

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**ORÉGANO NANOPARTICULADO EN LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESO**

**PANELA**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN  
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTA**

**FÁTIMA EDITH LÓPEZ CEPEDA**

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

MAYO 2024

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**ORÉGANO NANOPARTICULADO EN LA VIDA DE ANAQUEL DEL QUESO**

**PANELA**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
**MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN  
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTA

**FÁTIMA EDITH LÓPEZ CEPEDA**

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

MAYO 2024

ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR  
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN  
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

COMITÉ PARTICULAR



D.Ph. Gerardo Méndez Zamora  
Director de Tesis



Dr. Víctor Aguirre Arzola  
Co-Director de Tesis



Dra. Sughey Ramona Sinagawa García  
Asesora de Tesis



Dra. Julia Mariana Márquez Reyes  
Asesora de Tesis



Dra. Sara Paola Hernández Martínez  
Asesora Externa de Tesis



Dra. Daniela Sarai Rico Costilla  
Asesora Externa de Tesis



Dra. Maribel Plascencia Jatomea  
Asesora Externa de Tesis



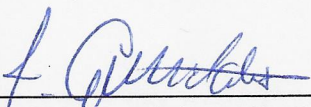
Dr. José Rodríguez Rodríguez  
Asesor Externo de Tesis

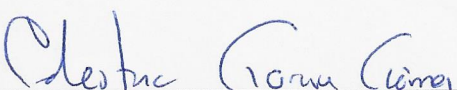



Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto  
Subdirectora de Posgrado e Investigación

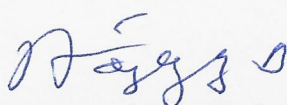
ESTA TESIS FUE APROBADA EN FORMATO, POR EL COMITÉ DE POSGRADO,  
ATENDIENDO A EL ARTÍCULO 123, DEL REGLAMENTO GENERAL DEL  
SISTEMA DE POSGRADO DE LA UANL.

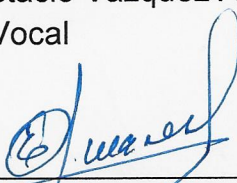
COMITÉ DE POSGRADO

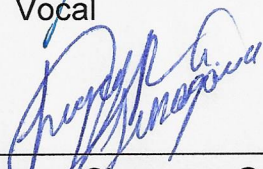
  
Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto  
Presidenta

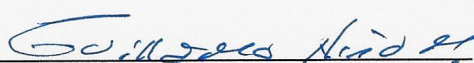
  
Dr. Celestino García Gómez  
Secretario

  
Dra. Lidia Rosaura Salas Cruz  
Vocal

  
Ph.D. Rigoberto Eustacio Vázquez Alvarado  
Vocal

  
Ph.D. Emilio Olivares Sáenz  
Vocal

  
Dra. Sughey Ramona Sinagawa García  
Vocal

  
Dr. Guillermo Niño Medina  
Vocal

## DEDICATORIA

A mis queridos padres:

*Alma Cepeda y Raúl López*

Ustedes son el pilar más fundamental en mi vida, gracias por su apoyo incondicional, por alentarme a perseguir mis sueños y metas. Esto es el reflejo del trabajo y dedicación que me brindaron, gracias por enseñarme a siempre superar los obstáculos, les agradezco los consejos más precisos en situaciones que creí que ya no podía más, gracias papás por darme esta oportunidad de estudiar, por el sacrificio y sobre todo por siempre creer en mí y por segunda ocasión, este logro es por ustedes. Los amo mucho.

Para mis hermanos Reyna, Dalí y mi sobrino Yael por siempre estar conmigo en todo momento, por motivarme siempre a seguir adelante, por escucharme en todo momento, los quiero mucho

A mis primas Kari y Meli por siempre estar conmigo en todo momento.

*A Kyra por ser mi soporte emocional.*

Esta tesis es por ustedes familia.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Autónoma de Nuevo León, por ser mi casa de estudios.

A CONAHCYT por el apoyo económico brindado en estos dos años.

A la empresa Natural Solutions por otorgar el aceite de orégano.

A la Facultad de Agronomía por ser mi estadía desde licenciatura y maestría y al Centro de Investigación y Desarrollo en Industrias Alimentarias, por facilitar sus equipos e instalaciones del Laboratorio de Lácteos, biotecnología microbiana, Evaluación Sensorial, Ingeniería y biotecnología, así mismo, expresar mi externo agradecimiento al personal técnico de cada laboratorio, al MC. Miguel Pérez Sánchez, Don George, Dra. Beatriz Rodríguez, Ing. Zayd Rangel e Ing. Jesús Lara.

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, especialmente al laboratorio de Nutrición Animal por facilitarme el uso de su laboratorio, le agradezco a TLQ. Julia Arteaga por todo el apoyo brindado en el laboratorio.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, al departamento de Bionanotecnología por el apoyo de sus instalaciones y equipos.

Al Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey por abrirme las puertas para realizar mi estancia, en especial al Centro de Investigación y Desarrollo de Proteínas, sin duda me llevo una grata experiencia al conocer más gente que les apasiona la ciencia y tecnología alimentaria, me llevo un gran recuerdo de todo el personal, aprendí mucho de cada uno y por la amistad brindada, también en especial le agradezco en especial al Dr. José Rodríguez Rodríguez por apoyarme en realizar mi estadía y por el apoyo brindado, así mismo a la Dra. Cristina Chuck, Dra. Cyntia Soria y al IQ. Alejandro Núñez, por siempre apoyarme en todo momento, les agradezco el conocimiento y el apoyo que me brindaron en todo momento, me llevo todo lo aprendido de cada uno de ustedes.

Al D.Ph. Gerardo Méndez Zamora por el apoyo desde la licenciatura y maestría, sin duda aprendí mucho de usted, por ser excelente asesor, le agradezco todos los consejos que me brindo a lo largo de esta trayectoria académica, por todas las aportaciones académicas por las herramientas que me dio para llevar a cabo el experimento y sobre todo por la paciencia de enseñarme, me llevo todo lo bueno que

aprendí de usted para aplicarlo en un futuro y así mismo, le agradezco por motivarme en seguir con la línea de productos lácteos.

Al Dr. Víctor Aguirre Arzola por enriquecerme de su conocimiento y por el apoyo brindado hacia mi persona.

A la Dra. Sugey Sinagawa y Dra. Daniela Saraí por el apoyo brindado y sus contribuciones.

A la Dra. Mariana Márquez le agradezco por escucharme y por brindarme su apoyo en todo momento.

A la Dra. Sara Paola Hernández por el apoyo y la paciencia que me brindo en la fase experimental.

Al Dr. José Rodríguez Rodríguez por brindarme su apoyo y sus conocimientos.

A la Dra. Maribel Plascencia Jatomea por su tiempo y su aportación valiosa en esta investigación.

A la Dra. Beatriz Rodríguez y Dr. Marcelo Hernández les agradezco infinitamente por todo su apoyo y por sus consejos, gracias por su amistad.

A mis amigas Viviana y Cecilia desde la licenciatura han estado conmigo, gracias por siempre estar aquí, ustedes saben lo mucho que las aprecio, les agradezco por siempre escucharme, apoyarme, por nunca dejarme sola, por todas las veces que me decían que si se podía, gracias amigas. Las quiero mucho.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS .....	III
ÍNDICE DE FIGURAS .....	IV
RESUMEN .....	V
ABSTRACT .....	VII
1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. HIPÓTESIS .....	3
3. OBJETIVOS .....	4
3.1. Objetivo General .....	4
3.1.1. Objetivos Específicos.....	4
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
4.1. Leche de Vaca .....	5
4.2. Definición y Clasificación de Quesos .....	5
4.3. Queso Panela y su Físicoquímica.....	6
4.4. Producción Internacional de Queso Panela .....	7
4.5. Producción Nacional de Queso Panela.....	8
4.6. Conservadores Naturales en el Queso Panela .....	9
4.7. Aceites Esenciales .....	9
4.8. Aceite de Esencial de Orégano.....	10
4.9. Encapsulación de Aceites Esenciales.....	11
4.10. Quitosano .....	12
4.11. Nanotecnología .....	13
4.12. Nanopartículas .....	13
4.13. Nanopartículas de Quitosano .....	14
4.14. Nanopartículas en Lácteos.....	14
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	16
5.1. Ubicación de la Investigación.....	16
5.2. Diseño Experimental .....	16
5.3. Composición del Aceite de Orégano.....	16
5.4. Emulsión del Aceite de Orégano.....	17
5.5. Preparación del Quitosano Nanoparticulado.....	17



5.6.	Preparación del Orégano Nanoparticulado .....	18
5.7.	Caracterización de las Nanopartículas.....	19
5.8.	Elaboración del Queso Panela.....	19
5.9.	Rendimiento y Sinéresis .....	21
5.10.	Fisicoquímica del Queso .....	22
5.11.	Perfil de Ácidos Grasos .....	22
5.12.	Análisis de Perfil de Textura (APT).....	23
5.13.	Capacidad Antioxidante.....	24
5.14.	Análisis Microbiológico .....	25
5.15.	Análisis Sensorial .....	25
5.16.	Análisis Estadístico.....	26
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
6.1.	Composición del Aceite de Orégano.....	27
6.2.	Caracterización de Nanopartículas .....	27
6.3.	Efecto de las Nanopartículas en Leche para Elaborar el Queso Panela.....	30
6.3.1.	Rendimiento, Sinéresis y pH.....	30
6.3.2.	Comportamiento del Color en el Queso.....	33
6.3.3.	Bromatología del Queso Panela .....	35
6.3.4.	Análisis de Textura .....	36
6.3.5.	Actividad Antioxidante.....	40
6.3.6.	Análisis Microbiológico.....	43
6.3.7.	Perfil de Ácidos Grasos .....	45
6.3.8.	Atributos Sensoriales .....	47
7.	CONCLUSIONES .....	50
8.	RECOMENDACIONES .....	51
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
<b>Cuadro 1.</b> Propiedades fisicoquímicas para leche de vaca. ....	5
<b>Cuadro 2.</b> Composición fisicoquímica del queso panela. ....	7
<b>Cuadro 3.</b> Producción internacional de queso panela en 2020 y 2021.....	8
<b>Cuadro 4.</b> Investigaciones relevantes de adición de aceites esenciales en quesos. ....	10
<b>Cuadro 5.</b> Composición del aceite esencial de <i>Origanum vulgare</i> y <i>Lippia berlandieri</i> Schauer.....	11
<b>Cuadro 6.</b> Compuestos volátiles (%) del aceite esencial de orégano ( <i>Lippia berlandieri</i> Schauer).....	27
<b>Cuadro 7.</b> Tamaño de las nanopartículas de quitosano y orégano. ....	29
<b>Cuadro 8.</b> Rendimiento y sinéresis en queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano en nanopartículas durante 7 días.....	31
<b>Cuadro 9.</b> Evaluación del color de los quesos panela obtenidos de leche tratada con orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días de almacenamiento.....	34
<b>Cuadro 10.</b> Análisis proximal del queso panela obtenido de leche con orégano nanoparticulado y nanopartículas de quitosano en 7 días. ....	36
<b>Cuadro 11.</b> Análisis de perfil de textura de quesos obtenidos de leche con orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días de almacenamiento a 4°C.....	39
<b>Cuadro 12.</b> Actividad antioxidante (ABTS•+) de queso panela procesado con leche adicionada con orégano y quitosano nanoparticulado durante 7 días a 4 °C.....	41
<b>Cuadro 13.</b> Actividad antioxidante (DPPH•) de queso panela elaborado con la adición de orégano en leche durante 7 días de almacenamiento.....	42
<b>Cuadro 14.</b> Análisis microbiológico en queso panela con orégano en 7 días de almacenamiento a 4°C. ....	44
<b>Cuadro 15.</b> Perfil de ácidos grasos de queso panela elaborado de leche con aceite de orégano en 7 días de almacenamiento. ....	46
<b>Cuadro 16.</b> Atributos sensoriales en queso panela elaborado con leche tratada con aceite de orégano nanoparticulado en 7 días de almacenamiento. ....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
<b>Figura 1.</b> Tipos de queso fresco de cuajada ácida y queso de suero.....	6
<b>Figura 2.</b> Estructura del quitosano.....	12
<b>Figura 3.</b> Procedimiento para la obtención del quitosano nanoparticulado. ....	18
<b>Figura 4.</b> Procedimiento para la obtención del orégano nanoparticulado.....	19
<b>Figura 5.</b> Diagrama de bloques para la elaboración del queso panela.....	21
<b>Figura 6.</b> Almacenamiento del queso panela durante la experimentación. ....	22
<b>Figura 7.</b> Espectro FTIR de nanopartículas de quitosano y orégano en nanoparticulado.....	28
<b>Figura 8.</b> Distribución del tamaño de quitosano nanoparticulado. ....	30
<b>Figura 9.</b> Distribución del tamaño de orégano nanoparticulado.....	30
<b>Figura 10.</b> pH en queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano nanoparticulados durante 7 días. ....	33
<b>Figura 11.</b> Dureza del queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano nanoparticulados durante 7 días. ....	38

## RESUMEN

La conservación de quesos frescos es un problema científico y tecnológico por ser un producto perecedero, y en consecuencia se complica prolongar su vida útil. Por lo que los aceites esenciales de plantas aromáticas podrían ser una opción natural en su conservación. El objetivo de este estudio consistió en evaluar el orégano puro y nanoparticulado adicionado en la leche de vaca para elaborar queso panela (QP) y evaluar su vida de anaquel al día 1 y 7, analizando sus características fisicoquímicas, texturales, microbiológicas, antioxidantes, ácidos grasos y sensoriales. Cuatro tratamientos fueron establecidos mediante un diseño completamente al azar para evaluar la adición del aceite esencial de orégano (AO) puro, emulsionado (AOE) y nanopartícula (AON). El quitosano (QT) fue usado para encapsular el AO en nanopartícula, siendo establecido como tratamiento QT nanoparticulado (QTN). Los grupos experimentales fueron: QP<sub>CON</sub>, queso panela control obtenido de leche sin partículas de aceite de orégano ni quitosano; QP<sub>AOE</sub>, queso panela obtenido de leche con 0.05 g/L de aceite de orégano emulsionado; QP<sub>AON</sub>, queso panela obtenido de leche con 0.05 g/L de orégano nanoparticulado; y QP<sub>QTN</sub>, queso panela obtenido de leche con 0.05 g/L de quitosano nanoparticulado. En la caracterización de las nanopartículas, QTN mostró un valor más alto que las AON ( $P < 0.05$ ). La composición fisicoquímica, pH y rendimiento fueron incrementadas ( $P < 0.05$ ) al día 1 por QP<sub>AON</sub> y disminuidas ( $P < 0.05$ ) al día 7 en QP<sub>CON</sub>; la sinéresis en 7 días fue menor ( $P < 0.05$ ) en QP<sub>CON</sub> y QP<sub>AOE</sub>. Las variables de color no presentaron diferencias, pero la luminosidad incrementó ( $P < 0.05$ ) al día 1 en QP<sub>QTN</sub> y QP<sub>CON</sub>. La amarillez ( $b^*$ ) incrementó ( $P < 0.05$ ) en QP<sub>CON</sub>. En el análisis de textura, la dureza, gomosidad y masticabilidad aumentaron ( $P < 0.05$ ) en QP<sub>CON</sub>. En el análisis bromatológico del QP hubo diferencias ( $P < 0.05$ ) en humedad y proteína. Así mismo, en 7 días incrementaron ( $P < 0.05$ ) las bacterias ácido lácticas y levaduras de QP<sub>AOE</sub> y enterobacteria en QP<sub>QTN</sub>. En la actividad antioxidante, DPPH• en queso al día 1 fue mayor ( $P < 0.05$ ) en QP<sub>QTN</sub> y al día 7 incrementó ( $P < 0.05$ ) en QP<sub>AON</sub>, y en materia seca a los 7 días se observó mayor actividad antioxidante en QP<sub>AOE</sub>. En ABTS•+ de queso presentó mayor actividad antioxidante en 7 días para QP<sub>AON</sub>, mientras que en materia seca fue QP<sub>AOE</sub>. Para la parte de perfil de ácidos grasos no presentó diferencias ( $P > 0.05$ ) entre los tratamientos, pero si tendencias

( $P > 0.10$ ) en C14:0 y C18:1. En lo sensorial al día 1 y 7, QP<sub>QTN</sub>, QP<sub>CON</sub> y QP<sub>AON</sub> fueron más preferidos ( $P < 0.05$ ) en olor y sabor. En conclusión, 0.05 g/L de aceite de orégano emulsionado, orégano y quitosano nanoparticulado que no afectan la fisicoquímica, pero mejora el rendimiento, pH, sinéresis, color de los quesos e inhibe el crecimiento bacteriano; así mismo, aumenta la actividad antioxidante, por lo que es apto para ser un conservador natural para el queso panela.

