de elaboración de los quesos tipo Panela.

4.6.3 Análisis químico proximal

A cada variación de queso, después de 48 h de elaborada y a los 15 días de almacenamiento, se le determinó por triplicado su contenido de proteína, grasa, humedad, cenizas y sólidos totales con un equipo para análisis de composición de alimentos (FoodScan™ FOSS Slangerupgade 69, DK-3400 Hilleroed, Dinamarca) (Fox y McSweeney, 2009).

4.6.4 Análisis Instrumental de textura

Los quesos después de 48 h y de 15 días de su elaboración, se sometieron a Análisis de Perfil de Textura (APT) (Bourne, 2002), empleando el texturómetro. Muestras cilíndricas fueron tomadas del centro de cada pieza de queso con un sacabocados de ½ pulgada de diámetro interno; posteriormente se ajustó su altura a 1.1 cm. Las muestras de queso se sometieron a compresión del 40 % de su altura, en dos ciclos, usando una sonda P50 y una velocidad de cabezal de 1 mm s⁻¹. Cada replica de queso se analizó por cuadruplicado. Las características texturales de dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad (Szczesniak, 1963) se calcularon a partir de las curvas fuerza-tiempo y fuerza-distancia, usando el software del equipo.

4.6.5 Análisis de Microestructura

Se usaron muestras cilíndricas tomadas del centro de cada pieza de queso después de 48 h de su elaboración con un sacabocados de ½ pulgada de diámetro interno, a las cuales se les ajustó su altura a 1 cm con una navaja. Los cilindros de queso se fijaron en una disolución de glutaraldehído al 2.5 % v/v en buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.2) durante 2 h agitando cada 15 min; después se

cambió la solución de glutaraldehído y se dejó la muestra sumergida en esta solución durante 24 h. Transcurrido este tiempo las muestras se lavaron cinco veces con solución de fosfatos al 0.1 M, se cubrieron con una solución de tetraóxido de osmio al 1% (p/v) y se mantuvieron en dicha solución durante 1 h. Posteriormente las muestras se deshidrataron en disoluciones de etanol de concentraciones crecientes (30, 40, 50, 70, 80, 90 y 100 % v/v), permaneciendo 1 h en cada una.

Las muestras se secaron a punto crítico en un CPA II Technics Critical Point Dryer (Tousimis, Rockville, MD, EUA). Cada muestra se fracturó con el objetivo de exponer su estructura interna; luego se montaron en soportes de aluminio y finalmente se cubrieron con una capa fina de oro en un Fine Coat Ion Sputter JFC 1100 (Jeol Ltd., Akishima, Japón).

Las muestras fracturadas se observaron en un microscopio Electrónico de Barrido (MEB) (JEOL Scanning Electron Microscope JMS-035, Jeol Ltd., Akishima, Japón), operado a 20 kv a una magnificación de 2500× (Lobato Calleros *et al.*, 2002).

4.6.6 Evaluación sensorial

Se evaluaron de forma simultánea la intensidad y la aceptabilidad de los siguientes atributos sensoriales de los quesos: aspecto general, color, aroma, sabor, textura, y aceptabilidad global, empleando la prueba JAR (Just-About-Right, justo como lo esperaba) *Li et al* (2014). Los quesos, después de 24 h de elaborados fueron evaluados sensorialmente por un panel de 100 consumidores

frecuentes, los cuales son estudiantes y maestros de la Universidad Autónoma Chapingo, con edades entre 19 y 60 años, (55 fueron mujeres y 45 hombres).

Se utilizó una escala hedónica de cinco puntos: (-2) mucho menos de lo que esperaba, (-1) menos de lo que esperaba, (0) justo como lo esperaba, (1) más de lo que esperaba y (2) mucho más de lo que esperaba. La aplicación de estas pruebas se realizó de acuerdo a lo señalado por *Li et al.* (2014). Las muestras se presentaron en forma monódica previamente codificadas con números aleatorios de tres dígitos y con el formato específico.

Posteriormente, empleando el software Statgraphics Plus (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EUA) los datos de la evaluación sensorial se sometieron a análisis de varianza, usando un diseño de bloques completos al azar utilizando la prueba no paramétrica de Friedman ($P \leq 0.05$) y posteriormente se elaboraron histogramas de frecuencias para cada atributo con la finalidad de conocer el nivel de agrado de éstos.

4.7 Análisis de datos

Los experimentos de esta investigación se realizaron por triplicado, usando un diseño experimental completamente al azar. Los datos correspondientes a las características de las microcápsulas se sometieron a Análisis de Varianza de Clasificación Simple y en los casos pertinentes a pruebas de comparación de medias de Tukey. La significancia se estableció en $p \leq 0.05$. Para el análisis de datos se usó el software Statgraphics Plus (Statistical Graphics Corp., Manugistics, Inc., Cambridge, MA, EUA).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Morfología y tamaño de gotas de las emulsiones

La dilución en agua y la observación microscópica de la emulsión aceite-en agua (O/W), confirmaron la formación de una emulsión simple O/W, formada por pequeñas gotas esféricas de aceite distribuidas individualmente en la fase acuosa continua (Figura 3). A partir de estas observaciones se puede inferir que el proceso de emulsificación fue adecuado y que las proteínas de lactosuero, así como el trabajo mecánico ejercido mediante el homogeneizado, intervinieron eficazmente en el desarrollo de la emulsión.

Todas las emulsiones se formaron usando la misma concentración de proteína de lactosuero como agente emulsificante/estabilizante y las mismas condiciones de proceso (velocidad, tiempo de homogenización, y temperatura), por lo que la formación de gotas de aceite de mayor tamaño en E_{CH} , en comparación con aquellas obtenidas en E_L y E_U , pudiera atribuirse a la composición química del aceite de chía, respecto a las composiciones químicas correspondientes a los aceites de linaza y uva. En el Cuadro 1, puede observarse que el aceite de chía contiene un porcentaje menor de ácidos grasos saturados + monoinsaturados (24.35), en relación con los encontrados en los aceites de linaza (26.19) y de uva (27.02); siendo estos dos últimos valores muy similares.

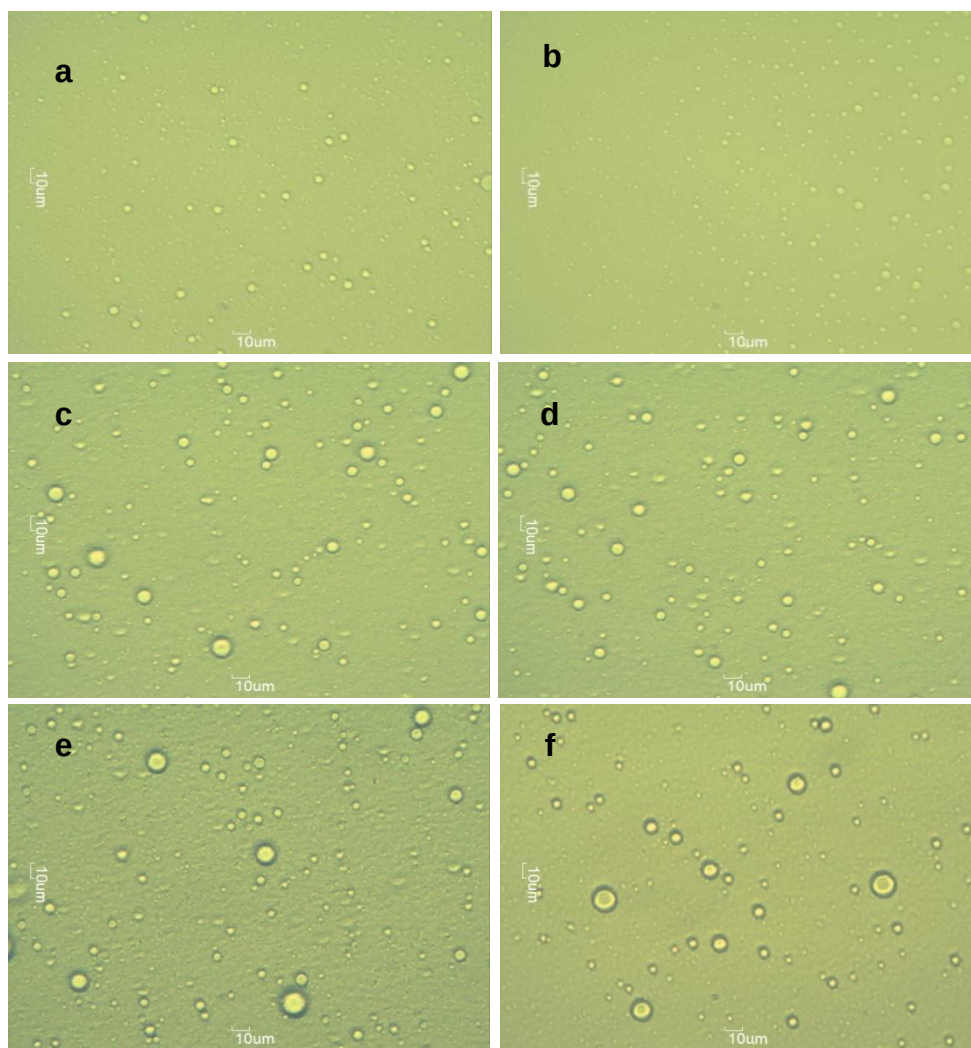


Figura 3. Micrografías ópticas de emulsiones aceite-en-agua después de 1 día de almacenamiento: (a, b) E_L ; (c, d) E_U y (e, f) E_{CH} .

E_L : emulsiones de aceite de linaza; E_U : emulsiones de aceite de uva; E_{CH} : emulsiones de aceite de chía.

Los resultados obtenidos revelan que la menor concentración de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en el aceite de chía, provocaron que la adsorción de la proteína de lactosuero y su consecuente habilidad para formar películas interfaciales alrededor de las gotas de aceite de chía, fuera menos eficiente que la ocurrida con las gotas de los aceites de linaza y de uva. Al parecer el carácter menos no polar del aceite de chía, en comparación con aquel de los aceites de

linaza y de uva, disminuyó la afinidad de las fracciones no polares de las cadenas de proteína de lactosuero por los triacilglicerol constituyendo el aceite de chía. Decker *et al.* (2009) encontraron que a mayor contenido de ácidos grasos saturados en la composición de un aceite emulsionado, sus tamaños de gota son menores; tal es el caso de emulsiones de aceite de coco (rico en ácidos caprico, laúrico, y mirístico)-en-agua, con tamaños de gota de 0.28µm.

A pesar de que hubo variaciones en el tamaño inicial de las gotas de aceite de las emulsiones; este parámetro tuvo un comportamiento similar durante el almacenamiento para todos los casos. Así, los valores $D_{3,2}$ de las tres emulsiones no variaron significativamente del primer al tercer día de almacenamiento, y sufrieron incrementos significativos del tercer al séptimo día de almacenamiento (Cuadro 3). Los porcentajes de incremento de los valores $D_{3,2}$ de las emulsiones después de 7 días de almacenamiento, fueron muy pequeños, variando de 5.26 (E_L) a 5.49 (E_{CH}).

Cuadro 3. Diámetro volumétrico-superficial medio ($D_{3,2}$) ($\pm$ DE) de las gotas de las emulsiones aceite-en-agua.

DA*	$D_{3,2}$ (µm)					
	E_L	% de variación	E_U	% de variación	E_{CH}	% de variación
1	0.37 ± 0.0^{aA}	0.00	0.36 ± 0.0^{aA}	0.00	0.90 ± 0.0^{aB}	0.00
3	0.38 ± 0.0^{aA}	2.70	0.37 ± 0.0^{aA}	2.78	0.91 ± 0.0^{aB}	1.11
7	0.40 ± 0.0^{bA}	5.26	0.39 ± 0.0^{bA}	5.41	0.96 ± 0.0^{bB}	5.49

E_L : emulsiones de aceite de linaza; E_U : emulsiones de aceite de uva; E_{CH} : emulsiones de aceite de chía. DA*: días de almacenamiento

^{a,b}: superíndices con letras minúsculas diferentes en la misma columna, indican que el efecto de tratamientos difiere significativamente ($p \leq 0.05$) entre los días de almacenamiento; ^{A,B}: superíndices con letras mayúsculas diferentes en la misma fila, indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

En adición no se observó separación de fases en las emulsiones al final del tiempo de almacenamiento. Con base en lo anterior, puede considerarse que las emulsiones fueron estables.