## ABSTRACT

Fresh cheese conservation is a scientific and technological problem because it is a perishable food, in consequence its shelf-life is complicated. Hence, essential oils of aromatic plants (EOPA) may be a natural option on conservation. The objective of this study was to evaluate pure and nanoparticulated oregano into cow milk to manufacture panela cheese (PC) and to evaluate its shelf-life at day 1 and 7, studying psychochemical, texture, microbiology, antioxidants, fat acids and sensory traits. Four treatments were established behind random completely design to evaluate the oregano essential oil as pure (OO), emulsified (OOE) and nanoparticle (OON). The chitosan (CH) was used to encapsulate the OO in nanoparticle, being established as nanoparticulated CH treatment (NCH). These experimental groups were PC<sub>CON</sub>: panela cheese obtained of milk without oregano oil particles and chitosan, PC<sub>OOE</sub>: panela cheese obtained of milk with 0.05 g/L of emulsified oregano oil, PC<sub>OON</sub>: panela cheese obtained of milk with 0.05 g/L of nanoparticulated oregano and, PC<sub>CHN</sub>: panela cheese obtained of milk with 0.05 g/L of nanoparticulated chitosan. In nanoparticles characterization, CHN had higher ( $P < 0.05$ ) value than OON. On the other hand, psychochemical composition, pH and yield were increased ( $P < 0.05$ ) at day 1 by PC<sub>OON</sub> and decreased ( $P < 0.05$ ) at day 7 by PC<sub>CON</sub>; the syneresis at 7 days was the lowest ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CON</sub> and PC<sub>OOE</sub>. Color variables did not obtain differences ( $P > 0.05$ ), but lightness increased ( $P < 0.05$ ) at day 1 on PC<sub>CHN</sub> and PC<sub>CON</sub>. Yellowness ( $b^*$ ) increased ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CON</sub>. Hardness, gumminess and chewiness were the highest ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CON</sub>. The bromatological composition of PC gave differences ( $P < 0.05$ ) on moisture and protein. As well as at 7 days, lactic acid bacteria and yeast increased ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>OOE</sub>, while enterobacteria was the highest ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CHN</sub>. The DPPH• test in cheese at day 1 was the highest ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CHN</sub>, and at day 7 increased ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>OON</sub>, and dry matter at 7 days was observed more antioxidant activity on PC<sub>OOE</sub>. The ABTS•+ test of cheese presented ( $P < 0.05$ ) more antioxidant capacity at 7 days on PC<sub>OON</sub>, while dry matter was the highest on PC<sub>OOE</sub>. Fat acid profile did not have differences ( $P > 0.05$ ) between treatments, but it had tendency ( $P < 0.10$ ) on C14:0 and C18:1. Odor and taste of cheese at day 1 and 7 were the best preferred ( $P < 0.05$ ) on PC<sub>CHN</sub>, PC<sub>CON</sub> and PC<sub>OON</sub>. In conclusion, 0.05 g/L of emulsified

oregano oil, as well as oregano and chitosan nanoparticulated did not affect the psychochemical traits, but improve yield, pH, syneresis and color of cheeses, and can be a natural conservate to made panela cheese.

## 1. INTRODUCCIÓN

El queso panela es un producto de consumo popular en México. La industria quesera utiliza un 25% del total de leche producida en el país (SIAP, 2020). En México, la producción de queso fresco representa el 80% de los productos de queso (Jiménez-Guzmán *et al.*, 2009). El queso panela es un queso suave producido por coagulación enzimática y/o ácida, sin maduración, con poco o sin cultivo iniciador. Presenta un rendimiento promedio de 13 a 14 kg de queso por 100 L de leche pasteurizada, y se elabora con leche entera de vaca (Guerra *et al.*, 2012). La composición química del queso panela varía según las materias primas y condiciones de procesamiento. La composición química es de 50 a 60% de humedad, 13 a 25% de grasa, 16 a 20% de proteína y 1.3 a 1.8% de sal, y pH de 5.6 a 6.4 (Caro *et al.*, 2014; Escobar *et al.*, 2012; Van Hekken y Farkye, 2003).

Para prolongar la vida útil de los quesos frescos se han utilizado aditivos químicos como conservadores, por ejemplo, carbonatos, citratos, gomas, sorbatos y propionatos, reduciendo la actividad del agua y regulando la acidez. El consumidor busca quesos sin conservadores Ritota & Manzi (2020) que puedan afectar su salud, por lo que aditivos naturales como los aceites esenciales (AE) de plantas aromáticas podrían ser una opción en la conservación (Sánchez-Zamora *et al.*, 2022). Los estudios de los AE de plantas aromáticas (AEPA) en alimentos es limitada, ya que tienen pH es ácido y aroma fuerte que imparte un sabor fuerte en los alimentos formulados con los AEPA. Por lo que tal motivo es de interés investigar otras vías o métodos para minimizar estos efectos que podrían ser adversos en la percepción sensorial, porque biológicamente tienen propiedades bióticas importantes como la capacidad antioxidante. Un ejemplo es la planta del orégano que pertenece a más de 60 especies en el mundo de la familia Verbanaceae, Lamiaceae y Asteraceae; estas especies se caracterizan por poseer un aroma y sabor característico, esto se debe a los componentes volátiles como terpenoides fenólicos timol y carvacrol (García-Lara, 2012). De esta planta se ha extraído y caracterizado el AE de orégano (AEO), el cual se caracteriza por tener un olor fuerte, sabor intenso y pH ácido, tiene una alta capacidad antioxidante y propiedades antimicrobianas; sin embargo, tiene la desventaja de impartir olores y sabores intensos en los alimentos.



Los estudios recientes sobre los métodos o técnicas para incorporar o usar el AEO es con emulsiones o nanopartículas, pero estos métodos han sido escasamente estudiados en los alimentos y nulos en el queso panela (QP). En general, la nanotecnología en la formulación de alimentos aumenta la vida útil y también ayuda a reducir el deterioro de alimentos por contaminación microbiana. El nanoencapsulado protege los AEPA de la degradación de la luz, oxígeno mejorando su estabilidad. (Pradhan *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2017).

A la fecha, los estudios en quesos o productos lácteos con el uso de AEO como agente conservante son escasos. El AEO y romero demuestran tener un efecto positivo contra la oxidación lipídica y fermentación de quesos preparados con una base de crema (Olmedo *et al.*, 2013).

## **2. HIPÓTESIS**

El aceite de orégano puro y nanoparticulado adicionados en leche para elaborar el queso panela mejorará en sus características fisicoquímicas, texturales, bromatológicas, antioxidantes, microbiológicas, ácidos grasos y sensoriales durante 7 días a 4 °C.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto de la adición del aceite de orégano puro y nanoparticulado en leche para elaborar el queso panela sobre sus características fisicoquímicas, bromatológicas, ácidos grasos, microbiológicas, antioxidantes, texturales y sensoriales al día 1 y 7 almacenados a 4 °C.

#### **3.1.1. Objetivos Específicos**

1. Determinar el rendimiento, sinéresis, pH y color del queso panela que permitan entender su comportamiento y apariencia física en 7 días de almacenamiento.
2. Analizar la composición bromatológica, microbiológica y capacidad antioxidante del queso panela para identificar cambios de sus componentes nutricionales, microorganismos y potencial para mejorar la oxidación.
3. Analizar el perfil de ácidos grasos del queso panela con el fin de conocer la composición de grasas presentes y su relevancia en términos de salud y sabor.
4. Evaluar la textura y atributos sensoriales del queso panela mediante pruebas sensoriales y análisis del perfil de textura que permitan determinar su aceptabilidad y cambios en su textura.

## 4. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1. Leche de Vaca

La leche cruda de vaca es la secreción natural de las glándulas mamarias, sin calostro y sin sustracción alguna de sus componentes, que no ha sido sometida a tratamiento térmico (NMX-F-700-COFOCALEC, 2004). La leche es una mezcla de componentes como lactosa, carbohidratos, lípidos, proteínas, sales, minerales y vitaminas, los cuales integran o forman parte de una emulsión, suspensión y solución coloidal (Santos Moreno, 2012; Fox y McSweeney, 2015)(Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Propiedades fisicoquímicas para leche de vaca.

Parámetro	Especificación	Parámetro	Especificación
Sólidos totales (g/L)	12.70	Lactosa (g/L)	4.80
Grasa (%)	3.70	Ceniza (%)	0.70
Proteína (%)	3.40	Energía Bruta (kJ/kg)	2.70

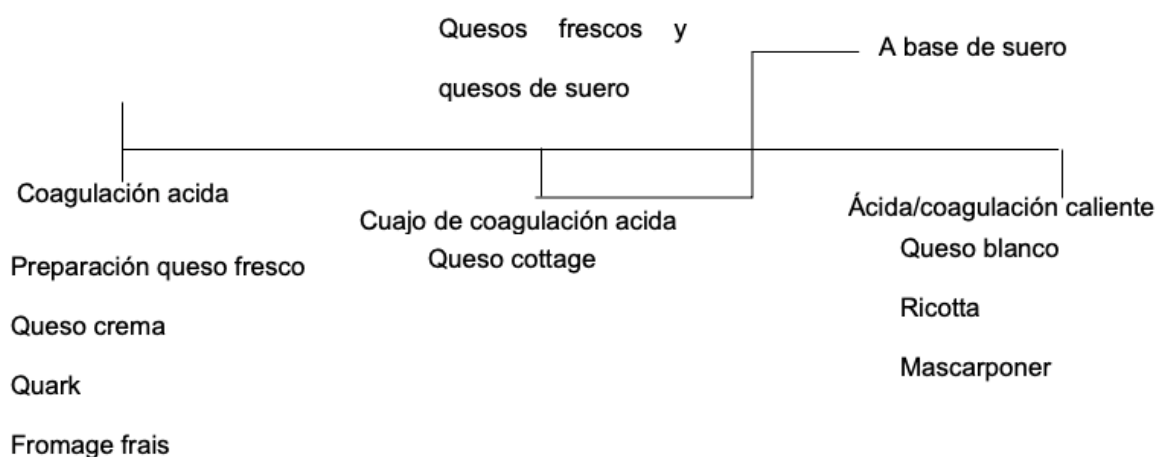
Fuente: Fox y McSweeney, 2015.

Los componentes de la leche son esenciales para procesar y obtener diversos productos lácteos como los quesos, cremas, proteínas, caseinatos y fermentos. Dichos componentes son esenciales para las propiedades biológicas, nutricionales y estructurales de los lácteos, los cuales aportan un número ilimitado de ventajas en la salud y alimentación en un panorama de beneficios saludables o no saludables. En particular, los quesos obtenidos de la leche, sin adulteración, tienen un gran número de características, que hacen que su definición y clasificación varíe.

### 4.2. Definición y Clasificación de Quesos

El queso se define como producto blando, semiduro, duro y extraduro, madurado o no madurado, y que puede estar recubierto. En técnicas de elaboración que conducen a

la coagulación de la proteína de la leche, la proporción entre las proteínas de suero y caseína no deben ser superior a las de la leche (NOM-223-SCFI/SAGARPA, 2018). Los quesos frescos se refieren a aquellos quesos obtenidos por la coagulación de leche, crema o suero mediante acidificación junto con una pequeña cantidad de cuajo o una combinación de ácido y calor y que están listos para el consumo. La clasificación de los quesos se diferencia por su coagulación que puede ser ácida o enzimática (cuajo); en la ácida, la coagulación se induce por ácidos orgánicos, mientras que la enzimática por la renina o quimosina, conocidas como cuajo. En la Figura 1 se muestra la clasificación de los quesos (Fox *et al.*, 2017).



**Figura 1.** Tipos de queso fresco de cuajada ácida y queso de suero.

Fuente: Fox *et al.*, 2017.

### 4.3. Queso Panela y su Fisicoquímica

El queso panela (QP) es suave y de color blanco, tiene toques de sabor dulce como a leche fresca y toma la forma del molde. La obtención del QP se realiza con leche de vaca pasteurizada, aunque también se puede realizar con leche de oveja o de cabra, o una mezcla de estas leches (entera o parcialmente descremada) (Jiménez-Guzmán *et al.*, 2009). Sin embargo, este queso también se produce en pequeñas proporciones de leche cruda por quesería artesanal (Cervantes-Escoto *et al.*, 2008).

El QP se clasifica como un queso fresco de pasta blanda y auto prensado, se presenta generalmente como un queso blanco de consistencia suave y forma troncocónica invertida, en piezas que van desde 0.5 hasta 2.0 kg, siendo característico el moldeo de la cuajada en las canastillas (Santos y Villegas de Gante, 2005).

El queso tiene las mismas propiedades nutricionales que la leche con excepción de la lactosa, y los otros componentes se encuentran más concentrados (Cuadro 2). Además, el QP aporta proteínas de alto valor biológico y es fuente de calcio y fósforo (García-Islas, 2006).

**Cuadro 2.** Composición fisicoquímica del queso panela.

Composición	Concentración
Humedad (%)	53.20-58.30
Grasa (%)	12.10-18.90
Proteína (%)	18.40-20.50
Ceniza (%)	2.50-2.70
Lactosa (%)	3.40-4.20
Calcio (%)	23.90
Fósforo (%)	18.40
Sal (g)	1.40-1.80
pH	5.60-6.40
Valor nutrimental (kcal/100 g)	255.00 ±37.00

Fuente: García-Islas, 2006.

#### 4.4. Producción Internacional de Queso Panela

La producción de queso de leche de vaca en los años 2020 y 2021 se muestra en el Cuadro 3. La producción del 2021 fue de 2221.54 millones de toneladas, siendo EUA el primer lugar, seguido de Alemania. México se posicionó en el vigésimo tercer lugar.

**Cuadro 3.** Producción internacional de queso panela en 2020 y 2021.

Lugar	2020		Lugar	2021	
	País	Producción (mill ton)		País	Producción (mill ton)
1	EUA	6.01	1	EUA	6.24
2	Alemania	2.35	2	Alemania	2.31
3	Francia	1.68	3	Francia	1.69
4	Italia	1.21	4	Italia	1.24
5	Países Bajos	0.97	5	Países Bajos	0.95
6	Polonia	0.89	6	Polonia	0.92
7	Turquía	0.74	7	Turquía	0.74
8	Rusia	0.57	8	Rusia	0.65
9	Canadá	0.57	9	Canadá	0.57
23	México	0.16	23	México	0.16
	Otros	6.67		Otros	6.76
	Total	21.83		Total	22.22

Fuente: FAOSTAT, 2024.

#### 4.5. Producción Nacional de Queso Panela

México destina un total de 1 097 millones de hectáreas a la actividad pecuaria (sistemas de producción bovina, ovina y caprina), área que representa el 56% del territorio nacional (Villegas y Torres, 2011). El queso se fabrica en toda la república y su mayor producción es en las zonas del centro y norte del país (Villegas *et al.*, 2015). La producción de queso panela hasta noviembre del 2023 fue 48 315.00 ton con un valor de la producción de 3 596.06 millones de pesos y en el año 2022 se reportó una producción de 47 345.00 ton y un valor de 3 337.38 millones de pesos (INEGI, 2024).

#### **4.6. Conservadores Naturales en el Queso Panela**

La conservación del queso ha dependido de aditivos químicos; sin embargo, estos productos pueden tener efectos negativos en la salud, y esto ha generado que se busquen alternativas como los conservantes (aceites esenciales de plantas aromáticas; AEPA). Los AE actúan como inhibidores del crecimiento microbiano en el queso (Mishra et al., 2020).

Las investigaciones de AEPA aplicadas en la industria láctea aún están en desarrollo, pero los resultados han demostrado poseer propiedades antimicrobianas y antioxidantes que ayudan a prolongar la vida útil del queso, además influye en las bacterias ácido lácticas, así como en los atributos sensoriales del queso. En el Cuadro 4 se muestran diversas investigaciones realizadas con la adición de AEPA en quesos. Resaltando que estos aditivos naturales fueron adicionados directamente en el queso y no desde la leche para elaborar el queso, solo en el estudio de Sánchez-Zamora *et al.* (2022) el AEO fue emulsionado para adicionarlo en la leche de vaca para elaborar el QP.

#### **4.7. Aceites Esenciales**

Un aceite esencial (AE) es una mezcla de sustancias volátiles, encontrado en varias partes de las plantas como raíces, troncos, cortezas, tallos, hojas flores y frutos. Los AE presentan una compleja composición química y carácter aromático (Calsamiglia *et al.*, 2007; Sánchez, 2006). Estos compuestos se producen en las plantas como protección frente a la radiación solar y adaptación al estrés hídrico como mecanismos de defensa (Silva *et al.*, 2016). Químicamente están formados por monoterpenos y sesquiterpenos, en menor cantidad se encuentran hidrocarburos alifáticos, ácidos, alcoholes, aldehídos y ésteres (dos Santos et al., 2019). El AE en la industria de alimentos mejora el sabor, aroma, color y la conservación (Botsoglou *et al.*, 2003).



**Cuadro 4.** Investigaciones relevantes de adición de aceites esenciales en quesos.

Queso	Aceite esencial	Actividad reportada	Referencia
Feta	Orégano y timol	Inhibición de <i>L. Monocytogenes</i>	Govaris <i>et al.</i> (2011)
Cottage	Timol	Reducción de <i>S. aureus</i>	Asensio <i>et al.</i> (2014)
Ricotta	Orégano	Reducción de <i>Salmonella</i> sp y <i>S. aureus</i>	Asensio <i>et al.</i> (2014)
Blando	Comino, romero y tomillo	Inhibición de <i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. cereus</i> y <i>Aspergillus niger</i>	Mailam, Aamer y El-Kholy (2017)
Blando	Laurel, clavo, canela y tomillo	Inhibidores de <i>L. monocytogenes</i> y <i>S. enteritidis</i>	Smith-Palmer <i>et al.</i> (2001)
Panela	Orégano	Mejora la calidad fisicoquímica, textural y sensorial	Sánchez-Zamora <i>et al.</i> (2022)

#### 4.8. Aceite de Esencial de Orégano

En México, el orégano forma parte de cuatro familias: Lamiaceae, Verbanaceae, Asteraceae y Fabaceae; en particular de la familia Lamiaceae, la variedad conocida es *Lippia berlandieri* Schauer o *Lipia graveolens* HBK. De esta se ha obtenido y caracterizado su aceite esencial siendo evaluado como antioxidante y conservador en alimentos (Perales-Jasso *et al.*, 2018; Charles-Avilés *et al.*, 2019), lo que incrementa su importancia en la industria alimentaria, por ser una alternativa a los aditivos sintéticos. El orégano mexicano tiene mayor contenido de aceite esencial que el orégano europeo, donde el contenido de carvacrol es mayor (Cuadro 5), debido a esto

se atribuye que su aroma sea mas fuerte y tenga una mejor actividad biológica (Arcila-Lozano *et al.*, 2004).

**Cuadro 5.** Composición del aceite esencial de *Origanum vulgare* y *Lippia berlandieri* Schauer.

<i>Origanum vulgare</i>	% (p/p)	<i>Lippia berlandieri</i> Schauer	% (p/p)
Timol	67.51	Carvacrol	67.51
p-cimeno	11.66	Timol	5.40
y-terpineno	5.51	Terpineno	3.40
Cariofileno	5.38	Mentol	0.50
óxido de cariofileno	2.22	Linalool	0.40
trans- $\alpha$ -bergamoteno	1.65	Limoneno	0.40
Eugenol	1.49	Cineol	0.30
$\alpha$ -bergamoteno	1.32	Mirceno	0.09
Otros	3.26	Otros	22.00

Fuente: Acevedo *et al.*, 2013; Perales-Jasso *et al.*, 2018.

#### 4.9. Encapsulación de Aceites Esenciales

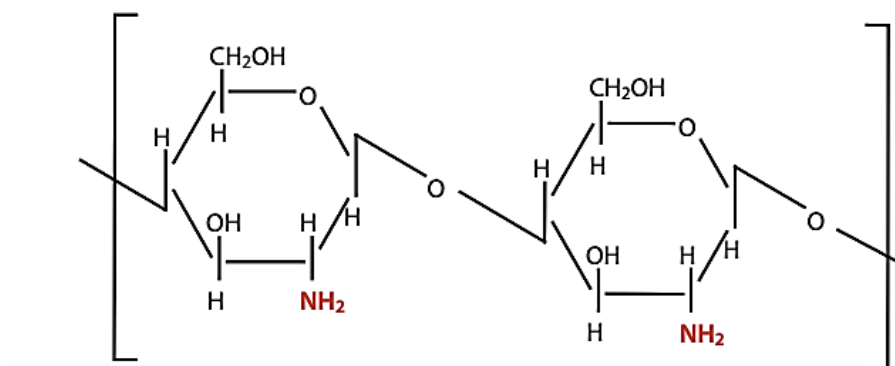
La encapsulación es una tecnología para proteger las propiedades químicas y físicas de los AE para evitar cambios no deseados y mejorar el procesamiento de los alimentos (Barrera-Ruiz *et al.*, 2020). Los materiales encapsulantes que se utilizan para los AE pueden estar formados por uno o más compuestos como liposomas, nanopartículas de quitosano, dióxido de silicio, nanoemulsiones, nanofibras y películas comestibles (Yulin Zhu, 2021).

El modo de acción de un compuesto encapsulado se puede dividir en tres principales etapas: 1) forma una pared alrededor del núcleo; 2) los componentes se mantienen estables dentro del encapsulado evitando liberación o degradación del AE; y 3)

aplicación en la matriz alimentaria y liberación prolongada de componentes (Marques et al., 2021). La aplicación de aceites esenciales encapsulados en alimentos presentan mejor aceptabilidad que con alimentos con aplicación directa de aceite (Reis et al., 2022). Un compuesto que cumple con las características para ser encapsulante de los AEPA es el quitosano.

#### 4.10. Quitosano

El quitosano (QT) es un polisacárido abundante en la naturaleza, obtenido a partir de la desacetilación parcial de la quitina (Divya & Jisha, 2018). El QT tiene una estructura lineal formada por residuos de D-glucosamina en mayor proporción y N-acetil D-glucosamina en menor proporción, distribuidos aleatoriamente y unidos por enlaces  $\beta$  1,4 (Figura 1; Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2021). El QT tiene tres grupos funcionales: grupo amino, hidroxilo primario y secundario, los cuales influyen en su solubilidad y propiedades mecánicas, siendo la protonación del  $-NH_2$  que permite la solubilidad del QT (Román-Doval et al., 2023).



**Figura 2.** Estructura del quitosano.

Fuente: Ahmed, 2017.

Debido a la solubilidad del QT, éste tiene actividad antimicrobiana contra hongos filamentosos, levaduras y bacterias Gram<sup>+</sup> y Gram<sup>-</sup>. Los NH<sub>2</sub> con carga positiva en un pH inferior a 6.3 interactúan con las cargas negativas de la pared celular de los microorganismos generando un rompimiento o lisis de las estructuras, que lleva a la

pérdida de compuestos proteicos y constituyentes intracelulares (Hernández-Tellez *et al.*, 2016; Valencia 2015). El QT es un polímero biodegradable, biocompatible y no tóxico, por lo que se considera un compuesto capaz de interactuar en un medio y en otras moléculas.

#### **4.11. Nanotecnología**

Rajamalar *et al.* (2011) definieron la nanotecnología como el estudio de la manipulación y control de la materia en escala atómica, molecular y dimensiones nanométricas (Shantilal *et al.*, 2013). Por otra parte, la nanopartícula se define como el control o la reestructuración de materia a nivel atómico y molecular en un tamaño de alrededor de 1 a 100 nm (Shantilal *et al.*, 2013).

Bratovčić (2015) mencionó que la nanotecnología usada en la encapsulación, emulsiones, matrices de biopolímeros, soluciones simples y coloides de asociación ofrece sistemas de entrega eficientes. Los nanopolímeros están tratando de reemplazar los materiales convencionales en los envases de alimentos. Singh *et al.* (2017) indicaron que la nanotecnología en el procesamiento de alimentos mejora la textura, apariencia, sabor, valor nutricional y la vida útil.

#### **4.12. Nanopartículas**

La definición de nanopartículas es variada, y de acuerdo con Borm *et al.* (2006), los nanomateriales tienen al menos una dimensión menor de 100 nm. Estos incluyen nanopelículas y recubrimientos (5100 nm en una dimensión) y nanopartículas (5-100 nm en tres dimensiones). Los nanomateriales se utilizan en suplementos alimenticios, y envases de alimentos con nanoarcillas como barreras de difusión y nanoplata como antimicrobiano (Sanguansri y Augustin, 2006). Barky *et al.* (2015) elucidaron que los AE son químicamente inestables y susceptibles al deterioro oxidativo y pérdida de compuestos volátiles en determinadas condiciones (oxígeno, luz, humedad calor), lo que provoca degradación oxidativa, formación de sabores desagradables y generación de radicales libres, afectando las propiedades sensoriales de los alimentos y en consecuencia su aceptación por el consumidor.

#### 4.13. Nanopartículas de Quitosano

Las nanopartículas de quitosano (NQT) tienen efectos de superficie, interfaz y un tamaño pequeño (Divya y Jisha, 2018). Varios métodos se han desarrollado para la obtención de NQT como gelificación ionotrópica, coacervación compleja, microemulsión, coalescencia de gotas de emulsión y extracción con disolvente en emulsión (Grenha, 2012; Peniche y Peniche, 2011). Uno de los métodos más utilizados en la industria alimentaria es la gelificación ionotrópica. Esta consiste en la reticulación iónica del QT y tripolifosfato de sodio (TPP). El procedimiento se lleva a cabo en un medio acuoso sin utilizar disolventes orgánicos. Las nanopartículas se obtienen disolviendo el QT en una solución ácida y adicionándolo a una solución de TPP con agitación constante. El tamaño de las nanopartículas depende de la concentración del quitosano y TPP (Peniche y Peniche, 2011).

#### 4.14. Nanopartículas en Lácteos

En el estudio de Jafarzadeh *et al.* (2021) evaluaron la actividad antimicrobiana del AEO (*Origanum vulgare* L.) contra bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. El AEO se utilizó en quesos a una concentración de 0.02% natamicina y nisina, en pruebas para medir el efecto contra bacterias y hongos. La concentración de 0.02% demostró actividad antibacteriana y antifúngica en el día 6. El pH y humedad no se vieron afectados por la adición del AEO. Dichos autores concluyeron que una concentración de 0.02% en quesos Minas fue eficiente en el control de patógenos, y su uso presenta una alternativa potencial para el control microbiano.

Barrera-Ruiz *et al.* (2020) evaluaron la actividad antimicrobiana de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y aceite esencial de pirul (*Schinus molle*) encapsulado en quitosano, observando efectos bactericidas contra las bacterias Gram<sup>+</sup>, siendo *Enterococcus* spp. la bacteria más sensible y *Staphylococcus aureus* la más resistente. Dichos autores demostraron que las nanopartículas de quitosano con aceites esenciales fueron eficaces contra los patógenos en los alimentos.

Shawkat *et al.* (2019) indicaron que las NQT en 0.3% previenen el crecimiento de *Bacillus cereus*, responsables del deterioro de la leche después de la pasteurización.

En su estudio encontraron que no tiene efectos sobre las propiedades fisicoquímicas de la leche pasteurizada durante su almacenamiento (5 °C). Los autores concluyeron que la adición de las NQT puede reducir pérdidas económicas y reducir riesgos para la salud que se producen por el deterioro de la leche.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Ubicación de la Investigación**

La obtención del quitosano nanoparticulado (QTN) se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana de la Facultad de Agronomía (FA) de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), y la caracterización de las nanopartículas se realizó en el Laboratorio de Química Análítica de la Facultad de Ciencias Biológicas. La ejecución experimental se realizó en el Centro de Investigación y Desarrollo en la Industria Alimentaria de la FA, UANL. Los análisis fisicoquímicos y textura se realizaron en el Laboratorio de Ingeniería, mientras que en el Laboratorio de Sensorial se realizó la evaluación sensorial; los análisis microbiológicos en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana y los antioxidantes en el Laboratorio de Biotecnología; todos laboratorios de la FA, UANL. El análisis bromatológico se hizo en el Laboratorio de Nutrición Animal y Alimentos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UANL. El análisis de perfil de ácidos grasos se realizó en el Laboratorio de Nanotecnología del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM).

### **5.2. Diseño Experimental**

Un diseño experimental completamente al azar de cuatro tratamientos se estableció, y los tratamientos fueron QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano y QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. Para cada queso se usaron 3.78 L de leche comercial pasteurizada (Comercializadora de Lácteos y Derivados, S.A. de C.V.) y por cada tratamiento se realizaron dos réplicas de queso (n = 6 por tratamiento) realizadas en tiempos diferentes, considerando la evaluación en dos periodos (1 y 7 días). Las variables se midieron tres veces por cada réplica a los días 1 y 7.

### **5.3. Composición del Aceite de Orégano**

El aceite de orégano fue obtenido mediante destilación a vapor y su composición se determinó por cromatografía de gases (PerkinElmer Clarus 600 y SQ( GC/MS;

PerkinElmer Inc., Waltham, MA, EE. UU.) equipado con un detector de ionización de llama y una columna capilar Perkin Elmer PE-1 (30 m x 0,25 mm, espesor de película de 0,25  $\mu\text{m}$ ) (Cantú-Valdéz et al., 2020).

#### **5.4. Emulsión del Aceite de Orégano**

Para el tratamiento  $\text{QP}_{\text{AOE}}$ , el AEO se emulsionó con Tween 80 (Polisorbato 80 o Monolaurato de sorbitán polioxietilado (80)) en una relación 1:1 y así adicionarlo a la leche. Esta proporción se determinó mediante pruebas preliminares de estabilidad. La emulsión se preparó a 4,000 rpm durante 5 min y se almacenó a temperatura ambiente durante 3 días, considerando inestabilidad de la emulsión cuando se observó separación de las fases. El límite máximo de Tween 80 en quesos no madurados es de 80 mg/kg (CODEX, 2021). El Tween 80 se adquirió de la empresa Hycel de México S.A. de C.V., Zapopan, Jalisco, México.

#### **5.5. Preparación del Quitosano Nanoparticulado**

Respecto al grupo experimental  $\text{QP}_{\text{QTN}}$ , el quitosano nanoparticulado (QTN) se obtuvo siguiendo el procedimiento de Keawchaon y Yoksan (2011) con ligeras modificaciones en las concentraciones de quitosano (Figura 3); 500 mL de una solución acuosa de ácido acético a 0.1 M se preparó y 1 g de quitosano (Sigma-Aldrich, Irlanda) se disolvió en esa solución; enseguida, el pH de la solución se ajustó a 4.3 con hidróxido de sodio NaOH (2 M). Por otro lado, otra solución de 80 mL se preparó con 1 % de Tripolifosfato de sodio (TPP). Así, esta solución con TPP se añadió por goteo lento a la solución acuosa de ácido acético con quitosano. Al terminar de incorporar la solución con TPP, la mezcla se agitó durante 10 min y se almacenó durante 24 h. Las nanopartículas formadas se obtuvieron por centrifugación a 4,000 rpm durante 20 min a 25 °C. Una vez eliminado el sobrenadante, el pellet se liofilizó (LABCONCO; Kansas City, MO, USA) a -35 °C durante 72 h.

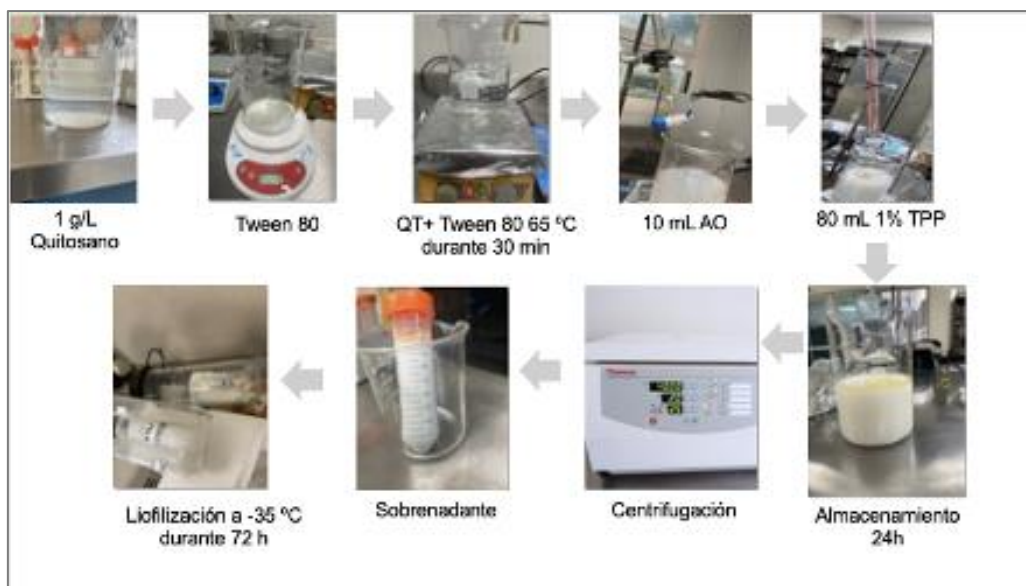




**Figura 3.** Procedimiento para la obtención del quitosano nanoparticulado.

### 5.6. Preparación del Orégano Nanoparticulado

Para el tratamiento QP<sub>AON</sub>, el aceite de orégano nanoparticulado (AON) se obtuvo de acuerdo con el método de Hosseini *et al.* (2013) y ligeras modificaciones en las concentraciones de quitosano y AEO (Figura 4). Las soluciones para el AON fueron como las de QTN, pero después de ajustar el pH de la solución a 4.3, se añadieron 4 g de Tween 80 se añadieron manteniendo la agitación durante 30 min. Transcurrido este tiempo se adicionaron 10 mL de AEO, disuelto en etanol, por goteo lento durante 30 min. Después, la solución de 80 mL con TPP (1%) se adicionó por goteo lento a una agitación de 1,000 rpm. Al terminar de incorporar la solución con TPP, la mezcla se agitó durante 10 min y se almacenó durante 24 h. Las nanopartículas formadas se obtuvieron por centrifugación en 4,000 rpm durante 20 min a 25 °C. Una vez eliminado el sobrenadante, el pellet obtenido se liofilizó (LABCONCO; Kansas City, MO, USA) a -35 °C durante 72 h.