5.2 Rendimiento y composición química de las microcápsulas

Los rendimientos (R_M) obtenidos para las diferentes microcápsulas (g cápsulas por 100 g^{-1} de emulsión O/W) (Cuadro 4), fueron: 90.52 % (M_{CH}), 92.3 % (M_U) y 93.2 % (M_L), y no variaron significativamente entre sí. Estos valores indican que más del 90 % de los componentes mayoritarios de la emulsión O/W, principalmente los referentes a proteína de lactosuero, aceite y agua, fueron retenidos en las microcápsulas. Sin embargo, los componentes de las emulsiones no fueron uniformemente retenidos en las microcápsulas en las mismas concentraciones, como lo revelan los datos de su composición química (Cuadro 5).

Cuadro 4. Valores medios de rendimiento ($\pm$ DE) de las microcápsulas

Código de microcápsula	R_M (%)	R_{PG} (%)
M_{CH}	90.5 ± 3.8^a	52.9 ± 0.4^a
M_U	92.3 ± 3.3^a	64.9 ± 0.6^b
M_L	93.2 ± 5.2^a	69.9 ± 2.2^c

CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza; RM: rendimiento de microcápsulas; RPG: rendimiento de proteína gelada.

^{a,b,c}Superíndices distintos en la misma columna, indican diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Variaciones en el tipo de aceite de las emulsiones O/W, causaron diferencias en la composición química de las microcápsulas resultantes (Cuadro 5). M_U y M_L , preparadas a partir de emulsiones de aceites de uva y de linaza, respectivamente, mostraron porcentajes de proteína y de aceite encapsulado comparables entre sí ($p > 0.05$), y mayores ($p \leq 0.05$) que aquellos presentados por M_{CH} elaborada a partir de emulsiones de aceite de chía (Cuadro 5). Estos resultados confirman la idea de que hubo una menor afinidad proteína de lactosuero-aceite de chía, respecto a aquellas ocurridas entre la proteína de lactosuero y los aceites de linaza y de uva. Una menor cantidad de proteína de lactosuero adsorbida en la interfase de la E_{CH} , consecuentemente rindió menor cantidad de interacciones proteína-proteína en su superficie durante el calentamiento, lo que repercutió en menor cantidad de proteína gelificada retenida en M_{CH} . De esta manera el rendimiento de proteína gelada (R_{PG}) en las M_{CH} (52.9 %) fue menor significativamente a los presentados por M_U (64.9 %) y M_L (69.9 %) (Cuadro 4).

La menor cantidad de proteína de lactosuero adsorbida sobre la superficie de las gotas de aceite de chía, provocó menor retención de este aceite en M_{CH} , en comparación con las retenciones de aceites de uva y de linaza observadas en M_U y M_L , respectivamente (Cuadro 5). La formación de una estructura de gel de proteína de lactosuero menos densa y más porosa en la superficie de las gotas de aceite de la E_{CH} , permitió la salida de aceite de chía del interior de la emulsión hacia la fase continua, durante la gelificación de dicha proteína. La expulsión de aceite de las E_{CH} se evidencia al observar que las M_{CH} exhibieron

una relación proteína/aceite mayor significativamente que aquellas mostradas por M_U y M_L (Cuadro 5). Esto es, se requirieron 0.51 g de proteína de lactosuero para retener 1 g de aceite de chía en las M_{CH}; mientras que fueron necesarios 0.47 g de proteína de lactosuero para retener 1 g de aceites de linaza y de uva en M_U y M_L. Carneiro *et al.*, 2012 reportaron que la densidad aparente de la película interfacial formada varía de acuerdo al material utilizado. Los valores de densidad aparente oscilaron entre 0.28 (Maltodextrina-Concentrado de proteína de lactosuero) a 0.40g/cm³ (Maltodextrina-Goma Arábica), confirmando mayor densidad a las microcápsulas incrementando la retención en el núcleo, es decir, a mayor densidad en la película interfacial, mayor EME.

Cuadro 5. Composición química en base húmeda (valores medios $\pm$ DE) de las microcápsulas.

Código de microcápsula	Aceite encapsulado (%)	Humedad (%)	Proteína (%)	Relación proteína/aceite
M _{CH}	20.5 $\pm$ 1.5 ^a	69.2 $\pm$ 0.2 ^c	10.4 $\pm$ 0.5 ^a	0.51 ^b
M _U	27.7 $\pm$ 1.3 ^b	59.4 $\pm$ 0.1 ^b	12.9 $\pm$ 1.0 ^b	0.47 ^a
M _L	29.3 $\pm$ 0.4 ^b	57.1 $\pm$ 0.2 ^a	13.6 $\pm$ 0.3 ^b	0.47 ^a

CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza; RM: rendimiento de microcápsulas; RPG: rendimiento de proteína gelada.

^{a,b,c}Superíndices distintos en la misma columna, indican que los tratamientos difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

El contenido de humedad de las microcápsulas difirió estadísticamente; presentando M_{CH} un mayor contenido de humedad ($p \leq 0.05$) que M_U y M_L, resultado que se asocia con la disminución porcentual de los contenidos de aceite y de proteína de M_{CH}.

5.3 Tamaño y eficiencia de entrapamiento de aceite de las microcápsulas

La variación de los valores del diámetro medio de distribución de volumen ($D_{4,3}$) de las microcápsulas, siguieron una tendencia similar a la presentada por los valores de $D_{3,2}$ de las emulsiones a partir de las que se prepararon, y variaron como sigue: $485.7 \pm 21.1 \mu\text{m}$ (M_U) = $493.0 \pm 45.7 \mu\text{m}$ (M_L) < $627.1 \pm 31.2 \mu\text{m}$ (M_{CH}). Como se esperaba el tamaño de las M_{CH} fue mayor ($p \leq 0.05$) que aquellos de las M_U y M_L , puesto que estas dos últimas se elaboraron a partir de emulsiones con menor tamaño que la utilizada para preparar las microcápsulas M_{CH} . Tonon *et al.* (2012) informaron la existencia de una relación directa entre el tamaño de microcápsulas que contienen aceite de linaza y el tamaño de gota de la emulsión, indicaron que a mayor estabilidad de las emulsiones, obtuvieron menor tamaño de gota y menor diámetro en las microcápsulas resultantes.

Los valores ($D_{4,3}$) de las microcápsulas obtenidas fueron mayores que aquellos informados por Rodea-González *et al.* (2012) para microcápsulas conteniendo aceite de chía, formadas a partir de emulsiones estabilizadas con películas interfaciales constituidas por concentrado de proteína de lactosuero - goma arábiga (24.28 ± 1.09 a $28.20 \pm 1.27 \mu\text{m}$) utilizando secado por aspersión. Lo anterior, debido a que el uso combinado de proteínas con carbohidratos favorece la estabilidad de las gotas de aceite recién formadas en emulsiones O/W, al ser envueltas por una película conformada por proteína polisacárido, la cual forma capas poliméricas relativamente gruesas, que les proporcionan una estabilización incrementada a través de efectos estéricos (Adjonu *et al.*, 2014).

Los valores de eficiencia de atrapamiento de aceite de las microcápsulas (EME) variaron significativamente, dependiendo del aceite contenido en las emulsiones usadas para su preparación. En orden creciente los valores de EME de las microcápsulas variaron de la siguiente manera: $54.2 \pm 2.8 \%$ (M_{CH}) < 77.5 ± 0.6 (M_U) < 82.1 ± 0.3 (M_L). Las diferencias en la EME entre las microcápsulas, parece estar asociada en cierto grado al tamaño de las gotas de aceite de las emulsiones a partir de las que se prepararon. Así, M_U y M_L , preparadas a partir de las emulsiones E_U y E_L , con valores $D_{3,2}$ de gota relativamente bajos, presentaron valores de EME mayores a aquellos exhibidos por las M_{CH} preparadas a partir de las emulsiones E_{CH} con tamaño de gota relativamente mayor.

De acuerdo con Lee *et al.* (2000), una buena EME indica una buena estabilidad de la emulsión, consistente en la adsorción de las proteínas de lactosuero en la interface de la emulsión, proporcionando una protección efectiva contra la migración de las gotas de aceite del interior de la emulsión a la fase continua externa. Un tamaño pequeño de gota de aceite, influye también en la presencia de un mayor número de gotas de aceite distribuidas en una unidad de masa interna de la matriz o pared de la microcápsula.

La mayor EME de M_U , en comparación con aquella de M_L , parece indicar una mayor afinidad de la proteína de lactosuero por el aceite de linaza, quizás debido a que su porcentaje en ácidos grasos saturados es de 16.76 %, mientras que el de aceite de uva es de 15 % (Cuadro 1).

Valores similares de EME de aceite de chía (77.6-85.3 %) fueron obtenidos por Rodea-González *et al.* (2012), al utilizar matrices constituidas por concentrado de proteína de lactosuero – goma Arábica. Young *et al.* (1993) establecieron la obtención de una mayor EME cuando se usan combinaciones de aislado de proteína de lactosuero (WPI) con otros polímeros como maltodextrina, goma de mesquite y goma arábica, que cuando se usa proteína de lactosuero como único material formador de pared. A pesar de que en este estudio no se usaron combinaciones de proteína – polisacáridos, las EME de los aceites de linaza y de uva fueron satisfactorias, no así la obtenida para el aceite de chía. Sería interesante explorar para investigaciones posteriores el uso de combinaciones proteína – polisacárido para el encapsulamiento de este aceite.

5.4 Microestructura de las microcápsulas

En la figura 2, se presentan micrografías de las distintas microcápsulas, obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido. Todas las microcápsulas estuvieron conformadas por una matriz gelada de proteína de lactosuero, envolviendo las gotas de los distintos aceites; sin embargo, las microcápsulas presentaron distintas características morfológicas, dependiendo del tipo de aceite encapsulado. Así, las M_{CH} (Figuras 4a y 4b) tendieron a formar estructuras amorfas elongadas, relativamente abiertas, porosas, con abolladuras, las cuales además presentaron una superficie de apariencia rugosa, en la que puede apreciarse la formación de fisuras, abolladuras y agregados amorfos de gel de proteína de lactosuero. Las características estructurales de las M_{CH} se han relacionado con la agregación no uniforme de

cadenas de proteína, y no con la formación de estructuras a partir de películas proteínicas ubicadas en la superficie de gotas de aceite. Lo anterior, sugiere que la matriz de M_{CH} es relativamente frágil y permeable a gases, reduciendo por lo tanto su capacidad de retención y protección de compuestos bioactivos (Lee *et al.*, 2000).

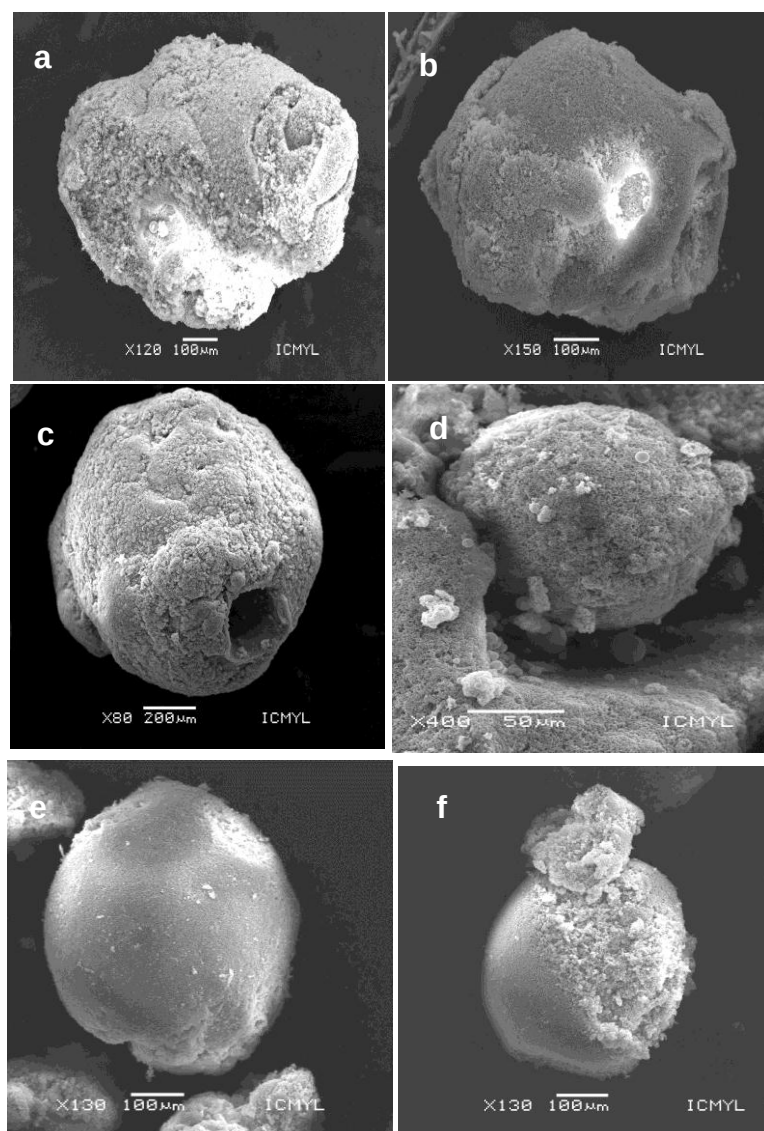


Figura 4. Micrografías MEB de las microcápsulas: (a y b) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (c y d) M_U conteniendo aceite de uva y (e y f) M_L conteniendo aceite de linaza.