**Figura 4.** Procedimiento para la obtención del orégano nanoparticulado.

### 5.7. Caracterización de las Nanopartículas

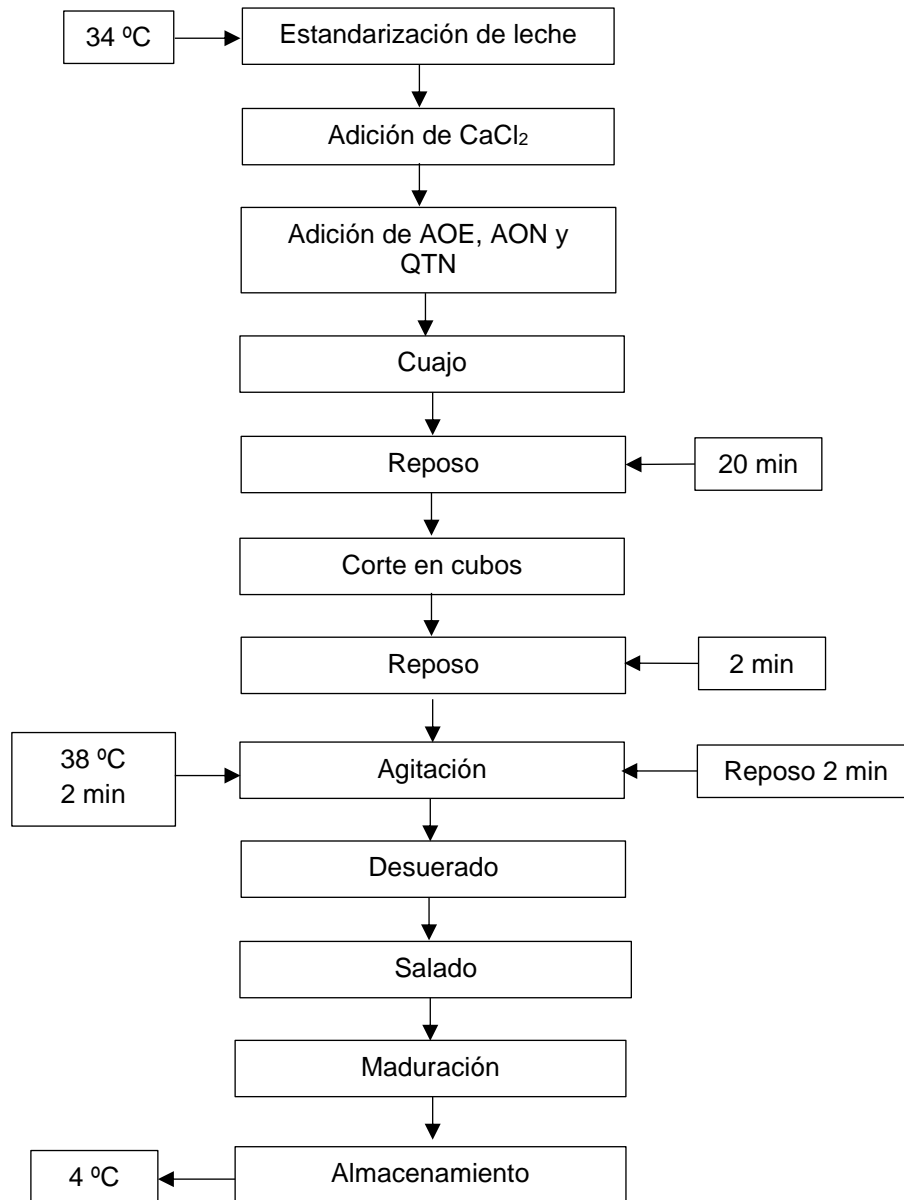
Las nanopartículas se caracterizaron mediante el método de Sotelo-Boyás *et al.* (2015) y Fraj *et al.* (2019) con ligeras modificaciones. El tamaño hidrodinámico (TH) e índice de polidispersidad (IPD) se realizaron mediante una dispersión de luz dinámica utilizando un Zetasizer ZS90-Nano (Malvern Instruments, Worcestershire, UK). El potencial zeta se midió por movilidad electroforética (Fraj *et al.*, 2019). El IPD se midió para describir la amplitud de la distribución del tamaño de partícula calculada a partir del análisis de cumulantes. Los espectros FTIR (Transformada de Fourier Infrarroja; por sus siglas en inglés Fourier transform infrared spectroscopy) se realizaron de acuerdo con Keawchaon y Yoksan (2011) con algunas modificaciones; los resultados se obtuvieron con un espectrómetro de infrarrojos por transformada de Fourier Perkin-Elmer Sepectrum Two with Universal ATR L1600107 con 64 escaneos (PerkinElmer Inc., Waltham, MA, USA).

### 5.8. Elaboración del Queso Panela

El QP se elaboró de acuerdo con el método de Villegas de Gante y Santos Moreno (2016) con las adecuaciones de Sánchez-Zamora *et al.* (2022) y Fernandes *et al.* (2016). El aceite de orégano puro emulsificado (AOE), orégano nanoparticulado (AON)

y quitosano nanoparticulado (QTN) se adicionaron a 100 mL de leche previamente ajustada a 32 °C, con una agitación de 3,500 rpm durante 3 min, y después se refrigeró durante 3 h para observar la estabilidad.

El proceso de elaboración inició ajustando la temperatura de la leche a 34 °C (Figura 5); enseguida, el cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ; 15 g/100 L leche; disuelto en 5 mL de agua purificada) se adicionó lentamente a la leche con agitación constante. La adición de los tratamientos para  $\text{QP}_{\text{AOE}}$ ,  $\text{QP}_{\text{AON}}$  y  $\text{QP}_{\text{QTN}}$  se realizó después de incorporar el  $\text{CaCl}_2$ , mezclando durante 2 min (Figura 5). Después, el cuajo (CUAMIXM.R., CHR HANSEN de México S.A. de C.V., CDMX, México; 15 mL/100 L leche; diluido en 3 mL de agua purificada) se añadió con agitación constante durante 5 min y reposó durante 20 min para el cuajado de la leche. Pasado este tiempo, la cuajada se cortó en cubos (1 cm<sup>3</sup>), se mantuvo en reposo por 2 min, se agitó lentamente elevando la temperatura a 38 °C por 2 min y después dejó reposar otros 5 min; la masa se obtuvo mediante un desuerado parcial (2/3 del suero se retiró). El salado (600 g de NaCl/100L leche) se hizo con agitación constante y lenta. Al final, el moldeado fue por auto prensado en moldes cilíndricos de plástico, volteando el queso cada 10 min, dos veces por cada lado. El queso se pesó, empacó en bolsas ziploc y refrigeró a 4 °C hasta su evaluación posterior a los 1 y 7 días.



**Figura 5.** Diagrama de bloques para la elaboración del queso panela.

### 5.9. Rendimiento y Sinéresis

Los pesos y pérdida de peso de los quesos se determinaron en los 16 quesos al inicio del día 1 (estos pesos se consideraron como valores iniciales para estimar el rendimiento y pérdida de peso durante el almacenamiento). Desde el inicio de la conservación, los quesos fueron distribuidos y seleccionados de forma aleatoria durante las mediciones y muestreo (Figura 6). Los pesos de los quesos se tomaron a los días 1 y 7; la pérdida de peso de los quesos se realizó con la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Pérdida de peso} = \left( \frac{\text{Peso queso inicial} - \text{Peso queso final}}{\text{Peso queso inicial}} \right) \times 100$$



**Figura 6.** Almacenamiento del queso panela durante la experimentación.

### 5.10. Físicoquímica del Queso

Para la evaluación del pH se utilizó un potenciómetro (HANNA; HI99163, Woonsocket RI, USA) introduciendo el electrodo directamente en la muestra de queso en cada una de las réplicas de cada tratamiento. La caracterización del color del queso panela se realizó con un colorímetro CR-400 (Kónica Minolta, Tokyo, Japón) registrando los valores de L\* (luminosidad), a\* (tendencia verde al rojo), b\* (tendencia azul a amarillo), Chroma (saturación) y ángulo Hue (tonalidad). El análisis bromatológico consistió en determinar el porcentaje de humedad, grasa, proteína cruda y cenizas se determinaron mediante los métodos establecidos por la AOAC (2016). Todos los análisis se realizaron por triplicado a los días 1 y 7.

### 5.11. Perfil de Ácidos Grasos

Un total de 2 g de queso panela se sometieron a extracción de contenido graso utilizando el método Goldfish (AOAC, 2016); el éter de petróleo se utilizó como solvente de extracción. Después de la extracción, la grasa se transesterificó con 10% de ácido sulfúrico en metanol en baño maría a 80°C por 1 h. Los ácidos grasos metil éster se analizaron con la técnica de cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas (Perkin Elmer: GC Clarus 690, MSD Clarus SQ8T, Waltham,

USA), de acuerdo con la metodología de Torres-Álvarez et al. (2017) utilizando la columna HP-88 marca Agilent (100 m, 25 mm y 0.20 µm). Las condiciones de análisis fueron las siguientes: temperatura inicial del horno se controló a 140 °C durante 5 min, considerando una velocidad de calentamiento de 20 °C/min hasta llegar a 240°C, esta temperatura se mantuvo por 15 min y se utilizó gas helio como gas portador a un flujo de 1 mL/min. Los parámetros para el análisis fueron una fuente de fragmentación por impacto electrónico y línea de transferencia a una temperatura de 210 °C. Los resultados se confirmaron con la inyección de estándares de ácido graso caproico, cáprico, laúrico, mirístico, esteárico, oleico y linoleico. Para calcular el factor de respuesta ( $R_i$ ) de los ácidos grasos, se utilizó la siguiente ecuación de acuerdo al método de la AOAC (1998).

$$R_i = P_{s_{\text{ácido graso}}} \times \left( \frac{W_{\text{ácido graso}}}{W_i} \right)$$

Donde:

$R_i$  = Área del pico del ácido graso individual en solución estándar

$P_{s_{\text{ácido graso}}}$  = Área del pico de ácido graso

$W_{\text{ácido graso}}$  = Peso del estándar interno

$W_i$  = Peso de ácido graso individual en solución estándar

### 5.12. Análisis de Perfil de Textura (APT)

El APT de los tratamientos se determinó siguiendo la metodología de Sánchez-Zamora *et al.* (2022). Las muestras de queso se estandarizaron a 1.5 cm de altura y 1.9 cm de diámetro, enseguida se colocaron en la base de la prueba para iniciar con una compresión del 50% de la altura de la muestra. El APT se llevó utilizando un texturómetro (TA.XT.Plus, Stable Micro Systems Serrey, England) a los días 1 y 7, usando un pistón cilíndrico de 75 mm de diámetro. Los parámetros que se obtuvieron fueron dureza (Newton; N), adhesividad ( $\text{g s}^{-1}$ ) gomosidad (g), masticabilidad ( $\text{g mm}^{-1}$ ) elasticidad (mm), cohesividad (adimensional) y resiliencia (adimensional).

### 5.13. Capacidad Antioxidante

Los análisis consistieron en la determinación de DPPH• (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl) y ABTS•+ (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). La homogenización de las muestras se realizó de acuerdo a la metodología de Lim (2013). Un total de 2 g de queso fresco, 0.2 g materia seca del queso y 2 mL se analizaron por periodo (1 y 7 d). Las muestras se homogenizaron a 6,500 rpm por 2 min y para evitar presencia de turbidez se realizaron pruebas preliminares de 1,000 µL de muestra centrifugada y 1 mL de agua destilada, agua-etanol (1:1) y 100% etanol; al final fueron medidos 2 mL por triplicado de cada tubo y colocados en viales hasta su análisis.

La evaluación DPPH• se realizó de acuerdo con Brand-Williams (1995). Una solución DPPH• se preparó al 0.002% en 100 mL de metanol (80%). La absorbancia se ajustó con 75 µL de la solución de DPPH y 25 µL de 100% etanol. Se tomaron 50 µL de la muestra y se añadió 1 mL del reactivo DPPH, posteriormente dejarlo reposar durante 30 min en la oscuridad. La lectura se realizó en el espectrofotómetro a 512 nm y los datos se compararon con la curva de calibración de Trolox (Sigma Aldrich, Darmstadt, Denmark) 0, 100, 200, 400, 600, 800, 1,000 y 1,200 µM de Trolox.

Se calculó el % de inhibición del radical en el suero con las diferencias de absorbancia de las muestras, mientras que el ajuste de la curva de Trolox se calculó por diferencias de absorbancias, expresadas en microequivalentes Trolox (µmg/L).

La evaluación de ABTS•+ se realizó de acuerdo con el método Re *et al.* (1999). Una solución de 7 nM de ABTS•+ con 2.45 mM de persulfato de potasio, en una proporción de 2:1, se incubó a una temperatura ambiente durante 12 h. La absorbancia fue ajustada con persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) a 0.7 con 732 nm; 10 µL de cada extracto de etanol absoluto fueron colocados en tubos de Eppendorf y se mezcló con 975 µL de la solución de ABTS•+, e incubados a una temperatura ambiente por 6 min. Las absorbancias fueron leídas a 732 nm en un espectrofotómetro (SmartSpec Plus, Bio-Rad, Hercules, CA, EUA) basándose en una curva de calibración de Trolox (6-hidroxil-2,5,7,8-tetra metil cromano-2- carboxílico), los resultados fueron expresados como miliequivalentes Trolox (µmg g/L).

#### **5.14. Análisis Microbiológico**

Los análisis se realizaron para mesófilos, hongos y levaduras, psicrófilos, enterobacterias y bacterias ácido lácticas (BAL). La preparación y dilución de las muestras se llevaron a cabo mediante la NOM-110-SSA1-(1994); 10 g de muestra fueron pesadas y posteriormente se disolvieron en 90 mL de agua peptonada; está constituyó la primera dilución de la muestra. Las diluciones se realizaron en 9 mL de agua peptonada estéril hasta la dilución ( $10^{-3}$ ), homogeneizando durante 3 min a una velocidad de 4,000 rpm en un Stomacher (Seward Lab., London, UK). El análisis de mesófilos aerobios y psicrófilos se realizó de acuerdo con la NOM-092-SSA1 (1994), usando el medio de cultivo agar método estándar (peptona de caseína: 5.0 g, dextrosa: 1.0 g, extracto de levadura: 2.5 g, agar bacteriológico: 15.0 g). Las cajas Petri se incubaron a  $37 \pm 2$  °C durante 48 h (mesófilos) y  $4 \pm 2$  °C durante 7 días (psicrófilos). El conteo de hongos y levaduras se realizó de acuerdo con la NOM-111-SSA1 (1994), utilizando el medio agar papa dextrosa (infusión de papa 200 g: 4 g, dextrosa: 20 g, agar: 15 g). Las cajas Petri se incubaron a 22 °C durante 5 días, mientras que el de las levaduras se incubaron a 37 °C durante 48 h. Para la determinación de BAL se obtuvo de acuerdo con Vázquez Velázquez *et al.* (2018). El conteo se realizó en el medio MRS (de Man, Rogosa, Sharpe). Las cajas Petri se incubaron a una temperatura de  $37 \pm 2$  °C durante 24 h. Para el conteo de las enterobacterias se realizó de acuerdo con Saxer *et al.* (2013), y se realizó con el medio agar MacConkey; las placas se incubaron a una temperatura de  $37 \pm 2$  °C durante 24 h. La temperatura para para la incubación (Incubadora Waltham, Massachusetts, USA) de los microorganismos fue monitoreada constantemente. El conteo de colonias se realizó en un contador de placas bacterianas (Bio-Technologies, Ontario Canadá). Para estimar la formación de unidades de colonia (UFC/mL), el número de colonias se multiplicó por el factor de dilución ( $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ ) y se transformaron logarítmicamente ( $\log_{10}$ ).

#### **5.15. Análisis Sensorial**

La evaluación sensorial se realizó con 30 evaluadores semi entrenados y consumidores habituales de queso panela en cada periodo de evaluación experimental (1 y 7 días). En cada periodo de análisis, cada evaluador recibió cuatro recipientes de



plástico con una muestra de 5 g de cada tratamiento, y cada recipiente estuvo codificado con tres dígitos seleccionados al azar. Se realizó una evaluación sensorial por atributos, los cuales fueron color blanco, olor, suavidad, sabor y aceptabilidad global. Para esto, una escala hedónica de 5 puntos (1 fue me disgusta mucho y 5 me gusta mucho) se utilizó para la evaluación de los atributos. Los evaluadores realizaron la evaluación en cabinas individuales y separadas. Los resultados se expresaron como índice de aceptabilidad (IA%) de acuerdo a la ecuación reportada por Fernandes y Salas-Mellado (2017):

$$IA (\%) = \frac{\text{Valor hedónico asignado}}{\text{Valor hedónico máximo}} \times 100$$

### 5.16. Análisis Estadístico

En el análisis del tamaño de las nanopartículas, la prueba t-Student de dos muestras independientes fue realizada para evaluar el comportamiento y tamaño. Para analizar los datos del queso panela, un diseño de bloques completamente al azar se consideró en los análisis de las variables respuestas evaluadas de los quesos considerando tres factores en el modelo estadístico: tratamientos ( $T_i$ ), días de evaluación ( $\delta_j$ ) e interacción ( $(T\delta)_{ij(k)}$ ) y bloques ( $\beta_l$ ); el modelo estadístico para el análisis de los datos fue  $Y_{ijkl} = \mu + T_i + \delta_j + (T\delta)_{ij(k)} + \beta_l + \epsilon_{ijkl}$ ; donde:  $Y_{ijkl}$  = variables respuestas medias en el tiempo,  $\mu$  = media general,  $T_i$  = efecto del i-ésimo tratamiento;  $\delta_j$  = efecto del j-ésimo día de evaluación (1 y 7 días),  $(T\delta)_{ij(k)}$  = efecto de la interacción entre el i-ésimo tratamiento y el j-ésimo día,  $\beta_l$  = efecto del l-ésimo bloque y  $\epsilon_{ijkl}$  = error aleatorio distribuido en forma normal con media y varianza [ $\epsilon_{ijkl} \sim N(\mu, \sigma^2)$ ]. Cuando en el análisis de la varianza, el valor de probabilidad (P-value) resultó menor a 0.05 (P-value < 0.05) para cada variable respuesta,  $H_0$  fue rechazada y la comparación de medias se realizó con la prueba Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) en el siguiente orden: efecto interacción [ $(T\delta)_{ij(k)}$ ; letras mayúsculas] y efectos fijos ( $T_i$  y  $\delta_j$ ; letras minúsculas). Los datos se analizaron con el software Minitab® (2013).

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1. Composición del Aceite de Orégano

Los compuestos volátiles del aceite de orégano *Lippia berlandieri* Schauer se observan en el Cuadro 6 donde el compuesto mayoritario fue carvacrol, seguido de timol. Los resultados contrastan con Silva-Vázquez et al. (2016) porque dichos autores obtuvieron 60.02% carvacrol y 3.96% timol. Por otra parte, Gómez-Sánchez et al. (2011) obtuvieron 41.54% carvacrol y 3.39% timol. Los resultados obtenidos en la caracterización del aceite de orégano del presente estudio pueden ser relacionada a la cantidad y tipo de metabolitos secundarios, dependiendo de la variabilidad genética, tiempo de cosecha, acidez del suelo y comportamiento del clima (calor, frío y humedad) (Calvo-Irabién et al., 2014).

**Cuadro 6.** Compuestos volátiles (%) del aceite esencial de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer).

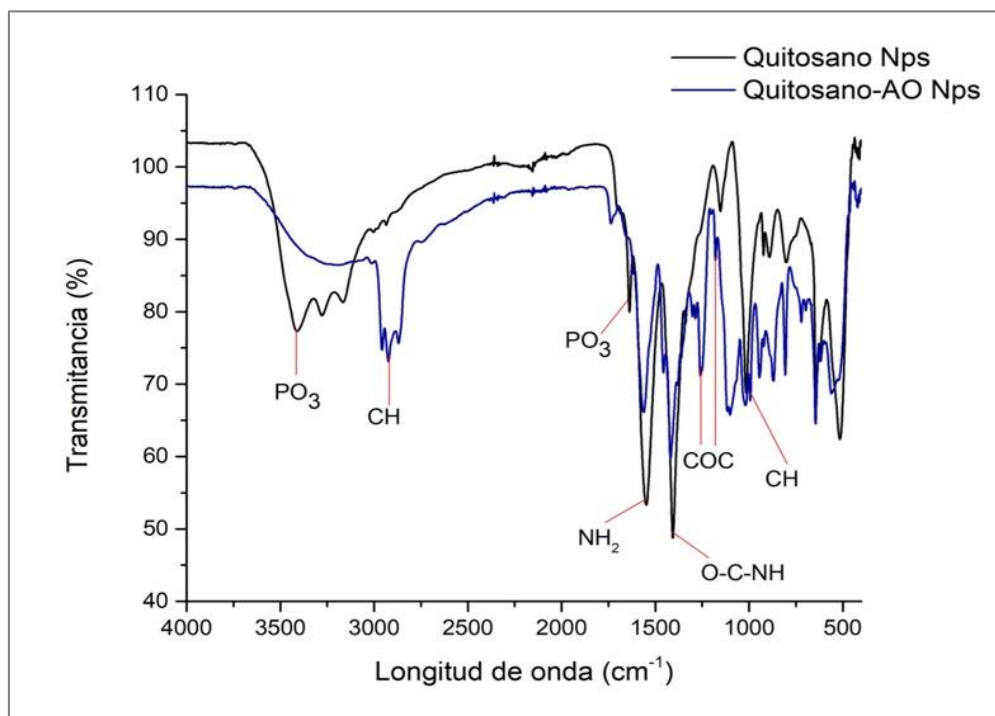
Compuesto	Concentración (%) <sup>†</sup>
Carvacrol	76.16
Timol	10.07
Terpineol	2.88
Alcanfor	1.59
Linalol	6.37
$\alpha$ -pineno	0.90
$\beta$ -pineno	2.01

<sup>†</sup>Los porcentajes de compuestos volátiles fueron obtenidos utilizando el método AOAC 996.06 por cromatografía de gases acoplada a espectrofotometría de masas con ionización

### 6.2. Caracterización de Nanopartículas

Los análisis con FTIR permiten caracterizar nanopartículas. En la Figura 7 se muestra el espectro FTIR de las nanopartículas de orégano y quitosano. Las nanopartículas de quitosano mostraron bandas de absorción a 3,406  $\text{cm}^{-1}$  que se atribuye a la unión de Tripolifosfato de Sodio (TPP), 1,634  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a la vibración de

estiramiento de P=O de los grupos fosfato, y las bandas  $1,555\text{ cm}^{-1}$  y  $1,401\text{ cm}^{-1}$  que indican la absorción de la amida ( $\text{NH}_2$ ). Por otra parte, el orégano nanoparticulado mostró bandas a  $2,916\text{ cm}^{-1}$  que muestra la unión del TPP con el quitosano,  $1,556\text{ cm}^{-1}$  y  $1,411\text{ cm}^{-1}$  correspondientes a la amida ( $\text{NH}_2$ ),  $1,247\text{ cm}^{-1}$ ,  $1,160\text{ cm}^{-1}$  y  $992\text{ cm}^{-1}$  indicando presencia de grupos carbonilos que interactúan con grupos aminos y fosfatos. Los resultados del quitosano nanoparticulado contrastan con Boyás et al. (2017) debido a que las bandas de absorción se observaron a  $3,451\text{ cm}^{-1}$  para OH,  $1,646\text{ cm}^{-1}$  para el estiramiento de la  $\text{NH}_2$  (Amida I), y  $1,105\text{ cm}^{-1}$  (C-O-C estiramiento). Respecto al orégano nanoparticulado, Yoncheva *et al.* (2021) demostraron que las bandas a  $3,380\text{ cm}^{-1}$  de O-H indica la vibración de estiramiento. Las bandas de  $870\text{ cm}^{-1}$  y  $2,960\text{ cm}^{-1}$  son atribuidas para el estiramiento de vibración de C-H del  $\text{CH}_2$ -alifático, mientras que las bandas a  $1,600\text{ cm}^{-1}$  y  $1,300$  son atribuidas a la inflexión de C-H de los grupos  $\text{CH}_2$  alifáticos e inflexión de C-O-H, respectivamente. Las bandas de absorción entre  $900\text{ cm}^{-1}$ - $1,200\text{ cm}^{-1}$  confirma la presencia de carvacrol y timol, lo que indica la validez de la nanoparticulación del orégano con quitosano.



**Figura 7.** Espectro FTIR de nanopartículas de quitosano y orégano en nanoparticulado.

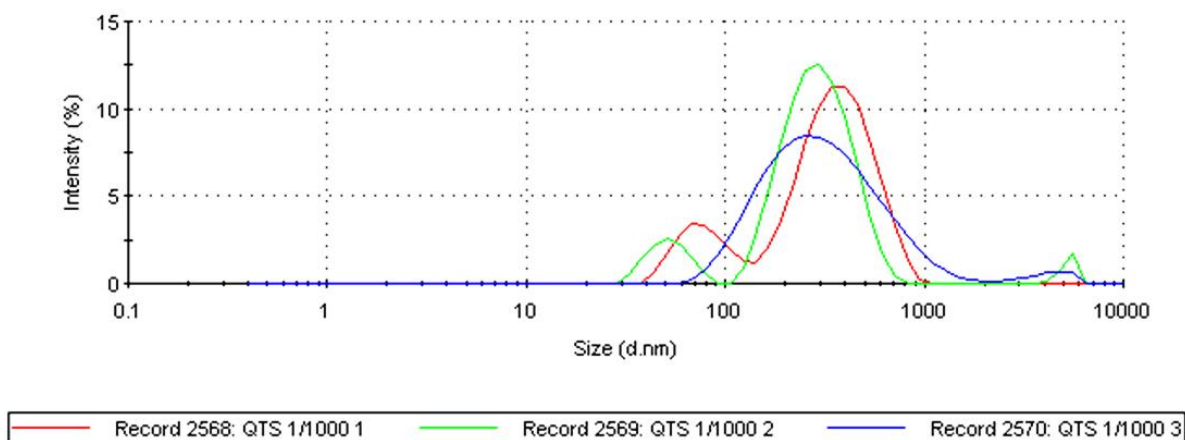
El tamaño y distribución de las nanopartículas de quitosano se presentan en el Cuadro 7 y Figuras 8 y 9; las nanopartículas de quitosano resultaron con más tamaño que las del orégano. Boyas *et al.* (2013) indicaron que hay factores que intervienen en el tamaño de las nanopartículas, mientras más altas sean las concentraciones de los componentes, el tamaño de partículas disminuye; esto resulta en un potencial zeta bajo, indicando inestabilidad entre las nanopartículas debido a la interacción electrostática débil. Esto se observó para las nanopartículas de quitosano, las cuales presentaron mayor tamaño y menor potencial zeta, entre más bajo sea el tamaño de partícula habrá mayor homogeneidad en la distribución y uniformidad del diámetro. Sedlalíková *et al.* (2017) indicaron que las partículas en sistemas donde el encapsulante es el polímero, la solubilidad es alta debido al disolvente (solución acuosa de ácido acético). En cambio, para el orégano nanoparticulado, el tamaño se atribuye a la actividad estabilizante del emulsionante utilizado (Tween 80) ya que el tensioactivo está compuesto por partículas dispersas, las cuales se extienden en la solución debido a que reduce la tensión interfacial con el fin de encapsular las gotas de aceite (Fraj *et al.*, 2019).

**Cuadro 7.** Tamaño de las nanopartículas de quitosano y orégano.

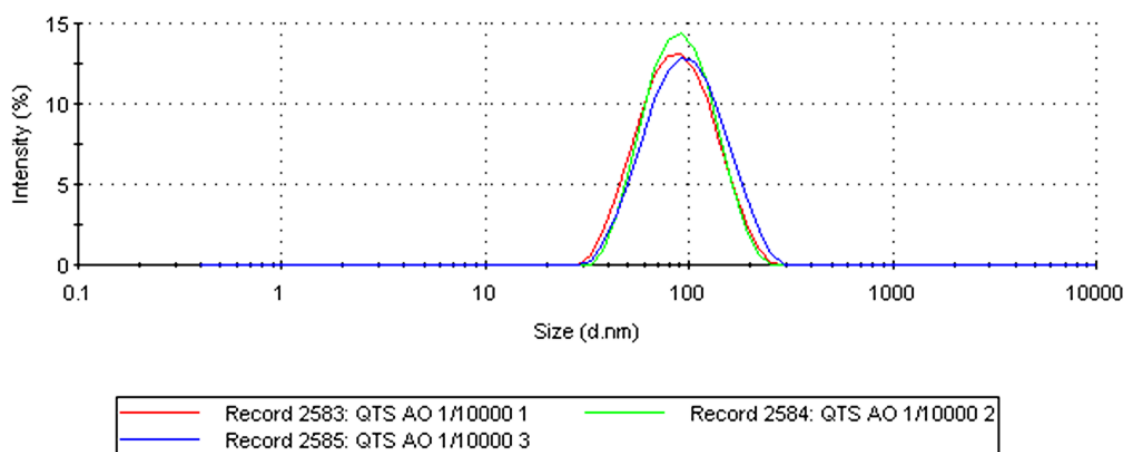
Nanopartícula <sup>†</sup>	Tamaño (nm)
Quitosano	208.64 <sup>a</sup>
Orégano	61.04 <sup>b</sup>
EEM	4.29
P-value	0.000

<sup>†</sup> EEM: error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias en filas con diferente letra indican diferencia estadística entre las nanopartículas (P<0.05).



**Figura 8.** Distribución del tamaño de quitosano nanoparticulado.



**Figura 9.** Distribución del tamaño de orégano nanoparticulado.

### 6.3. Efecto de las Nanopartículas en Leche para Elaborar el Queso Panela

#### 6.3.1. Rendimiento, Sinéresis y pH

La producción eficiente de quesos frescos se evalúa con el rendimiento y sinéresis. En el Cuadro 8 se muestra el rendimiento y sinéresis de quesos panela (QP) elaborados de leche tratada con orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días. En el día 1 se muestra que QP<sub>QTN</sub> obtuvo un mayor rendimiento, seguido de QP<sub>AON</sub>, QP<sub>AOE</sub> y QP<sub>CON</sub>. En el día 7, QP<sub>AON</sub> mostró mayor rendimiento seguido de QP<sub>AOE</sub>, QP<sub>QTN</sub> y QP<sub>CON</sub>, demostrando que no hubo una diferencia significativa entre los rendimientos ( $P > 0.05$ ),

pero el rendimiento disminuyó 1.5 % aproximadamente en todos los quesos del día 1 al 7.

**Cuadro 8.** Rendimiento y sinéresis en queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano en nanopartículas durante 7 días.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Rendimiento(%)	Sinéresis(%)
<b>Día 1</b>		
QP <sub>CON</sub>	11.81 <sup>a;A</sup>	1.11 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	12.04 <sup>a;A</sup>	0.76 <sup>a;B</sup>
QP <sub>AON</sub>	12.45 <sup>a;A</sup>	0.63 <sup>a;B</sup>
QP <sub>QTN</sub>	12.50 <sup>a;A</sup>	1.98 <sup>a;AB</sup>
<b>Día 7</b>		
QP <sub>CON</sub>	10.45 <sup>a;A</sup>	2.76 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	10.66 <sup>a;A</sup>	2.76 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AON</sub>	10.85 <sup>a;A</sup>	5.71 <sup>a;A</sup>
QP <sub>QTN</sub>	10.53 <sup>a;A</sup>	4.39 <sup>a;AB</sup>
EEM	2.14	0.97
<i>P</i> -values		
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.566	0.347
Día (δ <sub>j</sub> )	0.135	0.001
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.836	0.340

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

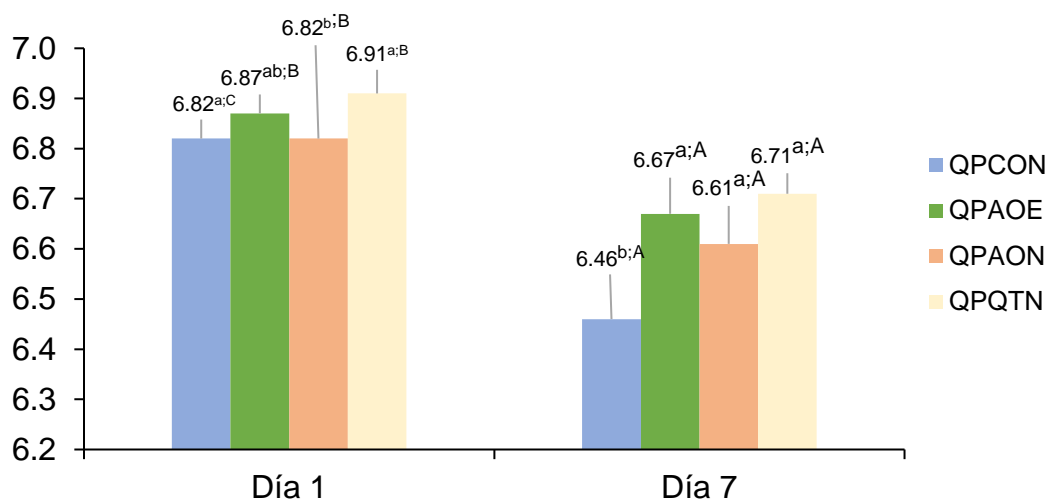
<sup>a-b</sup> Medias en la misma columna, entre tratamientos y en diferente tiempo con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

En relación a la sinéresis, en el día 1 se mostró que el tratamiento de QP<sub>AOE</sub> no presentó (P>0.05) una pérdida de suero, pero el QP<sub>AON</sub> perdió menos suero y el QP<sub>QTN</sub>

tuvo una mayor pérdida. En el día 7, QP<sub>AON</sub> presentó una mayor pérdida de suero, seguido de QP<sub>QTN</sub> y por último QP<sub>CON</sub> y QP<sub>AOE</sub>, demostrando que la sinéresis aumentó ( $P < 0.05$ ) del día 1 al 7, siendo mayor en QP<sub>AON</sub> y menor el QP<sub>CON</sub> y QP<sub>AOE</sub> al día 7. El queso panela pierde agua (lactosuero) la cual se considera como sinéresis, y como consecuencia, la pérdida de peso se ve afectada cuando son tratados con algún aditivo (Sánchez-Zamora et al., 2022). Estos resultados se apreciaron con las diferencias de los pesos de los QP, los cuales al día 1 QP<sub>AON</sub> y QP<sub>AOE</sub> presentaron menor sinéresis y al día 7 fueron QP<sub>CON</sub> y QP<sub>AOE</sub>, y en consecuencia mejores rendimientos.