Las M_U (Figuras. 4c y 4d) por su parte, mostraron estructuras que tendieron a la esfericidad, así como una topografía menos rugosa y menos porosa que aquella observada en M_{CH} (Figuras. 4a y 4b), con el depósito de pequeños agregados de geles de proteína de lactosuero. Finalmente, las M_L (Figuras. 4e y 4f) presentaron formas casi esféricas, con una superficie lisa y libre de abolladuras.

Diferencias en las características estructurales de las microcápsulas estuvieron relacionadas con los distintos valores obtenidos de su EME. Así, las microcápsulas que presentaron más irregularidades en su microestructura y exhibieron una superficie exterior más rugosa, porosa y con fisuras (M_{CH}), fueron las que presentaron menores valores de EME, por constituir barreras menos efectivas contra la migración del aceite hacia el exterior. En contraste, las microcápsulas de estructura más regular, tendiendo a la esfericidad y con superficies lisas y homogéneas (M_L) mostraron los mayores valores de EME. Por su parte, las microcápsulas que presentaron características estructurales intermedias a aquellas de M_{CH} y M_L ; esto es las M_U , exhibieron valores de EME también intermedios a los obtenidos en M_{CH} y M_L .

Las características estructurales de la superficie de las microcápsulas pueden observarse con mayor claridad en la Figura 5, confirmando diferencias en el grado de compactación de la matriz proteínica de las microcápsulas, dependiendo del tipo de aceite encapsulado. La superficie de las M_{CH} (Figuras. 5a, 5b y 5c) estuvo formada por agregados de proteínas de lactosuero relativamente abiertos y relajados; en contraste, las superficies de M_U (Figuras. 5d, 5e y 5f) y M_L (Figuras. 5g, 5h y 5i), exhibieron la formación de matrices

proteínicas con cierta similitud, más compactas y con menor grado de porosidad que la correspondiente a M_{CH} .

En la superficie de M_U (Fig. 5d) puede apreciarse la presencia de una gota de aceite atrapada en la matriz proteínica.

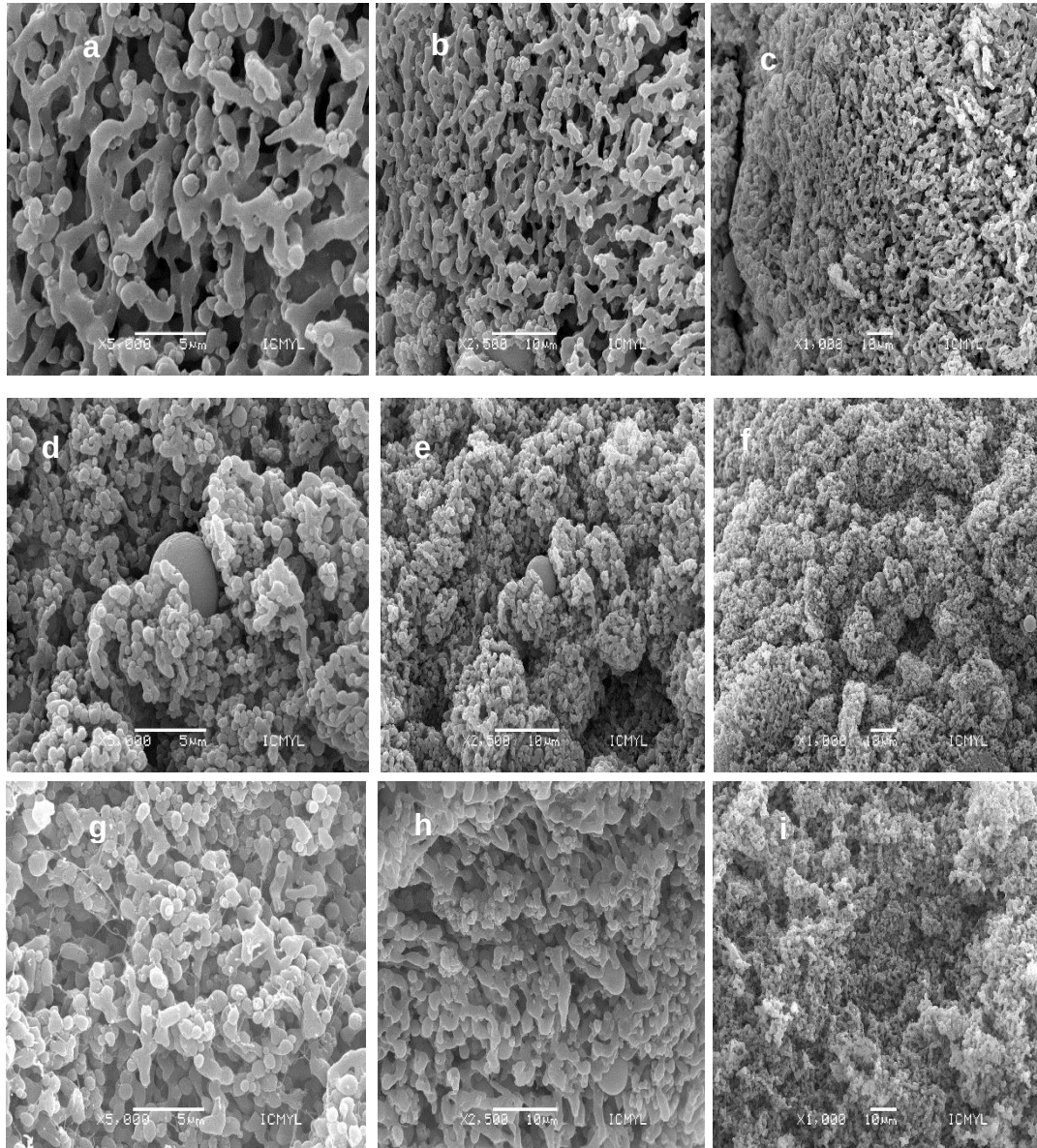


Figura 5. Micrografías MEB de la superficie de las microcápsulas: (a, b, c) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (d, e, f) M_U conteniendo aceite de uva y (g, h, i) M_L conteniendo aceite de linaza. Magnificación 5000x, 2500 × y 1000x.

La estructura interna de las microcápsulas puede observarse en la Figura 6, pudiendo apreciar que en su interior se encontró la presencia de varias gotas de aceite, las cuales fueron de mayor tamaño en M_{CH} (Figuras. 6a y 6b), que aquellas encontrados en el interior de M_U (Figuras. 6c y 6d) y M_L (Figuras. 6e y 6f).

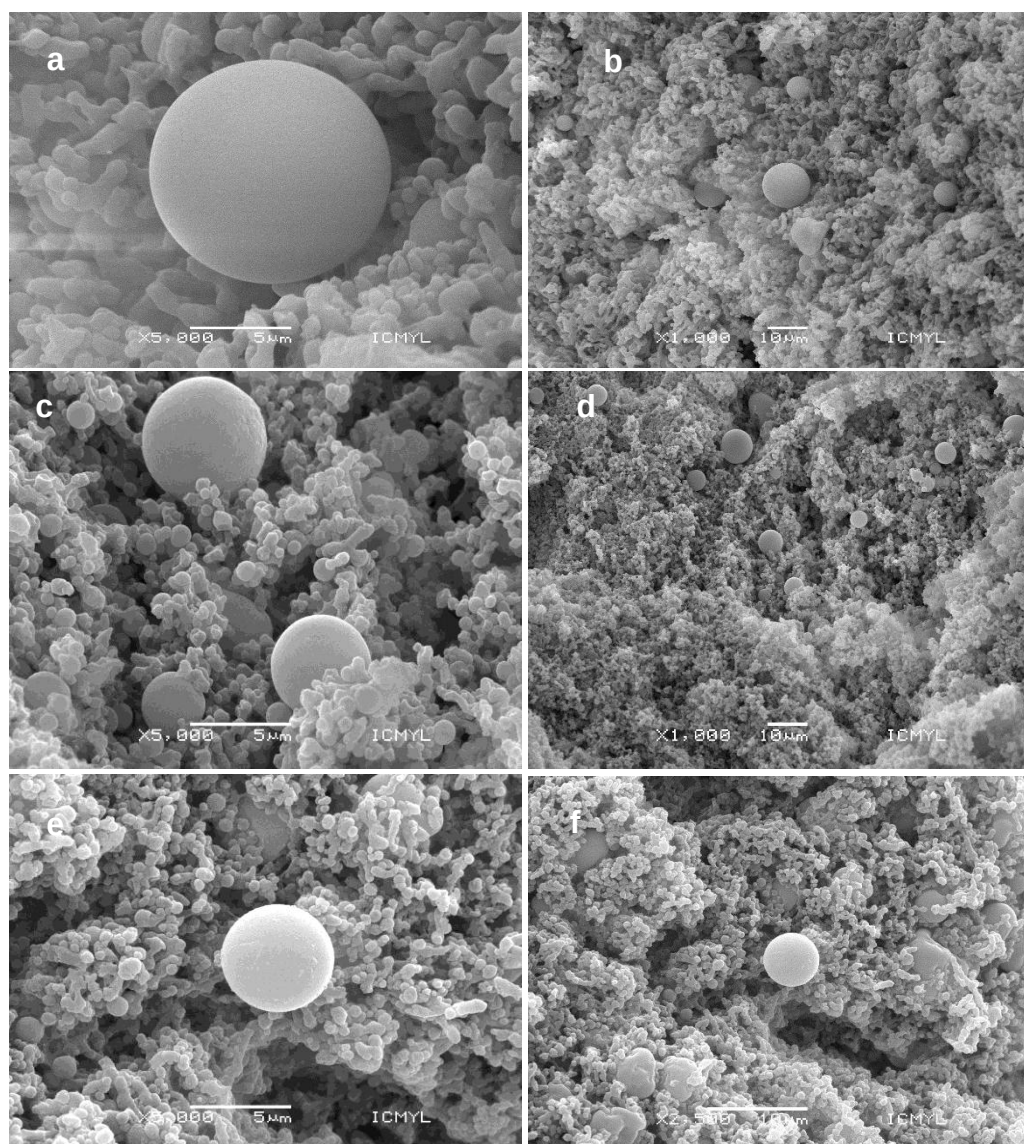


Figura 6. Micrografías MEB de la estructura interna de las microcápsulas: (a y b) M_{CH} conteniendo aceite de chía; (c y d) M_U conteniendo aceite de uva y (e y f) M_L conteniendo aceite de linaza.

5.5 Propiedades texturales de las microcápsulas

Las propiedades texturales de dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad de las microcápsulas difirieron significativamente, dependiendo del tipo de aceite contenido en las mismas (Cuadro 6).

Cuadro 6. Valores medios ($\pm$ DE) de las propiedades texturales de las microcápsulas.

Tratamiento	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)
M _U	7.3 $\pm$ 0.2 ^a	0.70 $\pm$ 0.06 ^a	0.60 $\pm$ 0.44 ^b	2.8 $\pm$ 1.9 ^b
M _L	7.0 $\pm$ 0.5 ^a	0.64 $\pm$ 0.05 ^a	0.69 $\pm$ 0.25 ^b	3.0 $\pm$ 0.8 ^{ab}
M _{CH}	7.7 $\pm$ 0.6 ^b	0.78 $\pm$ 0.06 ^b	0.25 $\pm$ 0.07 ^a	1.42 $\pm$ 0.6 ^a

CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza; RM: rendimiento de microcápsulas.

^{a,b} Superíndices distintos en la misma columna, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Los valores de dureza y de cohesividad de las microcápsulas presentaron una tendencia similar variando en orden creciente de la siguiente manera: M_L (7.0 N) = M_U (7.3 N) < M_{CH} (7.7 N) y M_L (0.64) = M_U (0.70) < M_{CH} (0.78), respectivamente. Los valores de dureza y cohesividad mayores de las M_{CH}, en comparación con aquellos presentados por las M_U y M_L, pueden ser explicados con base en su relación proteína/aceite (0.51 equivalente a 20.5 % de aceite encapsulado) mayor respecto al valor encontrado para las M_U y M_L (0.47, equivalente a 27.7 y 29.3 % de aceite encapsulado, respectivamente) (Cuadro 5). Conforme el contenido graso de matrices de proteínas lácteas es menor, más zonas de proteína no interrumpida componen su estructura. En consecuencia, un alto grado de entrecruzamiento entre moléculas de proteína

ocurre, resultando en redes exhibiendo alta resistencia a la deformación (Bryant *et al.*, 1995).