El efecto del orégano nanoparticulado y nanopartículas de quitosano en el pH de los QP a los 7 días de almacenamiento se muestra en la Figura 10; en el día 1 los tratamientos no mostraron diferencias ( $P > 0.05$ ), pero en el día 7 los tratamientos resultaron diferentes ( $P < 0.05$ ) en el pH. Se mostró un efecto de la interacción entre los días ( $P < 0.05$ ), indicando que el pH cambió en los tratamientos del día 1 al 7. Guerra Martínez *et al.* (2011) evaluaron el pH del queso durante 15 días, obteniendo un pH de 6.40 al día 1 y al día 7 obtuvieron 6.03; valores relativamente más bajos a los de la presente investigación con las nanopartículas incorporadas en leche para elaborar el QP, lo que indica que el AOE, AON y QTN no afectan la calidad fisicoquímica del QP en 7 días. Shawktal *et al.* (2019) evaluaron el pH de leche tratada con nanopartículas de quitosano en diferentes concentraciones (0.1%, 0.2% y 0.3%) durante 30 días, y 0.3% al día 1 mostró un pH de 6.64 y al día 15 de 6.61, indicando que la adición de QTN no afecta la calidad de la leche pasteurizada.



**Figura 10.** pH en queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano nanoparticulados durante 7 días.

QPCON: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QPAOE: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QPAON: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QPQTN: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano.

### 6.3.2. Comportamiento del Color en el Queso

El color de los quesos se evalúa con la luminosidad ( $L^*$ ) y tendencia al color amarillo ( $b^*$ ). La evaluación del color de los quesos panela obtenidos de leche tratada con orégano y quitosano en nanopartículas a los 7 días se presenta en el Cuadro 9. El comportamiento del color en los QP no varió en el tiempo ( $(T\delta)_{ij} > 0.05$ ), pero si cambió ( $\delta_j$ ;  $P < 0.05$ ) por cada día. Al día 7,  $L^*$  fue diferente pero no al día 1, mientras que  $b^*$ , Hue (tono) y Chroma (saturación) fueron diferentes al día 7. El QPQTN presentó más  $L^*$  y QPAOE menor  $L^*$ . Los resultados en  $a^*$  resultaron en negativo ya que están más cerca de cero, lo que indica un resultado esperado debido que el QP es blanco y no hay una tendencia de verde o rojo. En  $b^*$  y saturación, QPCON resultó más alto y QPAON más bajo, pero en la tonalidad estos tratamientos tuvieron un comportamiento opuesto ( $<$  en QPCON;  $>$  en QPAON). Sánchez-Zamora et al. (2022) mostraron al día 4, 8 y 15 que  $L^*$  y  $a^*$  fueron iguales en todos los tratamientos. El comportamiento de estas variables en QPAOE, QPAON puede deberse a los pigmentos del AEO como los monoterpenos fenólicos y la maduración.



**Cuadro 9.** Evaluación del color de los quesos panela obtenidos de leche tratada con orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días de almacenamiento.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Variables de color <sup>‡</sup>				
	L*	a*	b*	Hue	Chroma
<b>Día 1</b>					
QP <sub>CON</sub>	94.04 <sup>a;AB</sup>	-1.59	11.94 <sup>a;AB</sup>	98.85 <sup>b;A</sup>	12.13 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	94.51 <sup>a;AB</sup>	-1.56	11.71 <sup>ab;AB</sup>	98.98 <sup>ab;A</sup>	11.85 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>AON</sub>	95.24 <sup>a;A</sup>	-1.83	11.39 <sup>b;B</sup>	99.11 <sup>a;A</sup>	11.53 <sup>b;B</sup>
QP <sub>QTN</sub>	95.12 <sup>a;B</sup>	-1.80	11.45 <sup>ab;B</sup>	98.93 <sup>ab;A</sup>	11.59 <sup>ab;A</sup>
<b>Día 7</b>					
QP <sub>CON</sub>	93.54 <sup>b;AB</sup>	-1.30	12.28 <sup>a;A</sup>	96.06 <sup>a;B</sup>	12.36 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AOE</sub>	93.37 <sup>b;B</sup>	-1.26	11.87 <sup>a;AB</sup>	96.07 <sup>a;B</sup>	11.96 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AON</sub>	93.85 <sup>ab;AB</sup>	-1.29	11.84 <sup>a;AB</sup>	96.16 <sup>a;B</sup>	11.91 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>QTN</sub>	94.36 <sup>a;AB</sup>	-1.39	11.84 <sup>a;AB</sup>	96.39 <sup>a;B</sup>	11.91 <sup>a;AB</sup>
EEM	0.33	0.11	0.13	0.21	0.144
<i>P-values</i>					
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.008	0.550	0.003	0.756	0.003
Día (δ <sub>j</sub> )	0.000	0.000	0.002	0.000	0.016
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.658	0.803	0.768	0.770	0.808

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>‡</sup>L\*: luminosidad; a\*: tendencia al rojo; b\*: tendencia al amarillo; Chroma: índice de saturación; ángulo Hue: índice de tonalidad.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

### 6.3.3. Bromatología del Queso Panela

La composición bromatológica de un alimento es la humedad, proteína, grasa, carbohidratos y cenizas. En la composición de los QP obtenido con la adición de nanopartículas en la leche, el porcentaje de proteína cruda cambió ( $(T\delta)_{ij}$ ;  $P < 0.05$ ) entre los tratamientos durante los días de almacenamiento, mientras que en los días ( $\delta_j$ ) solo varió ( $P < 0.05$ ) el porcentaje de humedad y ceniza (Cuadro 10). La humedad fue diferente al día 7, siendo menor en QP<sub>QTN</sub> y mayor en QP<sub>CON</sub>. El porcentaje de proteína cruda aumentó del día 1 al 7, donde QP<sub>QTN</sub> drásticamente incrementó del día 1 al 7, y QP<sub>CON</sub> mantuvo estable su contenido proteico (más bajo al día 7). Las cenizas disminuyeron el día 1 al 7. El porcentaje de grasa cruda del QP no se modificó ( $P > 0.05$ ) durante los días de almacenamiento. Con estos hallazgos puede indicarse que los tratamientos modifican los componentes nutricionales, debido al cambio notable de los componentes respecto a los QP control.

Una disminución en el porcentaje de la humedad se atribuye a la sinéresis del queso. McSweeny (2004) indicó que la sinéresis del queso disminuye la actividad del agua y el agua total debido a los nuevos grupos carboxilo y aminoácidos formados durante la hidrólisis durante el almacenamiento, ya que forman enlaces con las moléculas de agua, dificultando la disponibilidad. Esto también explica el incremento de proteína al día 7, ya que, al perderse los enlaces peptídicos, quedan expuestos más aminoácidos en el medio.

Ramírez-López y Vélez-Ruiz (2018) realizaron análisis proximales en queso panela de vaca y cabra durante 15 días, mostrando que en el queso de vaca, el contenido de proteína aumenta y el de grasa disminuye durante el almacenamiento. Los resultados de este estudio son similares a los reportados por Guo *et al.* (2011), Van Hekken y Farkye (2003) y Guerra-Martínez *et al.* (2012). El contenido de humedad varió de 53 a 58%, el contenido de grasa de 16 a 21% y el contenido de proteína de 15 a 20%.

**Cuadro 10.** Análisis proximal del queso panela obtenido de leche con orégano nanoparticulado y nanopartículas de quitosano en 7 días.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Componente (%)			
	Humedad	Proteína	Grasa	Ceniza
<b>Día 1</b>				
QP <sub>CON</sub>	52.64 <sup>a;A</sup>	15.47 <sup>a;AB</sup>	24.88	1.74 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AOE</sub>	53.21 <sup>a;A</sup>	15.49 <sup>a;AB</sup>	26.66	1.70 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AON</sub>	51.96 <sup>a;A</sup>	15.41 <sup>a;AB</sup>	26.61	1.58 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>QTN</sub>	52.68 <sup>a;A</sup>	14.16 <sup>a;B</sup>	27.10	1.69 <sup>a;AB</sup>
<b>Día 7</b>				
QP <sub>CON</sub>	51.94 <sup>a;A</sup>	15.49 <sup>a;AB</sup>	25.16	1.20 <sup>b;B</sup>
QP <sub>AOE</sub>	50.59 <sup>a;AB</sup>	16.48 <sup>a;A</sup>	26.34	1.35 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>AON</sub>	50.45 <sup>a;AB</sup>	16.31 <sup>a;A</sup>	27.86	1.33 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>QTN</sub>	48.12 <sup>b;B</sup>	16.65 <sup>a;A</sup>	27.81	1.54 <sup>a;AB</sup>
EEM	1.12	0.36	1.60	0.185
<i>P</i> -values				
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.151	0.216	0.477	0.832
Día (δ <sub>j</sub> )	0.000	0.000	0.786	0.010
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.114	0.005	0.973	0.625

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

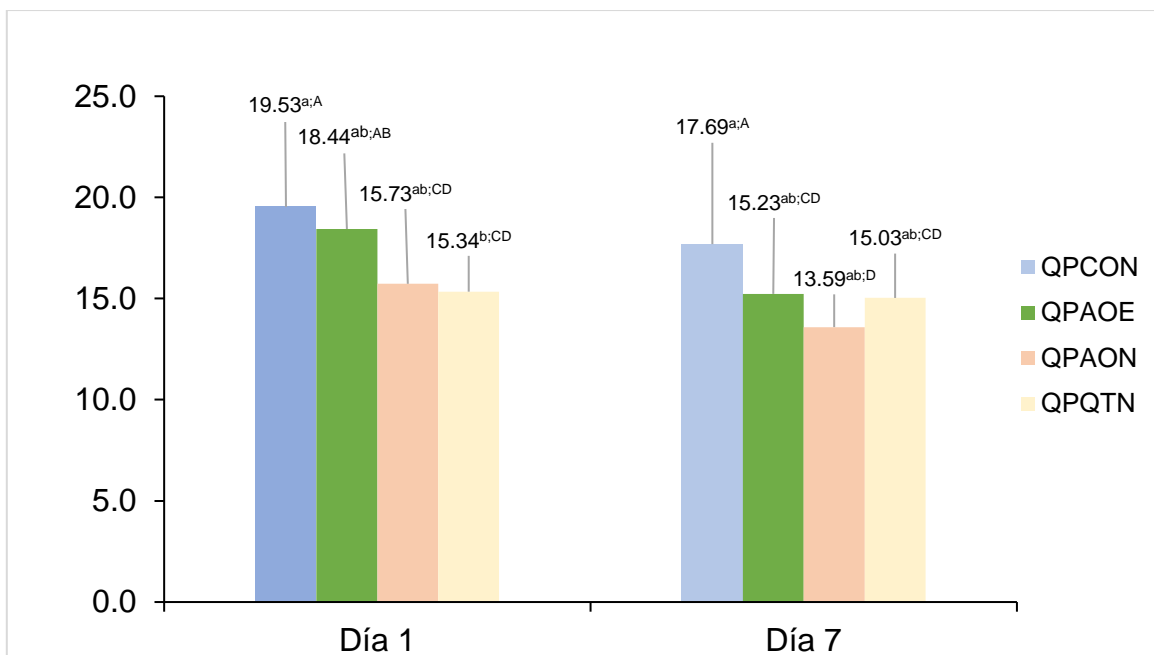
<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

#### 6.3.4. Análisis de Textura

El análisis instrumental de la textura consiste en evaluar la dureza, adhesividad, fracturabilidad, cohesividad, masticabilidad, elasticidad, gomosidad y resiliencia. La

dureza de los QP a través de los días ( $(T\delta)_{ij}$ ) mostró diferencias ( $P < 0.05$ ; Figura 11). Los quesos disminuyeron en la dureza del día 1 al 7. El QP<sub>CON</sub> fue más duro en los dos días, pero QP<sub>AON</sub> y QP<sub>QTP</sub> presentaron menos dureza (más suaves), siendo QP<sub>AON</sub> con la dureza más baja al día 7. La dureza del queso aumenta con el tiempo como resultado de la pérdida del agua y proteólisis (Bourne, 2002), aunque esto se contrasta en este estudio porque la dureza de todos los QP disminuyó en el tiempo; sin embargo, los QP con nanopartículas desde su elaboración mostraron menos dureza (suavidad). Sánchez-Zamora *et al.* (2022) indicaron que en 8 días, el QP<sub>CON</sub> presenta mayor dureza que en los quesos experimentados con AOE, resultados similares a este estudio. Artiga-Artigas *et al.* (2017) aplicaron un recubrimiento con AOE en quesos bajos en grasa durante 25 días en refrigeración, indicando que las muestras control presentan una mayor dureza que en las muestras con AOE. Lobato-Calleros *et al.* (2007) mencionaron que un queso con más proteína será más firme y difícil de deformar, esto se debe a que las proteínas forman una red que atrapa a los glóbulos de grasa, lo que da al queso su estructura. En los resultados de este estudio con la adición de AOE y AON, los QP presentaron menor dureza con el tiempo. Sánchez-Zamora *et al.* (2022) indicaron que el AOE ocupa los espacios intersticios en la red proteica del queso, manteniendo la suavidad del producto a través del tiempo.



**Figura 11.** Dureza del queso panela obtenido de leche con orégano y quitosano nanoparticulados durante 7 días.

QPCON: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QPAOE: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QPAON: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QPQTN: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano.

<sup>ab</sup> Medias en barras con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma barra, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

En el Cuadro 11 se presentan otras variables del análisis de textura del queso panela obtenido con leche tratada con aceite de orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días. El efecto de la interacción de tratamiento con días fue significativo en adhesividad ( $(T\delta)_{ij}$ ;  $P < 0.05$ ), mientras que el tiempo ( $\delta_j$ ) resultó significativo ( $P < 0.05$ ) para elasticidad. En cambio, los tratamiento y días fueron significativos para cohesividad y resiliencia. El efecto tratamiento ( $T_i$ ) fue significativo para gomosidad y masticabilidad. La adhesividad disminuyó en todos los QP en el tiempo, donde QPAOE aumentó al día 1 y al día 7. La gomosidad se mantuvo en QPCON y QPAON pero para QPAOE y QPQTN disminuyó del día 1 al 7. En el caso de la masticabilidad, esta aumentó del día 1 al 7 para QPCON, seguido de QPAOE. La resiliencia aumentó en QPAOE y QPAON. Los resultados de AOE y AON son similares a los reportados por Artiga-Artigas *et al.* (2017), al indicar que si la dureza aumenta también incrementa la masticabilidad y gomosidad.