En contraste, la elasticidad de las M_{CH} fue significativamente menor que las exhibidas M_U y M_L (Cuadro 6). La variación en la elasticidad de las microcápsulas puede ser explicada con base en diferencias en el grado de adsorción de la proteína sobre la superficie de las gotas de aceite, dependiendo del grado de saturación de estos últimos. Los altos contenidos de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en los aceites de linaza y de uva (Cuadro 1), promovió la adsorción de los grupos lipofílicos de la proteína sobre la superficie de gotas adyacentes de aceite, lo cual en turno, produjo la formación de una estructura reticulada que confirió elasticidad a las microcápsulas M_U y M_L (Lobato-Calleros *et al.*, 1997).

Puesto que la masticabilidad es el producto dureza $\times$ cohesividad $\times$ elasticidad (Bourne, 2002), una baja elasticidad de las M_{CH} resultó también en valores de masticabilidad más bajos que los mostrados por M_U y M_L .

5.6 Composición química de los quesos

Las variaciones de queso tipo Panela difirieron ($p \leq 0.05$) en sus contenidos de grasa, humedad y proteína, dependiendo del grado de sustitución de la grasa láctea por microcápsulas conteniendo aceites esenciales, así como del tipo de aceite encapsulado (Cuadro 7). En general, al sustituir mayores cantidades de grasa láctea por microcápsulas, los quesos tipo Panela obtenidos, presentaron aumentos en sus contenidos de proteína y disminución en aquellos de grasa (Cuadro 7). El queso control Q_{100GL} completo en grasa láctea mostró un

contenido graso significativamente más elevado que el resto de los quesos, puesto que la leche usada en su preparación contuvo 27 ± 0.1 g de grasa L^{-1} , en comparación con 13.5, 6.75 y 0.0 g de grasa L^{-1} contenidos en los lotes de leche utilizados para la elaboración de los quesos reducidos en grasa. Asimismo, Q_{100GL} mostró menor contenido de proteína ($p \leq 0.05$) que los quesos reducidos en grasa, como resultado de la remoción de grasa láctea y su sustitución por microcápsulas constituidas por proteína de lactosuero.

Los contenidos de humedad de los distintos quesos tipo Panela permanecieron prácticamente constantes ($p \leq 0.05$), independientemente del tipo de aceite contenido en las microcápsulas incorporadas a los quesos, con excepción del $Q_{0GL,100CH}$, que mostró mayor contenido de humedad ($p \leq 0.05$) que Q_{100GL} y que el resto de los quesos reducidos en grasa. Lo anterior, como consecuencia de la disminución porcentual del contenido graso del $Q_{0GL,100CH}$. Resultados similares fueron reportados para queso tipo Panela (Lobato- Calleros *et al.*, 2009) y para queso tipo Manchego (Lobato-Calleros *et al.*, 2001) reducidos en grasa.

Los contenidos de cenizas de las distintas variaciones de quesos no fueron afectados ($p \leq 0.05$) por la sustitución de la grasa láctea por microcápsulas, puesto que la remoción de grasa láctea de la leche y la incorporación de microcápsulas, no modificó el contenido de sales minerales en la leche y en consecuencia en el queso.

Cuadro 7. Composición química (Valores medios $\pm$ DE) de las variaciones de queso tipo Panela, después de un día de almacenamiento.

Código del queso	Proteína (%)	Grasa (%)	Humedad (%)	Cenizas
Q _{100GL}	13.7 $\pm$ 0.6 ^a	13.4 $\pm$ 0.4 ^d	67.7 $\pm$ 0.6 ^a	1.4 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{50GL,50CH}	16.6 $\pm$ 0.4 ^b	9.6 $\pm$ 0.20 ^c	68.9 $\pm$ 0.3 ^a	1.5 $\pm$ 0.2 ^a
Q _{25GL,75CH}	17.5 $\pm$ 0.2 ^b	7.5 $\pm$ 0.17 ^b	68.4 $\pm$ 1.7 ^a	1.3 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{0GL,100CH}	20.1 $\pm$ 1.3 ^c	5.1 $\pm$ 0.4 ^a	72.4 $\pm$ 0.2 ^b	1.5 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{100GL}	13.7 $\pm$ 0.5 ^a	13.4 $\pm$ 0.3 ^c	67.6 $\pm$ 0.5 ^a	1.3 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{50GL,50U}	13.7 $\pm$ 0.5 ^a	8.3 $\pm$ 0.4 ^b	73.3 $\pm$ 0.5 ^a	1.2 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{25GL,75U}	13.7 $\pm$ 0.5 ^a	7.5 $\pm$ 0.4 ^b	73.3 $\pm$ 0.5 ^a	1.2 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{0GL,100U}	18.0 $\pm$ 1.3 ^b	6.8 $\pm$ 0.0 ^a	70.3 $\pm$ 1.2 ^a	1.4 $\pm$ 0.2 ^a
Q _{100GL}	13.7 $\pm$ 0.5 ^a	13.4 $\pm$ 3 ^c	67.6 $\pm$ 0.5 ^a	1.3 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{50GL,50L}	18.6 $\pm$ 1.2 ^b	11.0 $\pm$ 0.5 ^b	66.5 $\pm$ 1.8 ^a	1.4 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{25GL,75L}	22.3 $\pm$ 1.1 ^c	7.5 $\pm$ 1.7 ^a	67.6 $\pm$ 1.5 ^a	1.3 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{0GL,100L}	23.5 $\pm$ 0.9 ^c	6.7 $\pm$ 1.3 ^a	66.8 $\pm$ 2.5 ^a	1.3 $\pm$ 0.0 ^a

Q_{x,y}: código del queso, donde “x” es el porcentaje de grasa láctea en la leche usada para su elaboración, respecto a 27 g de grasa láctea L⁻¹ contenidos en la leche usada para la elaboración del queso completo en grasa control (Q_{100GL}) y “y” es el porcentaje de grasa láctea que fue sustituido por microcápsulas. GL: grasa láctea; CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza. ^{a,b,c}: superíndices distintos en la misma columna de un bloque de datos, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Después de 15 días de almacenamiento, se observaron algunos cambios en la composición química de los quesos, tanto en Q_{100GL}, como en aquellos reducidos en grasa (Cuadro 8), los cuales se debieron principalmente a reducciones en sus contenidos de humedad.

Cuadro 8. Composición química (Valores medios $\pm$ DE) de las variaciones de queso tipo Panela, después de quince días de almacenamiento.

Código del Queso	Proteína (%)	Grasa (%)	Humedad (%)	Cenizas
Q _{100GL}	15.6 $\pm$ 0.4 ^a	15.0 $\pm$ 0.3 ^c	64.9 $\pm$ 0.6 ^{ab}	1.4 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{50GL,50CH}	20.3 $\pm$ 2.0 ^b	11.9 $\pm$ 1.8 ^b	64.0 $\pm$ 2.5 ^a	1.3 $\pm$ 0.2 ^a
Q _{25GL,75CH}	19.9 $\pm$ 0.2 ^b	7.5 $\pm$ 0.3 ^a	68.5 $\pm$ 1.4 ^{bc}	1.1 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{0GL,100CH}	21.0 $\pm$ 1.5 ^b	4.8 $\pm$ 0.6 ^a	70.5 $\pm$ 1.4 ^c	1.3 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{100GL}	15.6 $\pm$ 0.4 ^a	15.0 $\pm$ 0.3 ^c	64.9 $\pm$ 0.6 ^a	1.4 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{50GL,50U}	17.0 $\pm$ 2.0 ^{ab}	10.5 $\pm$ 1.16 ^b	67.2 $\pm$ 5.1 ^a	1.5 $\pm$ 0.3 ^a
Q _{25GL,75U}	18.0 $\pm$ 0.2 ^{ab}	7.8 $\pm$ 0.5 ^a	70.5 $\pm$ 0.7 ^a	1.1 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{0GL,100U}	19.2 $\pm$ 0.7 ^b	7.1 $\pm$ 0.7 ^a	68.3 $\pm$ 1.0 ^a	1.3 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{100GL}	15.6 $\pm$ 0.4 ^a	15.0 $\pm$ 0.3 ^c	64.9 $\pm$ 0.6 ^a	1.3 $\pm$ 0.0 ^a
Q _{50GL,50L}	18.8 $\pm$ 0.5 ^b	10.9 $\pm$ 0.3 ^b	66.8 $\pm$ 1.6 ^a	1.3 $\pm$ 0.1 ^a
Q _{25GL,75L}	22.3 $\pm$ 1.1 ^c	7.4 $\pm$ 1.3 ^a	67.9 $\pm$ 1.5 ^a	1.1 $\pm$ 0.3 ^a
Q _{0GL,100L}	23.5 $\pm$ 0.9 ^c	6.7 $\pm$ 1.4 ^a	66.2 $\pm$ 2.9 ^a	1.0 $\pm$ 0.1 ^a

Q_{x,y}: código del queso, donde “x” es el porcentaje de grasa láctea en la leche usada para su elaboración, respecto a 27 g de grasa láctea L⁻¹ contenidos en la leche usada para la elaboración del queso completo en grasa control (Q_{100GL}) y “y” es el porcentaje de grasa láctea que fue sustituido por microcápsulas. GL: grasa láctea; CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza. ^{a,b,c}: superíndices distintos en la misma columna de un bloque de datos, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

5.7 Microestructura de los quesos

Para estudiar los efectos microestructurales en queso tipo Panela, causados por la incorporación de microcápsulas conteniendo aceites esenciales en sustitución de la grasa láctea, se eligió el Q_{100GL} control completo en grasa y los quesos en los que se sustituyó el 50 % de la grasa láctea por microcápsulas: Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL,50U} y Q_{50GL,50L} (Figura 7), como representativos de este grupo de quesos.

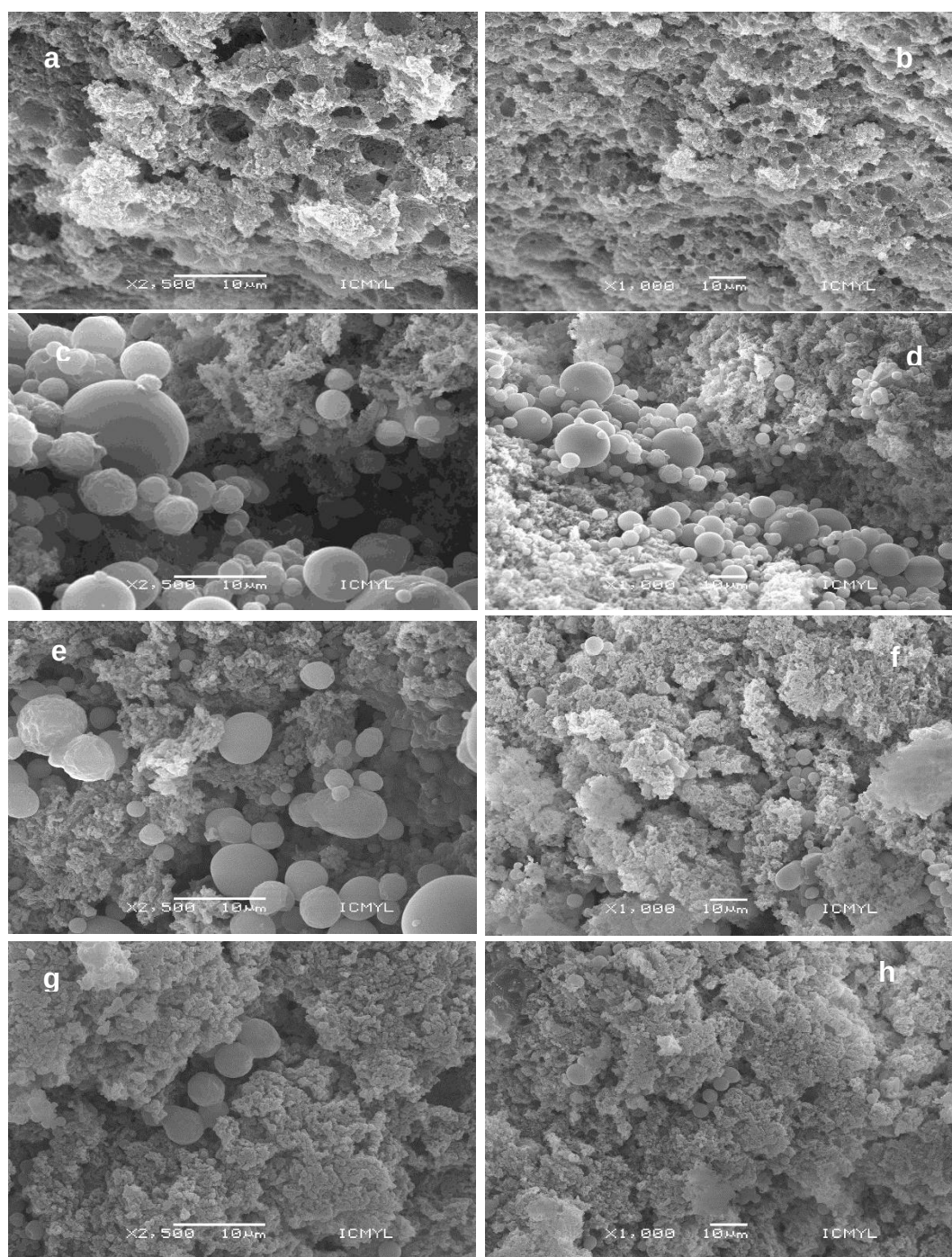


Figura 7. Micrografías MEB de queso tipo Panela: (a y b) completo en grasa (Q_{100GL}); (c y d) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de chía ($Q_{50GL,50CH}$); (e y f) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de uva ($Q_{50GL,50U}$) y (g y h) reducido en grasa incorporado con microcápsulas de aceite de linaza ($Q_{50GL,50L}$), a magnificaciones de 2500 y 1000 x.