**Cuadro 11.** Análisis de perfil de textura de quesos obtenidos de leche con orégano y quitosano en nanopartículas en 7 días de almacenamiento a 4°C.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Adhesividad (g s <sup>-1</sup> )	Elasticidad (mm)	Cohesividad	Gomosidad (g)	Masticabilidad (g mm <sup>-1</sup> )	Resiliencia
<b>Día 1</b>						
QP <sub>CON</sub>	-12.60 <sup>a;A</sup>	0.88 <sup>a;AB</sup>	0.48 <sup>a;C</sup>	10.22 <sup>a;A</sup>	9.14 <sup>a;A</sup>	0.22 <sup>a;CD</sup>
QP <sub>AOE</sub>	-11.27 <sup>a;A</sup>	0.87 <sup>a;AB</sup>	0.47 <sup>ab;C</sup>	9.42 <sup>ab;AB</sup>	8.19 <sup>ab;AB</sup>	0.22 <sup>a;D</sup>
QP <sub>AON</sub>	-13.70 <sup>a;A</sup>	0.87 <sup>a;ABC</sup>	0.47 <sup>ab;C</sup>	8.19 <sup>b;AB</sup>	7.08 <sup>b;A</sup>	0.22 <sup>a;D</sup>
QP <sub>QTN</sub>	-13.60 <sup>a;AB</sup>	0.88 <sup>a;A</sup>	0.46 <sup>b;C</sup>	7.65 <sup>b;B</sup>	6.77 <sup>b;B</sup>	0.20 <sup>b;D</sup>
<b>Día 7</b>						
QP <sub>CON</sub>	-18.77 <sup>a;AB</sup>	0.87 <sup>a;ABC</sup>	0.57 <sup>ab;B</sup>	10.46 <sup>a;A</sup>	9.53 <sup>a;A</sup>	0.28 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	-16.00 <sup>a;AB</sup>	0.86 <sup>a;BC</sup>	0.62 <sup>a;A</sup>	8.64 <sup>ab;AB</sup>	8.76 <sup>ab;AB</sup>	0.30 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AON</sub>	-17.63 <sup>a;AB</sup>	0.85 <sup>a;C</sup>	0.63 <sup>a;A</sup>	8.43 <sup>b;B</sup>	7.59 <sup>b;AB</sup>	0.30 <sup>ab;A</sup>
QP <sub>QTN</sub>	-22.52 <sup>a;B</sup>	0.85 <sup>a;C</sup>	0.62 <sup>b;A</sup>	7.83 <sup>b;B</sup>	7.09 <sup>b;B</sup>	0.26 <sup>b;BC</sup>
EEM	2.66	0.44	0.02	0.52	0.48	0.01
<i>P</i> -values						
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.662	0.982	0.015	0.000	0.000	0.000
Día (δ <sub>j</sub> )	0.031	0.000	0.000	0.683	0.226	0.000
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.019	0.931	0.080	0.997	0.988	0.210

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

La textura de un alimento como su dureza, masticabilidad y gomosis está relacionada con el contenido de humedad, a mayor contenido menor será la textura

del alimento (Kandasamy Saravanakumar, 2020). Sánchez-Zamora *et al.* (2022) mostraron resultados similares a AOE y AON, indicando que la adición del AOE ayuda a limitar la pérdida de humedad en el queso panela.

### **6.3.5. Actividad Antioxidante**

El análisis de ABTS•+ de los QP de leche tratada con orégano y quitosano en nanopartículas al día 1 y 7 se muestra en el Cuadro 12. El efecto tratamiento ( $T_i$ ) tuvo influencia ( $P < 0.05$ ) en QP base húmeda y seca. A estas condiciones, los análisis indicaron que la capacidad antioxidante incrementó para  $QP_{AOE}$  y  $QP_{AON}$  en 7 días, y  $QP_{QTN}$  tuvo la menor capacidad antioxidante. El efecto antioxidante de los AOE y AON podría ser explicado por el mecanismo de acción de la donación de electrones por los compuestos fenólicos y otros polifenoles (Vukić *et al.*, 2022). Esto también significa que tras la adición de AOE y AON, los monofenoles conducen un aumento a la hidrofobicidad, debido a que interfieren en las membranas celulares, donde protege las células del daño oxidativo (Fawal *et al.*, 2019), que se vio reflejada en el incremento al día 7.

El Cuadro 13 muestra el análisis DPPH• del QP elaborado a partir de leche con orégano y quitosano en nanopartículas durante 7 días. En QP base húmeda y seca hubo efecto ( $P < 0.05$ ) en la interacción ( $T_i$ ) y días de evaluación ( $\delta_j$ ). El suero no hubo una diferencia ( $P > 0.05$ ) en las propiedades antioxidantes. En queso base húmeda, al día 1 en  $QP_{QTN}$  obtuvo la mayor respuesta antioxidante, pero al día 7 disminuyó y  $QP_{AON}$  mostró la mejor capacidad antioxidante. En materia seca,  $QP_{AOE}$  tuvo mejor propiedad antioxidante al día 1 y 7 y a los 7 días  $QP_{QTN}$  la más baja.

Las propiedades antioxidantes de las proteínas están asociadas con la composición de aminoácidos, estos pueden actuar como antioxidantes, principalmente por la limitación de la actividad de sus grupos sulfhídrico (cisteína y metionina) o donación de residuos aromáticos (triptófano, tirosina y fenilalanina) (Stobiecka *et al.*, 2022); esta propiedad de los aminoácidos puede mejorar con el AEO y AON cuando se adicionaron en la leche hasta la elaboración y evaluación de los QP. En la materia seca, puede indicarse que en  $QP_{AON}$  y  $QP_{AOE}$  mejoraron la capacidad antioxidante por los componentes carvacrol y timol del aceite de orégano que pueden controlar la proteólisis. Gupta *et al.* (2009) realizaron un estudio de quesos cheddar en diferentes

etapas de maduración; dichos autores observaron que el aumento de la actividad antioxidante está relacionado con la tasa de formación de péptidos solubles debido a la proteólisis.

**Cuadro 12.** Actividad antioxidante (ABTS•+) de queso panela procesado con leche adicionada con orégano y quitosano nanoparticulado durante 7 días a 4 °C.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	ABTS•+ (μMol/L Trolox)	
	Queso	Materia Seca
<b>Día 1</b>		
QP <sub>CON</sub>	618.00 <sup>a;B</sup>	432.50 <sup>abc;BC</sup>
QP <sub>AOE</sub>	833.00 <sup>a;AB</sup>	759.00 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AON</sub>	787.00 <sup>a;AB</sup>	583.60 <sup>ab;ABC</sup>
QP <sub>QTN</sub>	738.00 <sup>a;AB</sup>	356.90 <sup>c;C</sup>
<b>Día 7</b>		
QP <sub>CON</sub>	400.50 <sup>B;B</sup>	423.60 <sup>bc;C</sup>
QP <sub>AOE</sub>	1168.00 <sup>a;A</sup>	845.00 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AON</sub>	1216.30 <sup>b;AB</sup>	593.60 <sup>b;ABC</sup>
QP <sub>QTN</sub>	547.20 <sup>b;B</sup>	387.20 <sup>c;C</sup>
EEM	100.75	67.11
<i>P-values</i>		
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.000	0.000
Día (δ <sub>j</sub> )	0.242	0.605
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.052	0.933

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).



**Cuadro 13.** Actividad antioxidante (DPPH•) de queso panela elaborado con la adición de orégano en leche durante 7 días de almacenamiento.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	DPPH•		
	Queso μMol/L Trolox	Suero (%Inhibición)	Materia Seca μMol/L Trolox
<b>Día 1</b>			
QP <sub>CON</sub>	217.50 <sup>c;BC</sup>	99.90	359.00 <sup>c;BC</sup>
QP <sub>AOE</sub>	279.00 <sup>bc;ABC</sup>	99.84	1014.00 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AON</sub>	401.60 <sup>ab;AB</sup>	99.89	797.30 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>QTN</sub>	417.00 <sup>a;A</sup>	99.89	554.10 <sup>c;ABC</sup>
<b>Día 7</b>			
QP <sub>CON</sub>	279.20 <sup>a;ABC</sup>	99.89	265.90 <sup>b;C</sup>
QP <sub>AOE</sub>	279.10 <sup>a;ABC</sup>	99.89	607.00 <sup>a;ABC</sup>
QP <sub>AON</sub>	308.00 <sup>a;ABC</sup>	99.89	411.00 <sup>b;BC</sup>
QP <sub>QTN</sub>	163.20 <sup>a;C</sup>	99.88	207.50 <sup>b;C</sup>
EEM	35.97	0.006	84.97
<i>P</i> -values			
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.083	0.789	0.000
Día (δ <sub>j</sub> )	0.022	0.395	0.657
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.002	0.971	0.340

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

Revilla et al. (2016) analizaron la capacidad antioxidante en quesos variando el tipo de leche y determinaron que en queso de leche de vaca, la actividad antioxidante aumentó con respecto al tiempo; lo que indica una proteólisis progresiva, generando péptidos solubles y aminoácidos. En este estudio, todos los QP estuvieron 7 días en almacenamiento, por lo que una proteólisis pudo ser la misma pero la diferencia radicó en los QP fueron elaborados con aceite de orégano emulsionado y nanoparticulado. Esto es respaldado por lo indicado por Teodoro et al. (2014), quienes indicaron que la liberación de los componentes activos de los aceites esenciales encapsulados ocurre gradualmente, permitiendo que su efecto sea prolongado.

### **6.3.6. Análisis Microbiológico**

Los análisis microbiológicos de los alimentos durante su almacenamiento a 4 °C incluyen mesófilos, psicrótrofos, hongos-levaduras y bacterias ácido lácticas (BAL). El análisis microbiológico de los quesos obtenidos adicionado en leche aceite de orégano y quitosano en nanopartículas mostraron que las BAL y enterobacterias cambiaron a través del tiempo entre los tratamientos ( $(T\delta)_{ij}$ ;  $P < 0.05$ ; Cuadro 14). El conteo de Mesófilos fue diferente ( $P < 0.05$ ) en los días, mientras que los hongos y levaduras cambiaron en tratamientos y psicrófilos resultó diferente tanto en tratamientos como días. En el caso de Mesófilos, bacterias ácido lácticas (BAL), hongos y levaduras (HL) resultaron con mayor conteo para QP<sub>AOE</sub> al día 7, y QP<sub>QTN</sub> tuvo menor conteo en mesófilos y HL, mientras que QP<sub>CON</sub> tuvo el menor conteo de BAL en 7 días. En psicrófilos al día 7 fue mayor QP<sub>QTN</sub> mientras que QP<sub>AOE</sub> y QP<sub>AON</sub> presentó menores conteos. Respecto al conteo de enterobacterias, en QP<sub>CON</sub> aumentó y con QP<sub>AON</sub> disminuyó. Para el recuento de mesófilos, Schuh et al. (2022) añadieron 0.05 % AEO en queso tipo cremoso y evaluaron su vida de anaquel a 35 días, mostrando resultados similares a este estudio. Por otra parte, Zantar et al. (2014) añadieron 0.05% AEO en queso fresco de cabra y determinaron su vida de anaquel, los resultados de mesófilos fueron superiores a este estudio, demostrando que el AEO afecta a los mesófilos. Schuh et al. (2022) para enterobacterias indicaron que una concentración de 0.05 % de AO en queso crema, presentó crecimiento en 7 días debido a la una concentración baja del AO.

**Cuadro 14.** Análisis microbiológico en queso panela con orégano en 7 días de almacenamiento a 4°C.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Análisis microbiológico (Log UFC/mL) ‡				
	MES	BAL	HyL	PSI	ENT
<b>Día 1</b>					
QP <sub>CON</sub>	2.43 <sup>a;AB</sup>	2.06 <sup>a;C</sup>	3.19 <sup>ab;AB</sup>	3.39 <sup>a;A</sup>	1.00 <sup>b;BC</sup>
QP <sub>AOE</sub>	1.86 <sup>a;B</sup>	1.78 <sup>a;C</sup>	3.91 <sup>a;AB</sup>	1.90 <sup>b;BC</sup>	1.91 <sup>a;A</sup>
QP <sub>AON</sub>	2.10 <sup>a;AB</sup>	2.51 <sup>a;BC</sup>	3.02 <sup>ab;AB</sup>	1.11 <sup>b;C</sup>	1.57 <sup>a;A</sup>
QP <sub>QTN</sub>	1.93 <sup>a;B</sup>	2.30 <sup>a;C</sup>	2.74 <sup>b;B</sup>	3.30 <sup>a;A</sup>	0.84 <sup>b;BC</sup>
<b>Día 7</b>					
QP <sub>CON</sub>	3.13 <sup>a;AB</sup>	2.02 <sup>b;C</sup>	3.38 <sup>ab;AB</sup>	3.21 <sup>a;A</sup>	0.81 <sup>a;BC</sup>
QP <sub>AOE</sub>	3.27 <sup>a;A</sup>	3.61 <sup>a;A</sup>	4.03 <sup>a;A</sup>	2.33 <sup>b;ABC</sup>	0.52 <sup>a;C</sup>
QP <sub>AON</sub>	3.03 <sup>a;AB</sup>	2.25 <sup>b;C</sup>	3.31 <sup>ab;AB</sup>	2.38 <sup>b;AB</sup>	0.51 <sup>a;C</sup>
QP <sub>QTN</sub>	2.50 <sup>a;AB</sup>	3.45 <sup>a;AB</sup>	2.88 <sup>b;AB</sup>	3.59 <sup>a;A</sup>	0.53 <sup>a;B</sup>
EEM	0.28	0.21	0.28	0.29	0.20
<i>P</i> -values					
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.289	0.002	0.001	0.000	0.078
Día (δ <sub>j</sub> )	0.000	0.000	0.365	0.030	0.000
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.496	0.000	0.991	0.096	0.009

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>‡</sup>MES: Mesófilos; BAL: Bacterias ácido lácticas, HyL: Hongos y Levaduras, PSI: Psicrófilos, ENT: Enterobacteria.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente ( $P < 0.05$ ).

Para los resultados de BAL con AOE, los autores De Souza et al. (2016) indicaron que las BAL son resistentes al efecto inhibidor del AOE, ya que los compuestos fenólicos (carvacrol y timol) tienen efectos estimulantes sobre las BAL y podría mejorar su crecimiento en lugar de inhibirlo, esto se vio reflejado al día 7 de este estudio.

Schuh et al. (2022) añadieron 0.05% de AEO en queso crema, evaluaron la vida de anaquel en 35 d de almacenamiento; estos autores observaron que en la primera semana se incrementó la producción en mohos, disminuyendo al día 14, lo que indica que el AEO se libera gradualmente, esto se atribuye al efecto prolongado en los componentes.

Para el caso de los psicrófilos al día 7 en QP<sub>QTN</sub> incrementó su conteo, debido a que el quitosano evaluado fue a una concentración baja (0.05 g/L) y podría ser un estimulante para la proliferación de las Gram<sup>+</sup> (Ibrahim et al., 2015). En cambio, en el estudio de Atia et al. (2023) añadieron 50, 25 y 15 mg/100 mL de QTN en leche de búfalo inoculada con *Pseudomonas aeruginosa* almacenada durante 5 días a 4 °C observando que las concentraciones de QTN inhiben el crecimiento progresivo de *Pseudomonas aeruginosa*.

### **6.3.7. Perfil de Ácidos Grasos**

Los análisis de ácidos grasos de las grasas de los alimentos son los saturados e insaturados. El perfil de ácidos grasos del QP obtenido de la leche con aceite de orégano durante 7 días de almacenamiento se muestra en el Cuadro 15. El efecto de interacción, día y tratamientos no se mostró una diferencia ( $P > 0.05$ ), pero si una tendencia ( $P < 0.10$ ) para C6:0, C12:0, C14:0 y C18:1, siendo C14:0 (ácido grado mirístico) y C18:1 (ácido graso oleico) mayores en QP<sub>QTN</sub> y QP<sub>AEO</sub> y menores en QP<sub>AON</sub> a los 7 días. Esto podría ser explicado debido que los ácidos grasos libres se liberan durante la hidrólisis de lípidos, dando efecto en ácidos grasos de cadena corta (C6:0), y que pueden actuar como moléculas precursoras de reacciones catabólicas como metilcetonas, lactonas, ésteres, alcanos (Collins et al., 2003).

**Cuadro 15.** Perfil de ácidos grasos de queso panela elaborado de leche con aceite de orégano en 7 días de almacenamiento.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Perfil de ácidos grasos <sup>‡</sup>						
	C6:0	C10:0	C12:0	C14:0	C18:0	C18:1	C18:2
<b>Día 1</b>							
QP <sub>CON</sub>	25.50	4.70	5.46	14.57	14.78	25.60	4.98
QP <sub>AOE</sub>	31.04	3.58	4.26	11.76	12.32	21.59	3.97
QP <sub>AON</sub>	24.48	2.77	3.04	8.91	8.81	15.69	2.77
QP <sub>QTN</sub>	28.59	3.40	4.24	9.91	10.48	17.78	3.51
<b>Día 7</b>							
QP <sub>CON</sub>	43.41 <sup>a</sup>	4.20	5.02	13.69 <sup>ab</sup>	14.50	24.44	4.73
QP <sub>AOE</sub>	39.43 <sup>ab</sup>	4.83	5.78	16.09 <sup>ab</sup>	14.63	29.39	4.59
QP <sub>AON</sub>	28.86 <sup>b</sup>	3.00	3.70	10.04 <sup>b</sup>	9.66	18.66	3.58
QP <sub>QTN</sub>	46.50 <sup>a</sup>	5.60	4.12	18.72 <sup>a</sup>	16.82	35.00	3.87
EEM	0.37	0.45	1.20	5.52	1.24	2.21	0.43
<i>P-values</i>							
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.628	0.145	0.055	0.233	0.304	0.315	0.176
Día (δ <sub>j</sub> )	0.073	0.183	0.438	0.087	0.281	0.089	0.730
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.834	0.345	0.558	0.274	0.703	0.340	0.903

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>‡</sup>C6:0, ácido graso (AG) caproico; C10:0, AG cáprico; C12:0, AG laúrico; C14:0, AG mirístico; C18:0, AG esteárico; C18:1, AG oleico; C18:2, AG linoleico.

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.10; prueba de medias Fisher).