La microestructura de Q_{100GL} (Figuras. 7a y 7b) consistió de una matriz proteínica porosa, relajada y rugosa, en la que se encontraron inmersos numerosos glóbulos de grasa láctea, de tamaño variable y forma semiesférica (evidenciado por los espacios vacíos que originalmente ocuparon los glóbulos de grasa), distribuidos uniformemente (Fig. 7b), dando lugar a una estructura semejante a la de un panal de abejas.

En contraste, la microestructura de los quesos reducidos en grasa incorporados con microcápsulas (Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL, 50U} y Q_{50GL, 50L}) (Figuras. 7c a 7h), estuvo constituida por regiones de proteína relativamente compactas y densas, interrumpidas por la presencia de numerosas gotas de aceite de tamaño variable, agrupadas en especies de racimos, y no distribuidas uniformemente en la matriz proteínica. La presencia de zonas de mayor densidad proteínica en los quesos Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL, 50U} y Q_{50GL, 50L}, en comparación con las observadas en Q_{100GL}, se debe a que en dichas regiones ocurrió un mayor grado de entrecruzamiento de las cadenas de caseína, por la ausencia de glóbulos de grasa y/o gotas de aceite que las interrumpieran (Lobato-Calleros *et al.*, 2008). Aun cuando se adicionaron gotas de aceite encapsuladas, éstas no fueron distribuidas uniformemente en la matriz proteínica, sino formaron agregados en ciertas zonas, correspondientes a la ubicación de las microcápsulas. Los tamaños de las gotas de aceite presentes en los quesos reducidos en grasa, siguieron la misma tendencia que aquellos determinados en las emulsiones; así el tamaño de las gotas de aceite en Q_{50GL,50CH} (Figuras. 7c y 7d) presentó mayor

variabilidad de tamaño y en general mayor al observado en Q_{50GL}, 50U y Q_{50GL}, 50L.(Figuras. 7e a 7h).

La estabilización de las gotas de aceite mediante proteína de lactosuero durante la formación de las emulsiones respectivas, facilitó su observación mediante Microscopía Electrónica de Barrido, debido a que la proteína que componía las muestras de queso fue fijada con glutaraldehído (Kalab *et al.*, 1995). Esta idea se refuerza al observar en las figuras 7c, 7e y 7g glóbulos de aceite recubiertos por estructuras rugosas atribuidas a la adsorción de proteínas de lactosuero.

Las estructuras de las microcápsulas no pudieron ser identificadas (Figuras. 7c a 7h) en ninguno de los quesos reducidos en grasa, pudiendo inferirse que se integraron completamente a la red proteínica de los quesos, debido a su naturaleza proteínica (Sandoval-Castilla *et al.*, 2004); ya que posiblemente ocurrieron interacciones entre las cadenas de caseína y proteínas de lactosuero por puente de hidrógeno, dipolo-dipolo y/o fuerzas de van der Waals. La posible observación de las gotas de aceite, pudo deberse a la ruptura de microcápsulas al cortar las muestras de queso.

5.8 Propiedades texturales de los quesos

Los quesos de los distintos tratamientos presentaron diferencias en sus características texturales de dureza, cohesividad y masticabilidad ($p \leq 0.05$), pero no en elasticidad ($p \geq 0.05$), (Cuadro 1). Se observa claramente que la dureza se ve afectada al adicionar las microcápsulas al queso, de tal manera

que a medida que se incrementa la proporción de microcápsulas adicionadas, también se incrementa la dureza y se afecta de manera indirecta la masticabilidad.

Cuadro 9. Propiedades texturales de los quesos (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.

Tratamiento	Código del queso	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)
Queso con aceite de chía	Q _{100GL}	2.9 $\pm$ 0.7 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^a
	Q _{50GL,50CH}	2.5 $\pm$ 0.5 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.8 $\pm$ 0.3 ^a	1.2 $\pm$ 0.3 ^{ab}
	Q _{25GL,75CH}	4.0 $\pm$ 0.8 ^b	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.6 $\pm$ 0.1 ^a	1.3 $\pm$ 0.3 ^{ab}
	Q _{0GL,100CH}	4.6 $\pm$ 0.7 ^b	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.6 $\pm$ 0.0 ^a	1.5 $\pm$ 0.2 ^b
Queso con aceite de semilla uva	Q _{100GL}	2.9 $\pm$ 0.7 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^{ab}
	Q _{50GL,50U}	2.9 $\pm$ 0.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.4 ^a	0.7 $\pm$ 0.3 ^a
	Q _{25GL,75U}	3.4 $\pm$ 0.3 ^b	0.6 $\pm$ 0.2 ^a	0.7 $\pm$ 0.5 ^a	1.6 $\pm$ 0.69 ^b
	Q _{0GL,100U}	3.6 $\pm$ 0.2 ^b	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.5 $\pm$ 0.4 ^a	1.0 $\pm$ 0.7 ^{ab}
Queso con aceite de linaza	Q _{100GL}	2.9 $\pm$ 0.7 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^a
	Q _{50GL,50L}	2.7 $\pm$ 0.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	0.7 $\pm$ 0.1 ^a
	Q _{25GL,75L}	3.1 $\pm$ 1.2 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	0.6 $\pm$ 0.28 ^a
	Q _{0GL,100L}	3.8 $\pm$ 0.4 ^b	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^a

Q_{x,y}: código del queso, donde “x” es el porcentaje de grasa láctea en la leche usada para su elaboración, respecto a 27 g de grasa láctea L⁻¹ contenidos en la leche usada para la elaboración del queso completo en grasa control (Q_{100GL}) y “y” es el porcentaje de grasa láctea que fue sustituido por microcápsulas. GL: grasa láctea; CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza. ^{a,b,c}: superíndices distintos en la misma columna de un bloque de datos, indican que las medias difieren significativamente ($p \leq 0.05$).

Este comportamiento se presenta al adicionar el 75 y 100 % de las microcápsulas, no así, cuando se adiciona el 50 % de éstas, pues a esta

concentración el queso presenta características texturales similares a las del queso testigo (Q_{100GL}) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Propiedades texturales de los quesos con 50 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.

Código del queso	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)	Q _{100GL}
Q _{100GL}	2.9 $\pm$ 0.7 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^a	L:
Q _{50GL,50CH}	2.5 $\pm$ 0.5 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.8 $\pm$ 0.3 ^a	1.2 $\pm$ 0.3 ^b	ques
Q _{50GL,50U}	2.9 $\pm$ 0.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.4 ^a	0.7 $\pm$ 0.3 ^a	o
Q _{50GL,50L}	2.7 $\pm$ 0.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	0.7 $\pm$ 0.1 ^a	com
					pleto

en grasa; Q_{50GL,50CH}: queso con 50 % de aceite de chía; Q_{50GL,50CU}: queso con aceite de uva y Q_{50GL,50L}: aceite de linaza.

^{a,b} Superíndices distintos en la misma columna, indica que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Los quesos enriquecidos con microcápsulas (Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL,50U} y Q_{50GL,50L}) en una concentración de 50 % no exhibieron diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en dureza, cohesividad y elasticidad con respecto al testigo (Q_{100GL}). Los quesos Q_{50GL,50L} y Q_{50GL,50U} mostraron valores de masticabilidad comparables al Q_{100GL}, mientras que el queso Q_{50GL,50CH} presento valores más altos que los tres anteriores. Se puede observar que a pesar de que los quesos con microcápsulas y el testigo presentaron arreglos estructurales distintos ambos quesos exhibieron características texturales muy similares.

Este resultado indica que aun cuando la matriz de proteína del queso Q_{100GL} estuvo interrumpida por un mayor número de glóbulos de grasa que la matriz de los quesos Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL,50U} y Q_{50GL,50L}, la estructura de estos últimos exhibió una susceptibilidad a la deformación similar a la del queso Q_{100GL}, lo que

se atribuye a las interacciones proteína de lactosuero-caseína y proteína de lactosuero-agua debido a que al estar presentes estas uniones en la red de proteína del queso, se interrumpe la continuidad de las uniones caseína-caseína que imparten las características de dureza al queso y con ello la estructura es menos rígida. Resultados similares fueron reportados por Lobato-Calleros *et al.* (2001) para queso tipo manchego enriquecido con concentrado de proteína de lactosuero que presentó valores de dureza similares a los del queso completo en grasa.

Cuadro 11. Propiedades texturales de los quesos con 75 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.

Código del queso	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)
Q _{100GL}	2.9 $\pm$ 0.7 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^a	0.8 $\pm$ 0.2 ^{ab}
Q _{25GL,75CH}	4.0 $\pm$ 0.8 ^{bc}	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.6 $\pm$ 0.1 ^a	1.3 $\pm$ 0.3 ^{ab}
Q _{25GL,75U}	3.4 $\pm$ 0.3 ^{ab}	0.6 $\pm$ 0.2 ^a	0.7 $\pm$ 0.5 ^a	1.6 $\pm$ 0.6 ^b
Q _{25GL,75L}	3.1 $\pm$ 1.2 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	0.6 $\pm$ 0.2 ^a

Q_{100GL}: queso completo en grasa; Q_{50GL,50CH}: queso con 75 % de aceite de chía ; Q_{25GL,75U}: queso con aceite de uva y Q_{25GL,75L}: aceite de linaza.

^{a,b} Superíndices distintos en la misma columna, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En el Cuadro 11 se puede observar que al sustituir la grasa láctea en un 75 % por microcápsulas las características texturales modificadas son la dureza y la masticabilidad.

El queso Q_{25GL,75CH} mostró mayor dureza ($p \leq 0.05$) que el resto de los quesos, por el contrario los quesos Q_{25GL,75U} y Q_{25GL,75L} presentaron valores comparables ($p \geq 0.05$) de dureza a los del queso Q_{100GL}.

Al sustituir la grasa láctea al 100 % por microcápsulas se observa un efecto estadísticamente significativo ($p \leq 0.05$) en la dureza del queso al incrementarse considerablemente (Cuadro 12).

Cabe resaltar que a esta concentración de microcápsulas ninguno de los quesos enriquecidos muestra valores de dureza y masticabilidad similares a los del queso Q_{100GL} , de tal manera que no es recomendable sustituir la fracción grasa al 100 % ya que se afectan la dureza y masticabilidad significativamente.

Cuadro 12. Propiedades texturales de los quesos con 100 % de microcápsulas (Valores medios $\pm$ DE), después de un día de almacenamiento.

Código del queso	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)
Q_{100GL}	2.9 ± 0.7^a	0.5 ± 0.0^a	0.5 ± 0.1^a	0.8 ± 0.2^a
$Q_{0GL,100CH}$	4.6 ± 0.7^c	0.5 ± 0.0^a	0.6 ± 0.09^a	1.5 ± 0.2^b
$Q_{0GL,100U}$	3.6 ± 0.2^b	0.5 ± 0.1^a	0.5 ± 0.4^a	1.0 ± 0.7^a
$Q_{0GL,100L}$	3.8 ± 0.4^b	0.5 ± 0.07^a	0.4 ± 0.1^a	0.8 ± 0.2^a

Q_{100GL} : queso completo en grasa; $Q_{0GL,100CH}$: queso con 100 % de aceite de chía ;

$Q_{0GL,100U}$: queso con aceite de uva y $Q_{0GL,100L}$: aceite de linaza.

^{a,b} Superíndices distintos en la misma columna, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En general se puede decir que sustituciones de la fracción grasa de hasta un 50 % con la adición de aceite microencapsulado no causaron modificaciones en las características texturales del queso mostrando un comportamiento textural similar al queso testigo (Q_{100GL}).

Las características texturales de los distintos tratamientos que variaron con el tiempo de almacenamiento de forma más acentuada fueron la dureza y masticabilidad, mostrando una tendencia a incrementar su valor (Cuadro 13).

El resto de las características texturales variaron en un rango muy estrecho de valores (cohesividad) y la elasticidad se mantuvo igual. El aumento en la dureza en el tiempo de almacenamiento puede asociarse con la pérdida de humedad ya que una disminución de la hidratación de las proteínas conduce a una mayor interacción de las mismas, provocando el aumento de la firmeza en la matriz proteínica (Adda *et al.*, 1982; Walstra, 1990).

Cuadro 13. Propiedades texturales de los quesos (Valores medios $\pm$ DE), después de 15 días de almacenamiento.

Tratamiento	Código del queso	Dureza (N)	Cohesividad (Adim)	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (N. mm)
Queso con aceite de chía	Q _{100GL}	4.4 $\pm$ 1.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.19 ^a	1.1 $\pm$ 0.6 ^a
	Q _{50GL,50CH}	4.4 $\pm$ 0.6 ^a	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	1.2 $\pm$ 0.5 ^a
	Q _{25GL,75CH}	5.1 $\pm$ 1.1 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.4 $\pm$ 0.2 ^a	1.4 $\pm$ 0.5 ^a
	Q _{0GL,100CH}	5.7 $\pm$ 1.4 ^b	0.5 $\pm$ 0.0 ^a	0.5 $\pm$ 0.2 ^a	1.7 $\pm$ 0.5 ^a
Queso con aceite de semilla Uva	Q _{100GL}	4.4 $\pm$ 1.3 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.06 ^b	0.4 $\pm$ 0.1 ^a	1.1 $\pm$ 0.68 ^a
	Q _{50GL,50U}	4.1 $\pm$ 0.3 ^a	0.5 $\pm$ 0.1 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.3 ^a	1.1 $\pm$ 0.7 ^a
	Q _{25GL,75U}	4.9 $\pm$ 0.8 ^{ab}	0.5 $\pm$ 0.1 ^{ab}	0.4 $\pm$ 0.4 ^a	1.1 $\pm$ 0.7 ^a
	Q _{0GL,100U}	5.1 $\pm$ 0.5 ^b	0.4 $\pm$ 0.17 ^a	0.5 $\pm$ 0.3 ^a	1.1 $\pm$ 0.6 ^a
Queso con aceite de linaza	Q _{100GL}	4.4 $\pm$ 1.3 ^a	0.57 $\pm$ 0.06 ^a	0.48 $\pm$ 0.19 ^a	1.17 $\pm$ 0.68 ^a
	Q _{50GL,50L}	4.3 $\pm$ 0.9 ^a	0.58 $\pm$ 0.05 ^a	0.43 $\pm$ 0.17 ^a	1.03 $\pm$ 0.38 ^a
	Q _{25GL,75L}	5.1 $\pm$ 0.7 ^{ab}	0.56 $\pm$ 0.19 ^a	0.60 $\pm$ 0.31 ^a	1.46 $\pm$ 0.39 ^a
	Q _{0GL,100L}	5.9 $\pm$ 0.4 ^b	0.58 $\pm$ 0.05 ^a	0.43 $\pm$ 0.17 ^a	1.46 $\pm$ 0.56 ^a

Q_{x,y}: código del queso, donde “x” es el porcentaje de grasa láctea en la leche usada para su elaboración, respecto a 27 g de grasa láctea L⁻¹ contenidos en la leche usada para la elaboración del queso completo en grasa control (Q_{100GL}) y “y” es el porcentaje de grasa láctea que fue sustituido por microcápsulas. GL: grasa láctea; CH: aceite de chía; U: aceite de uva; L: aceite de linaza. ^{a,b,c}: superíndices distintos en la misma columna de un bloque de datos, indican que hay diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Además, las características texturales del queso son determinadas por las propiedades estructurales de la matriz proteínica y las gotas de grasa inmersas en la misma.

A medida que se reduce el contenido de grasa, existen más zonas de proteína no interrumpidas que forman la estructura del queso, ocasionando un alto grado de entrecruzamiento entre las moléculas de proteína, resultando una red tridimensional que exhibe alta resistencia a la deformación (Bryant *et al.*, 1995; Lobato-Calleros *et al.*, 2001; Guo *et al.*, 2012). Por su parte las gotas de grasa contribuyen a las características estructurales del queso dependiendo de su naturaleza, tamaño, concentración, punto de fusión y su habilidad o inhabilidad para interactuar con la matriz de proteína (Lobato-Calleros *et al.*, 2003), lo que determinará si actúan como rellenos de espacios intercadenciales o si poseerán la habilidad para convertirse en parte integral y reforzar la red proteínica.

5.3.4 Análisis sensorial

De igual manera que para el análisis microestructural de los quesos, para la evaluación sensorial se eligió el Q_{100GL} control completo en grasa y los quesos en los que se sustituyó el 50 % de la grasa láctea por microcápsulas: Q_{50GL,50CH}, Q_{50GL,50U} y Q_{50GL,50L}, como representativos de este grupo de quesos. Se determinaron diferencias significativas (Friedman, $P < 0,05$) en la aceptabilidad global y los atributos sensoriales evaluados en el queso (color, olor, sabor, textura, salado y apariencia) en todos los tratamientos, al sustituir la grasa con

los diferentes aceites encapsulados, es decir el nivel de agrado es diferente para cada uno de los tratamientos de queso (Cuadro 14).

Cuadro 14. Valores de (Friedman, $P < 0,05$) para la prueba Justo como lo esperaba (JAR) para atributos sensoriales en queso panela.

Atributo	(Friedman, $P < 0,05$)
Color	$p = 0.001$
Olor	$p = 0.001$
Sabor	$p = 0.022$
Textura	$p = 0.001$
Salado	$p = 0.005$
Apariencia	$p = 0.005$
Aceptabilidad	$p = 0.001$
Global	

El queso $Q_{50GL,50U}$ presentó el mismo nivel de agrado en color y en olor que el queso control Q_{100GL} . Los quesos $Q_{50GL,50CH}$ y $Q_{50GL,50L}$ mostraron niveles de agrado para color comparables entre sí ($p \geq 0.05$) y distintos ($p \leq 0.05$) del queso Q_{100GL} (Figura.8).

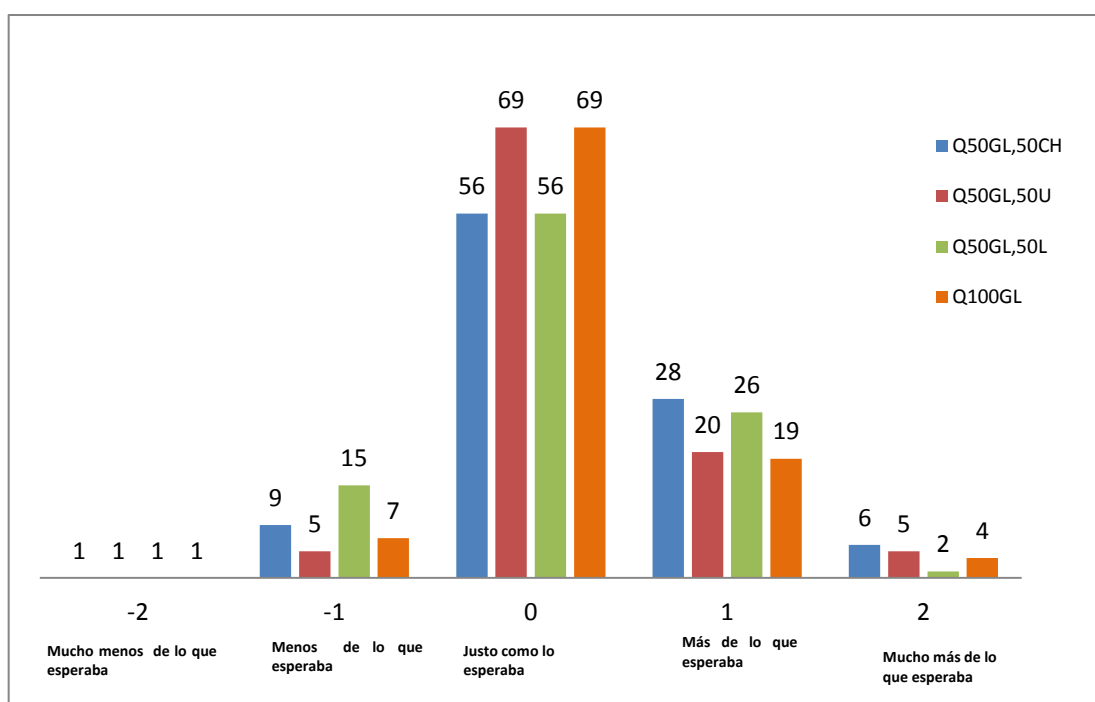


Figura 8. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para el atributo de color.

Respecto a los atributos de sabor y textura, el queso Q_{50GL,50L} tuvo el mismo nivel de agrado que el queso Q_{100GL}, siendo estos dos atributos determinantes para la aceptabilidad global (Figuras.10,11 y 14) de los consumidores, dado que éste queso fue el más aceptado de aquellos sustituidos con microcápsulas con aceites esenciales, exhibiendo un nivel de agrado similar al queso control. A pesar de que este queso se percibió diferente ($p \leq 0.05$) en los atributos de olor, salado y apariencia (Figuras.12 y 13).

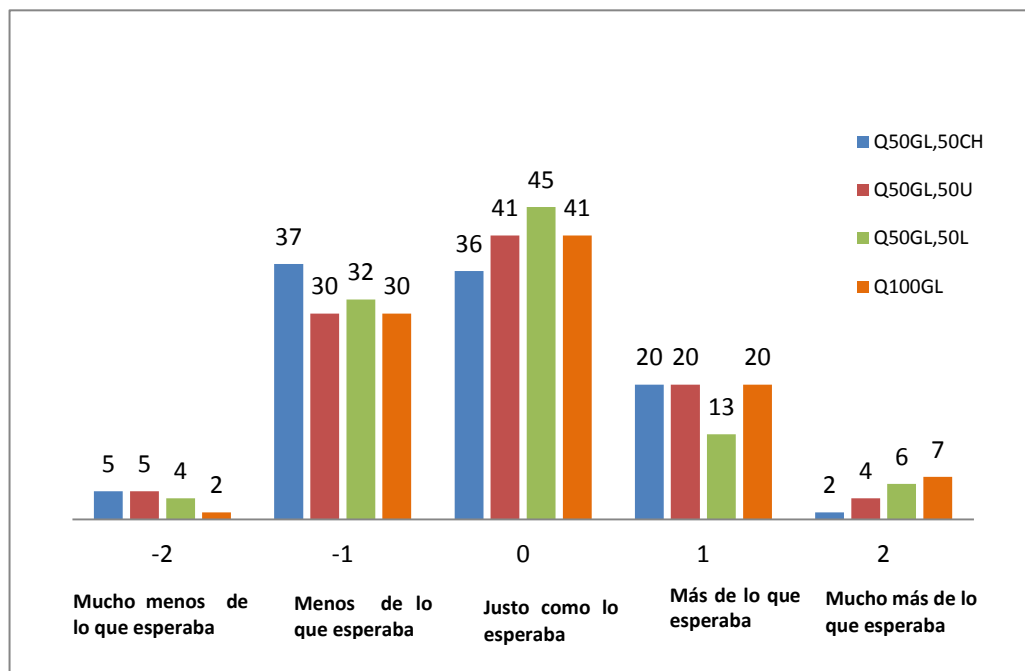


Figura 9. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para el atributo de color.

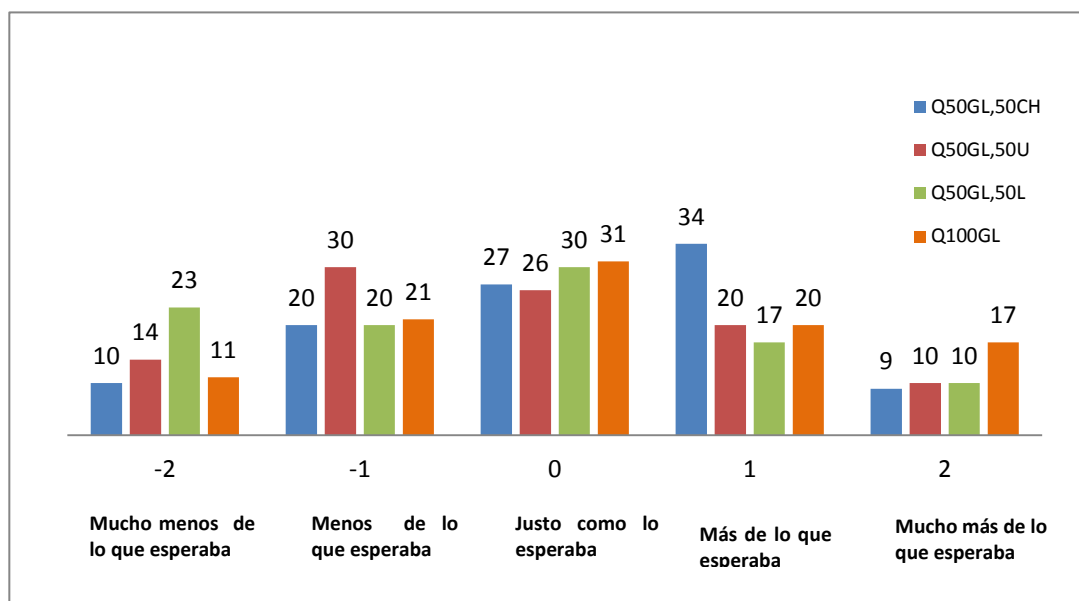


Figura 10. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para sabor.

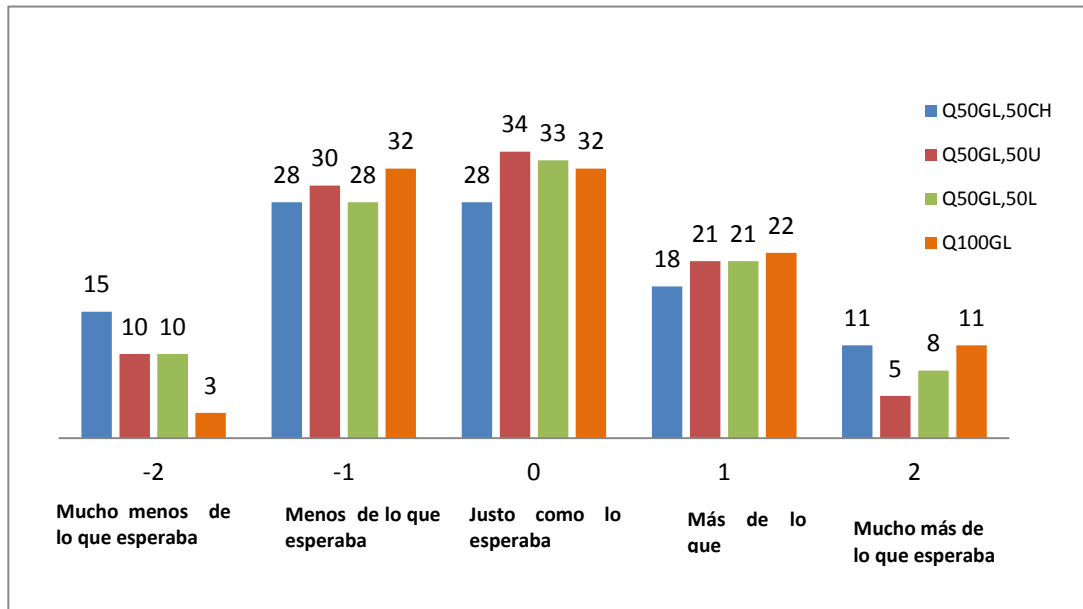


Figura 11. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para textura.

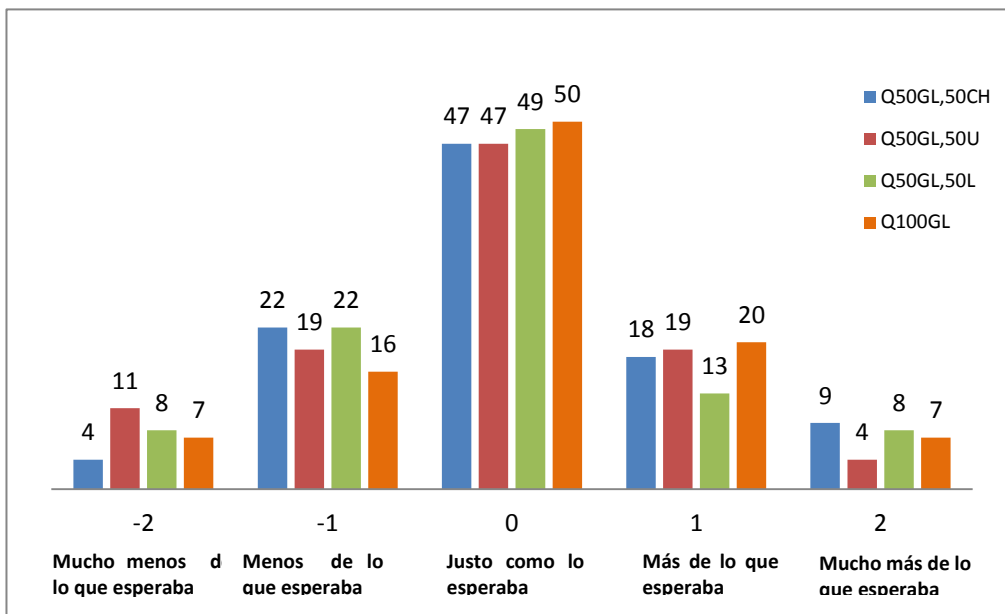


Figura 12. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para salado.

El efecto en el nivel de agrado en el color se atribuye a que las microcápsulas con aceite de linaza presentaron un color ligeramente amarillento afectando la apariencia del queso, y a que el aceite de linaza posee un olor propio característico un poco más acentuado con respecto a los demás aceites evaluados, por lo que se sugiere probar otras concentraciones de sal y aplicar tratamientos que mejoren los atributos de olor y color favoreciendo el nivel de agrado para estos atributos. En contraste, el queso Q_{50GL,50CH} fue el menos aceptado por los consumidores, y el que obtuvo menor nivel de agrado en casi todos los atributos evaluados excepto en el saldo, donde se percibió de forma similar ($p \geq 0.05$) al control.

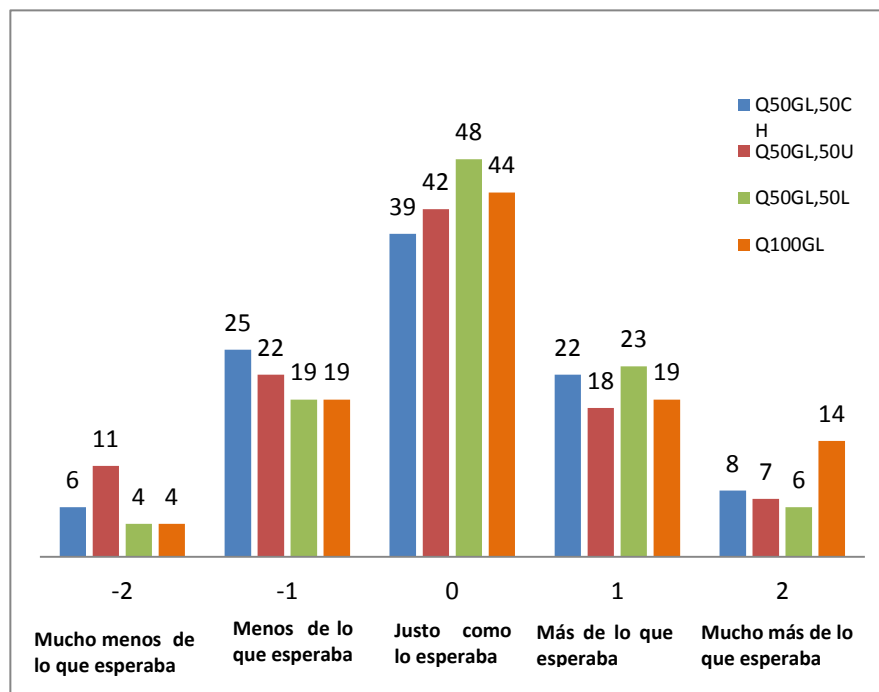


Figura 13. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para apariencia.

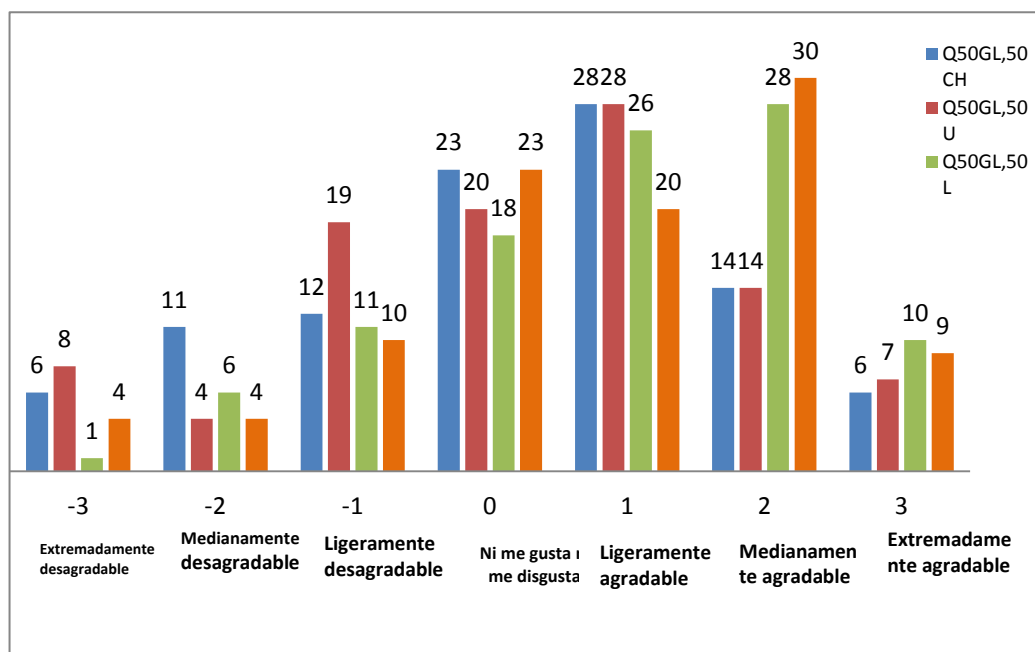


Figura 14. Histograma para la prueba sensorial Justo como lo esperaba (JAR) para aceptabilidad global (A.G.)

6. CONCLUSIONES

El tamaño de gota en las emulsiones se vio afectado por la composición química de los aceites utilizados en su elaboración, revelando que a menor concentración de ácidos grasos saturados y monoinsaturados en el aceite, se tiene una menor adsorción de la proteína de lactosuero y su consecuente habilidad para formar películas interfaciales alrededor de las gotas de aceite. Dichas variaciones en el tipo de aceite afectaron la composición química de las microcápsulas, ya que las que mostraron una menor Eficiencia de Microencapsulación (EME), se caracterizaron por tener una estructura de gel de proteína de lactosuero menos densa y más porosa, lo que permitió la salida del aceite encapsulado del interior de la emulsión hacia la fase continua durante la gelificación de proteína (M_{CH}).

El tamaño de las microcápsulas varió en función de la estabilidad y el tamaño de gota de las emulsiones, a menor tamaño de gota se obtuvieron microcápsulas con diámetros menores. El aceite de linaza confirió mejores propiedades a las emulsiones aceite-en-agua ya que se obtuvieron microcápsulas con mejores características morfológicas, microestructurales y con una mayor retención de aceite en el núcleo.

La composición química de los quesos varió dependiendo del grado de sustitución de grasa láctea por microcápsulas conteniendo aceites esenciales, así como del tipo de aceite encapsulado.

En general, al sustituir mayores concentraciones de grasa láctea por microcápsulas, los quesos tipo Panela presentaron mayor contenido de proteína y menor contenido de grasa.

La dureza se vio afectada al adicionar las microcápsulas, a medida que se incrementaba la proporción de éstas, aumentaban los valores de dureza, afectando de manera indirecta a la masticabilidad. Excepto cuando se sustituyó el 50 % de la grasa láctea, ya que a esta concentración el queso presentó características texturales similares al queso control. No así, cuando se sustituyó el 75 y 100 % de la grasa, concentraciones en las cuales las características texturales del queso se vieron afectadas significativamente ($P < 0.05$), por lo que se recomienda sustituir no más del 50 % de la fracción grasa.

Las microcápsulas M_L adicionadas al queso en una concentración de 50 % confirieron atributos de sabor y textura determinantes en la aceptabilidad global de los consumidores en comparación con el resto de los quesos sustituidos con aceites esenciales y mostró el mismo nivel de agrado que el completo en grasa.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Adjonu, R., Dorana, G., Torley, P., Agboola, S. (2014). Whey protein peptides as components of nanoemulsions: A review of emulsifying and biological functionalities. *Journal of Food Engineering*, 122, 15–27.
2. Aggett P, Ashwell M, Bornet F, Diplock A, Fern E, Roberfroid M. Scientific Concepts of food functional in Europe: Consensus Document. *Brit J Nutr* 1999; 81 (Suppl. 1): S1-S27.
3. Ahn, J.H., Kim, Y. P., Lee, Y. M., Seo, E. M., Lee K. W. y Kim H. S. (2008). Optimization of microencapsulation of seed oil by response surface methodology. *Food Chemistry*, 107, 98-105.
4. Akalin, A. S., Karagozlu, C. y Unal, G. (2008) Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate inulin. *European Food Research Technology*, 227, 889-895.
5. Alais, C.H. (2001). *Ciencia de la leche: Principios de Técnica lechera*. 3ra ed. Editorial CECSA, México.
6. Alvidrez-Morales A., González-Martínez B.E. y Jiménez-Salas Z. 2002. Tendencias en la producción de alimentos funcionales. *Revista Pública y Nutrición*, 3 (3): 1-18
7. Anzaldúa-Morales, A. (2005). *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y práctica*. Acribia. Zaragoza, España. 198 p.

8. AOAC. (1995). Official methods of analysis (16th ed.) Arlington, Association of Official Analytical Chemists.
9. Aranberri, I., Binks, B. P., Clint, J. H., Fletcher, P. D. I. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensoactivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 7 (3): 211-231.
10. Artignan, J. M., Corrieu, G., y Lacroix, C. (1997). Rheology of pure and mixed kappacarrageenan gels in lactic acid fermentation conditions. *Journal of Texture Studies*, 28(1): 47-70.
11. Ashwell M. Conceptos sobre los alimentos funcionales. International Life Science Institute (ILSI). ILSI Press. Washington DC. 2004. Pp 1-48.
12. Ayerza R., Coates W. (2004). Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. *TropSci* 44:131-135.
13. Bail, S., Stuebiger, G., Krist, S., Unterweger, H. y Buchbauer, G. (2008). Characterization of various grape seed oils by volatile compounds, triacylglycerol composition, total phenols and antioxidant capacity. *Food Chemistry*, 108, 1122-1132.
14. Barrantes E.; Tamine A.Y.; Muir D.D., Sword A.M. 1994. The effect of substitution of fat by microparticulate whey protein on quality of set type, natural yogurt. *Journal of Society of Dairy Technology* 47(2): 61-68.
15. Baud S, Lepiniec L. Physiological and developmental regulation of seed oil production Review Article. *Prog. Lipid Res* 2010; 49: 235-249.
16. Baxter, A.J., Coyne, T., McKlintock, C. (2006). Dietary patterns and metabolic syndrome--a review of epidemiologic evidence. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* 15(2), 134-142

17. Bellisle F, Diplock S, Hornstra G, Koletzko B, Roberfroid M., Salminen S, Saris W. Functional Food Science in Europe. *Brit J Nutrition* 1998; 80 (Suppl. 1): S1-S193.
18. Benichou, A., Aserin, A., Garti, N. (2002). Double emulsions stabilized by new molecular recognition hybrids of natural polymers. *Polymers for Advances Technologies*, 13: 1019-1031.
19. Bockisch M. (1998). Extraction of vegetable oils. In *Fats and oils handbook*. AOCS Press, Champaign, USA. Bourne M.C. (1992). *Food Texture and Viscosity*. Academic Press, New York. Pp. 330.
20. Bryant, A., Ustunol, Z., Steffe, J. (1995). Texture of cheddar cheese as influenced by fat reduction. *Journal of Food Science*, 60, 1216–1219, 1236.
21. Carneiro, H.C.F., Tonon, R.V., Grosso, C.R.F. y Hubinger, M. (2012). Encapsulation efficiency and oxidative stability of flaxseed oil microencapsulated by spray drying using different combinations of wall materials. *Journal of Food Engineering* 115 (2013) 443–451. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.033>.
22. Choonara, Y. E., Pillay, V., Singh, N., y Ndesendo, M. K. (2008). Chemometric, physicochemical and rheological analysis of the sol-gel dynamic and degree of crosslinking of glycosidic polymers. *Biomedical Materials*, 3(2): 1-15.
23. Choi, Y. y Lee, J. (2009). Antioxidant and antiproliferative properties of tocotrienol-rich fraction from grape seeds. *Food Chemistry*, 114, 1386-1390.
24. Cubero, N., Monferrer, A. y Villalta, J. (2002). *Aditivos alimenticios*. Mundi-Prensa. Madrid, España. p. 161-186. Charve, J.; Reineccius, G.A. Encapsulation performance of proteins and traditional materials for spray

- dried flavors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009, 57(6), 2486–2492.
25. Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70, 54-66.
 26. Dauksas, E., Rimantas Venskutonis, P., Sivik, B., y Nillson, T. (2002). Effect of fast CO₂ pressure changes on the yield of lovage (*Levisticum officinale* Koch.) and celery (*Apium graveolens* L.) extracts. *The Journal of Supercritical Fluids*, 22(3), 201-210.
 27. Daun, J. K.; Barthet, V. J., CHornick, T. L.: Duguid, S.(2003). Structure, composition, and variety development of flaxseed. In: Thompson, L.U.; Cunanne, S.C. (Eds.). *Flaxseed in Human Nutrition*. 2nd ed. Champaign, Illinois. AOCS Press. pp. 1-40.
 28. Demarco A (2009). Capítulo III: Extracción por solvente. En *Temas Selectos en Aceites y Grasas*. Eds. JM Block y D Barrera Arellano, Editorial Blücher, San Pablo, Brasil, pp. 67-95.
 29. Decker A.E., Alamed J., Castro I.A. (2010). Interaction Between Polar Components and the Degree of Unsaturation of Fatty Acids on the Oxidative Stability of Emulsions. 87:771–780
 30. Dickinson, E. y Stainsby, G. (1982). *Colloids in Foods*. Applied Science Publishers, Londres, Reino Unido. Dickinson, E. (1992). Interfacial interactions and the stability of oil-in-water emulsions. *Pure and Application Chemistry*, 64(11): 1721-1724.
 31. Escobar MC., Van-Tasel ML., Martínez-Bustos F., Singh M., Castaño-Tostado E., Amaya-Llano S., Miller MJ. (2012). Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava bean Storch. *Journal of Dairy Science* 95 (6): 2779-2787.

- 32.Figuerola F., Muñoz O. y Estévez A.M. (2008). La linaza como fuente de compuestos bioactivos para la elaboración de alimentos. AGRO SUR 36 (2) 49-58.
- 33.Foegering, E.A., Davis, J.P., Doucet, D. (2002). Advances in modifying and understanding whey protein functionality. Trends in food Science y Technology. 3 151– 159
- 34.Gunasekaran, S., Sanghoon, Lan (2007). Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications. Journal of Food engineering, 83, 31-40.
- 35.Gharsallaoui, A., Roudaut, G., Chambin, O., Voilley, A., Saurel, R. (2007). Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. Food Research International 40: 1107–1121.
- 36.Gharsallaoui, A., Saurel, R., Chambin, O., Cases E., Voilley, A., y Cayot, P. Pea (*Pisum sativum*, L.)(2011). Protein isolate stabilized emulsions: A novel system for microencapsulation of lipophilic ingredients by spray drying. Food Bioprocess Technology, doi: 10.1007/s11947-010-0497-z.
- 37.Girard, M., Turgeon, S. L., Paquin, P. (2002).Emulsifying properties of whey protein-carboxymethylcellulose complexes. Journal of Food Science 67(1): 13-119.
- 38.Halmos A. L. (1997). Food Texture and sensory properties of dairy ingredients. Food Australian, 49 (4): 169-173.
- 39.Heidebach, T., Forts, P., Kulozik, U. (2009). Microencapsulation of probiotic Cells by means of rennet-gelation of milk proteins. Food Hydrocolloids, 23,1670–1677.
- 40.Jafari S, Assadpoor E, Yinghe H. (2008). Encapsulation efficiency of food flavors and oil during spray drying. Dry Technol; 26: 816-835.

41. Jiménez P.P., Manson S.L., Quitral V.R. (2013). Composición química de semillas de chía, linaza y rosa mosqueta y su aporte en ácidos grasos omega 3.
42. Kalab, M., Allan-Wojtas, P., Miller, S. S. (1995). Microscopy and other imaging techniques in food structure analysis. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 177–186.
43. Kappes, S.M., Schmidt, S.J. y Lee, S.Y. (2006). Descriptive analysis of cola and lemon/lime carbonated beverages. *Journal of Food Science*, 71: 583-589.
44. Keating P.F. (1999). Introducción a la lactología. 2da. Edición. Ed. Limusa, México.
45. Kim, D.J., Jeon, G., Sung, J., Oh, S.K., Hong, H.C., y Lee, J. (2010). Effect of grape seed oil supplementation on plasma lipid profiles in rats. *Food Science Biotechnology*, 19, 249-252.
46. Kim, H. J., Decker, E. A. y McClements, D. J. (2006). Preparation of multiple emulsions based on thermodynamic incompatibility of heat-denatured whey protein and pectin solutions. *Food Hydrocolloids*, 20, 586-595.
47. Knoch B, Barnett M, Roy N, McNabb W. Study of the effects of dietary polyunsaturated fatty acids: Molecular mechanisms involved in intestinal inflammation. *Grasas y Aceites* 2009; 60: 8-21.
48. Lee S.J., Rosenberg M. (2000). Whey protein-based microcapsules prepared by double emulsification and heat gelation. [LWT - Food Science and Technology](#), 33, 80-88.

49. Li B., Hayes J.E., Ziegler G.R (2014). Just-**About-Right** **and** ideal scaling provide similar insights into the influence of sensory attributes on liking. *Food Quality and Preference* 1;37:71-78.
50. Lim, H. K., Tan, C. P., Bakar, J. y Ng, S. P. Effects of different wall materials on the physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated red-fleshed pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) seed oil. *Food Bioprocess Technology* (2011), doi: 10.1007/s11947-011-0555-1.
51. Lobato-Calleros, C., Vernon-Carter, E.J., Guerrero-Legarreta, I., Soriano-Santos, J., Escalona-Buendía, H. (1997). Use of fat blends in cheese analogs: influence on the sensory and instrumental textural characteristics. *Journal of Texture Studies*, 28, 619-632.
52. Lobato-Calleros C., Aguirre-Mandujano E., Vernon-Carter E.J., Sánchez-García J. (2000). Viscoelastic properties of White fresh cheese filled with sodium caseinate. *Journal of Texture Studies* 31 (4): 379-390.
53. Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Osorio-Santiago, V.J., Vernon-Carter, E.J., Hornelas-Urbe, Y. (2002). Microstructure and texture of Manchego cheese-like products made with canola oil, lipophilic and hydrophilic emulsifiers. *Journal of Texture Studies*, 33: 165-182.
54. Lobato-Calleros C., Rodríguez, E., Sandoval-Castilla, O., Vernon-Carter, E. J., Álvarez-Ramírez, J. (2006). Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from W1/O/W2 multiple emulsions: Viscoelastic and high resolution image analyses. *Food Research International*, 39:678-685.
55. Lobato-Calleros, C., Sosa-Pérez, A., Rodríguez-Tafoya, J., Sandoval-Castilla, O., Pérez-Alonso, C., Vernon-Carter, E.J. (2008). Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made from

- $W_1/O/W_2$ emulsions and skim milk. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1847-1856.
56. Lutterodt H., Slavin M., Whent M., Turner E., Yu L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food Chemistry* 128 391–399
57. Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., y Desobry, S. (2006). Flavour encapsulation and controlled release-a review. *International Journal of Food Science Technology*, 41, 1-21.
58. Matthaus B, Aitzetmuller K, Friedrich H. The new database “Seed oil Fatty Acids” (SOFA). *Grasas y Aceites* 2003; 54: 188-193.
59. McClements, D. J. (1999). *Food Emulsions: Principles, Practice and Techniques*. CRC Press, Boca Raton, Florida, EUA.
60. McClements, D. J. (2005). *Food emulsions: principles, practice and techniques*. Boca Raton (FL): 89: 123.187.
61. McClements D.J. and Guzey (2006). Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in colloid and interface science* 128: 227-248
62. McClements D.J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Science*, 72.
63. Morris, D. H.; Vaisey-Genserb, M. (2003). Availability and Labeling of Flaxseed Food, Products and Supplements. In: Thompson, L. U.; Cunnane S. C. *Flaxseed in Human Nutrition*. 2nd, Champaign, Illinois. AOCS Press. pp. 404-422.