Chen et al. (2010) indicaron que los ácidos grasos más predominantes en queso fresco son C16:0 y C18:0, representando el 36 y 15 % respectivamente del total de los ácidos

grasos libres, y los ácidos grasos de cadena larga insaturada (C18:1) representa el 24% del total. Fox et al. (2004) indicaron que las bacterias iniciadoras contribuyen en la lipólisis que ocurre durante el almacenamiento de quesos elaborados con leche pasteurizada. Debido a que las BAL predominan en los cultivos iniciadores y están también presentes en el queso (Hickey *et al.*, 2006). La mayoría de las BAL tienen enzimas que rompen los enlaces entre los ácidos grasos y glicerol de la grasa láctea. Sin embargo, solo unas pocas especies de BAL tienen enzimas que pueden hidrolizar completamente la grasa láctea, liberando los ácidos grasos individuales (Collins et al., 2003).

### **6.3.8. Atributos Sensoriales**

El análisis sensorial de alimentos con pruebas de consumidor involucra la apariencia, olor, sabor, jugosidad y suavidad. En el Cuadro 16 se muestran los atributos sensoriales del queso panela elaborado de leche tratada con aceite de orégano en nanopartículas durante 7 días de almacenamiento. El efecto de la interacción fue diferente ( $P < 0.05$ ) en sabor; los días tuvieron efecto en el color blanco, el tratamiento afectó el olor, mientras que el tratamiento y los días afectaron la suavidad y aceptabilidad global (AG). El sabor fue mejor aceptado para QP<sub>CON</sub> y QP<sub>QTN</sub>, no así para QP<sub>AOE</sub> y QP<sub>AON</sub>. El color blanco, suavidad y AG disminuyeron ligeramente su aceptación, al día 7 QP<sub>QTN</sub> tuvo el mejor índice de aceptación en color blanco, suavidad y AG, mientras que QP<sub>AOE</sub> tuvo el menor índice de preferencia en esos atributos. En olor, QP<sub>AON</sub> tuvo el mejor índice de preferencia y QP<sub>AOE</sub> presentó un índice menor. Sánchez-Zamora *et al.* (2022) evaluaron color, sabor, suavidad y aceptabilidad global en QP elaborado con AEO en leche, concluyeron que en 15 días el color no presentó diferencias, pero el control fue el más aceptado en los atributos sensoriales, siendo el AOE el menos preferido. Cano-Embuena *et al.* (2017) elaboraron un recubrimiento de QTN con AOE en queso de leche de cabra, e indicaron que los panelistas percibieron diferencias sensoriales en aroma y sabor sin recubrimiento. Concluyeron que la percepción del AO en queso produce un efecto negativo sobre la apreciación sensorial.

**Cuadro 16.** Atributos sensoriales en queso panela elaborado con leche tratada con aceite de orégano nanoparticulado en 7 días de almacenamiento.

Día/Tratamiento <sup>†</sup>	Atributos sensoriales (%) <sup>‡</sup>				
	Color blanco	Olor	Sabor	Suavidad	Aceptabilidad global
<b>Día 1</b>					
QP <sub>CON</sub>	88.67 <sup>a;A</sup>	74.33 <sup>a;AB</sup>	63.00 <sup>ab;AB</sup>	79.33 <sup>a;A</sup>	71.33 <sup>ab;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	88.67 <sup>a;A</sup>	69.00 <sup>b;AB</sup>	56.57 <sup>b;BC</sup>	79.00 <sup>a;A</sup>	63.67 <sup>b;BCD</sup>
QP <sub>AON</sub>	88.00 <sup>a;A</sup>	72.67 <sup>a;AB</sup>	68.67 <sup>a;AB</sup>	80.33 <sup>a;A</sup>	68.33 <sup>b;ABC</sup>
QP <sub>QTN</sub>	89.67 <sup>a;A</sup>	77.00 <sup>a;AB</sup>	72.67 <sup>a;A</sup>	82.33 <sup>a;A</sup>	78.33 <sup>a;A</sup>
<b>Día 7</b>					
QP <sub>CON</sub>	86.00 <sup>a;AB</sup>	77.33 <sup>a;A</sup>	63.00 <sup>a;AB</sup>	77.00 <sup>a;A</sup>	69.67 <sup>a;AB</sup>
QP <sub>AOE</sub>	82.00 <sup>a;B</sup>	66.67 <sup>b;AB</sup>	45.00 <sup>b;C</sup>	67.67 <sup>b;B</sup>	53.33 <sup>b;D</sup>
QP <sub>AON</sub>	87.67 <sup>a;A</sup>	77.33 <sup>b;B</sup>	49.00 <sup>b;C</sup>	72.00 <sup>ab;AB</sup>	57.33 <sup>b;CD</sup>
QP <sub>QTN</sub>	88.33 <sup>a;A</sup>	74.00 <sup>ab;AB</sup>	61.67 <sup>a;AB</sup>	79.67 <sup>a;A</sup>	72.33 <sup>a;AB</sup>
EEM	1.86	2.57	2.94	2.44	2.58
<b>P-values</b>					
Tratamiento (T <sub>i</sub> )	0.264	0.002	0.000	0.005	0.000
Día (δ <sub>j</sub> )	0.040	0.220	0.000	0.000	0.000
(Tδ) <sub>ij</sub>	0.354	0.317	0.011	0.080	0.244

<sup>†</sup>QP<sub>CON</sub>: Queso panela control (sin aceite de orégano ni quitosano), QP<sub>AOE</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de aceite de orégano puro emulsionado, QP<sub>AON</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de orégano, QP<sub>QTN</sub>: Queso panela con 0.05 g/L de nanopartículas de quitosano. EEM: error estándar de la media.

<sup>‡</sup>Índice de aceptabilidad %: Porcentaje de aceptabilidad de los quesos panelas adicionados con orégano líquido y nanoparticulado a 4°C

<sup>ab</sup> Medias en las filas con diferente letra indican diferencia estadística entre los tratamientos (P<0.05).

<sup>A-D</sup> Medias en la misma columna, para todos los tratamientos y días con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0.05).

Garofalo *et al.* (2023) estudiaron en queso fresco de oveja la adición de AEO en concentraciones de 100  $\mu\text{L/L}$  y 200  $\mu\text{L/L}$ , concluyendo que en los quesos enriquecidos con 200  $\mu\text{L/L}$  su aceptación fue menor contraste con el control, lo que afirma que la adición de altas concentraciones del AEO en alimentos procesados afecta el sabor y aroma. Esto puede explicar la menor aceptación del  $\text{QP}_{\text{AOE}}$  en los atributos sensoriales.



## 7. CONCLUSIONES

El tamaño de la nanoencapsulación de  $QP_{QTN}$  y  $QP_{AON}$  validan la formación de nanopartícula. Las características fisicoquímicas, rendimiento y sinéresis mejoraron con la adición de AON. El uso del 0.05 g/L de AOE, AON y QTN estabilizó el pH a través de los días.

En color,  $QP_{QTN}$  presentó mayor luminosidad. En análisis bromatológico, el contenido de proteína incrementó en  $QP_{AOE}$ . La adición del AOE, AON y QTN en leche para elaborar el queso panela modificó la masticabilidad, gomosidad, elasticidad y dureza en 7 días.

En el  $QP_{AOE}$  y  $QP_{AON}$  mejoró la capacidad antioxidante del queso. En el análisis microbiológico, el  $QP_{AOE}$  estimuló el crecimiento de las bacterias ácido lácticas y levaduras, y disminuyó psicrófilos y enterobacterias. En el perfil de ácidos grasos a 7 días, el ácido grado mirístico (C14:0) y ácido graso oleico (C18:1) aumentaron para  $QP_{QTN}$  y  $QP_{AEO}$ , pero disminuyeron para  $QP_{AON}$ .

La evaluación sensorial mostró que  $QP_{AON}$  y  $QP_{QTN}$  mejoraron los atributos sensoriales del queso panela.

En conclusión, las nanopartículas del aceite de orégano en productos lácteos es una alternativa como conservador natural para mejorar la vida útil, promoviendo el sabor y aroma.

## **8. RECOMENDACIONES**

Esta investigación presenta resultados favorables de utilidad para generar nuevas hipótesis, como el uso de nanopartículas a mayor concentración de quitosano y orégano podría ser aplicado en productos lácteos u otros alimentos, con la finalidad de evaluar la vida anaquel sin afectar las características fisicoquímicas, texturales, antioxidantes y sensoriales.

La información científica del quitosano nanoparticulado en productos lácteos es escasa, por lo que se necesitan investigaciones para evaluar el efecto del quitosano en productos lácteos.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, S. (2017). Section I PRODUCTION AND DERIVATIVES OF CHITOSAN. En *Ikram (eds.) Chitosan*.
- Atia, R. M., Mohamed, H. A., AboELRoos, N. A., & Awad, D. A. B. (2023). Growth patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in milk fortified with chitosan and selenium nanoparticles during refrigerated storage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(11). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03757-3>
- Barrera-Ruiz, D. G., Cuestas-Rosas, G. C., Sánchez-Mariñez, R. I., Álvarez-Ainza, M. L., Moreno-Ibarra, G. M., López-Meneses, A. K., Plascencia-Jatomea, M., & Cortez-Rocha, M. O. (2020). Antibacterial activity of essential oils encapsulated in chitosan nanoparticles. *Food Science and Technology (Brazil)*, 40, 568–573. <https://doi.org/10.1590/fst.34519>
- Calvo-Irabién, L. M., Parra-Tabla, V., Acosta-Arriola, V., Escalante-Erosa, F., Díaz-Vera, L., Dzib, G. R., & Peña-Rodríguez, L. M. (2014). Phytochemical diversity of the essential oils of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth) populations along an edapho-climatic gradient. *Chemistry and Biodiversity*, 11(7), 1010–1021. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201300389>
- Cantú-Valdéz, J. A., Gutiérrez-Soto, G., Hernández-Martínez, C. A., Sinagawa-García, S. R., Quintero-Ramos, A., Hume, M. E., Herrera-Balandrano, D. D., & Méndez-Zamora, G. (2020). Mexican oregano essential oils as alternatives to butylated hydroxytoluene to improve the shelf life of ground beef. *Food Science and Nutrition*, 8(8), 4555–4564. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1767>

- Chen, S. X., Wang, J. Z., Van Kessel, J. S., Ren, F. Z., & Zeng, S. S. (2010). Effect of somatic cell count in goat milk on yield, sensory quality, and fatty acid profile of semisoft cheese. *Journal of Dairy Science*, 93(4), 1345–1354. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2366>
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., & Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. En *International Dairy Journal* (Vol. 13, Número 11, pp. 841–866). Elsevier BV. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
- De Souza, G. T., De Carvalho, R. J., De Sousa, J. P., Tavares, J. F., Schaffner, D., De Souza, E. L., & Magnani, M. (2016). Effects of the essential oil from *origanum vulgare* L. on survival of pathogenic bacteria and starter lactic acid bacteria in semihard cheese broth and slurry. *Journal of Food Protection*, 79(2), 246–252. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-172>
- Divya, K., & Jisha, M. S. (2018). Chitosan nanoparticles preparation and applications. En *Environmental Chemistry Letters* (Vol. 16, Número 1, pp. 101–112). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s10311-017-0670-y>
- El Fawal, G. F., Omer, A. M., & Tamer, T. M. (2019). Evaluation of antimicrobial and antioxidant activities for cellulose acetate films incorporated with Rosemary and Aloe Vera essential oils. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1510–1518. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03642-8>
- Fernandes, R. V. de B., Guimarães, I. C., Ferreira, C. L. R., Botrel, D. A., Borges, S. V., & de Souza, A. U. (2017). Microencapsulated Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) Essential Oil as a Biopreservative in Minas Frescal Cheese. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1). <https://doi.org/10.1111/jfpp.12759>

- Fernandes, S. S., & Salas-Mellado, M. de las M. (2017). Addition of chia seed mucilage for reduction of fat content in bread and cakes. *Food Chemistry*, 227, 237–244. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.075>
- Fraj, A., Jaâfar, F., Marti, M., Coderch, L., & Ladhari, N. (2019). *A comparative study of oregano (Origanum vulgare L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/ microspheres: Preparation, physicochemical characterization, and storage stability*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111669>
- Gómez-Sánchez, A., Palou, E., & López-Malo, A. (2011). Antifungal activity evaluation of mexican oregano (*Lippia berlandieri schauer*) essential oil on the growth of *aspergillus flavus* by gaseous contact. *Journal of Food Protection*, 74(12), 2192–2198. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-308>
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R., & Sangwan, R. B. (2009). Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3), 339–347. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2009.00509.x>
- Ibrahim, H. M., El-Bisi, M. K., Taha, G. M., & El-Alfy, E. A. (2015). Chitosan nanoparticles loaded antibiotics as drug delivery biomaterial. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(10), 85–90. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.501015>
- Kandasamy Saravanakumar, A. S. A. V. A. M. H. X. M.-H. W. (2020). Physical and bioactivities of biopolymeric films incorporated with cellulose, sodium alginate and copper oxide nanoparticles for food packaging application. *International Journal of Biological Macromolecules.*, 15, 207–214.

- Lim, S. M. (2013). Microbiological, physicochemical, and antioxidant properties of plain yogurt and soy yogurt. *Korean Journal of Microbiology*, 49(4), 403–414. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3074>
- Marques, G. R., Fernandes, R. V. de B., Lago, A. M. T., Borges, S. V., Bertolucci, S. K. V., Lima, A. de J. B., & Botrel, D. A. (2021). Spray-dried thyme essential oil microparticles using different polymeric matrices. *Drying Technology*, 39(12), 1883–1894. <https://doi.org/10.1080/07373937.2021.1871917>
- Mishra, A. P., Devkota, H. P., Nigam, M., Adetunji, C. O., Srivastava, N., Saklani, S., Shukla, I., Azmi, L., Shariati, M. A., Melo Coutinho, H. D., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. *LWT*, 133. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110116>
- Peniche, H., & Peniche, C. (2011). Chitosan nanoparticles: A contribution to nanomedicine. En *Polymer International* (Vol. 60, Número 6, pp. 883–889). <https://doi.org/10.1002/pi.3056>
- Ramírez-López, C., & Vélez-Ruiz, J. F. (2018). Effect of Goat and Cow Milk Ratios on the Physicochemical, Rheological, and Sensory Properties of a Fresh Panela Cheese. *Journal of Food Science*, 83(7), 1862–1870. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14195>
- Reis, D. R., Ambrosi, A., & Luccio, M. Di. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. En *Future Foods* (Vol. 5). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100126>
- Revilla, I., González-Martín, M. I., Vivar-Quintana, A. M., Blanco-López, M. A., Lobos-Ortega, I. A., & Hernández-Hierro, J. M. (2016). Antioxidant capacity of different

- cheeses: Affecting factors and prediction by near infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5074–5082. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10564>
- Román-Doval, R., Torres-Arellanes, S. P., Tenorio-Barajas, A. Y., Gómez-Sánchez, A., & Valencia-Lazcano, A. A. (2023). Chitosan: Properties and Its Application in Agriculture in Context of Molecular Weight. En *Polymers* (Vol. 15, Número 13). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/polym15132867>
- Sánchez-Zamora, N., Cepeda-Rizo, M. D., Tamez-Garza, K. L., Rodríguez-Romero, B. A., Sinagawa-García, S. R., Maldonado, A. I. L., Flores-Girón, E., & Méndez-Zamora, G. (2022). Oregano essential oil in panela-type cheese: its effects on physicochemical, texture and sensory parameters. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*, 13(1), 258–271. <https://doi.org/10.22319/RMCP.V13I1.5567>
- Saxer, S., Schwenninger, S. M., & Lacroix, C. (2013). Characterization of the microflora of industrial Mexican cheeses produced without added chemical preservatives. *LWT*, 53(1), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.01.016>
- Schuh, J., Batisteli, P., Gargetti, A., Zapparoli, A., Balsan, T. I., Gilioli, A., Zanetti, V. C., Foralosso, F. B., Vargas Junior, Á., Fronza, N., Verruck, S., & da SILVEIRA, S. M. (2022). Basil, marjoram, nutmeg and oregano essential oils as natural preservatives of Quark-type cheese. *Food Science and Technology (Brazil)*, 42. <https://doi.org/10.1590/fst.31322>
- Sedlalíková, J., Doledalová, M., Egner, P., Pavlaiková, J., Krejčí, J., Rudolf, O., & Peer, P. (2017). *Effect of Oregano and Marjoram Essential Oils on the Physical and Antimicrobial Properties of Chitosan Based Systems*. <https://doi.org/10.1155/2017/2593863>

- Silva-Vázquez, R., García-Macías, J. A., Durán-Meléndez, L. A., Hume, M. E., & Méndez-Zamora, G. (2016). Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) oil on turkey slaughter quality. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(10), 177. <https://doi.org/10.19136/era.a4n10.742>
- Stobiecka, M., Król, J., & Brodziak, A. (2022). Antioxidant Activity of Milk and Dairy Products. En *Animals* (Vol. 12, Número 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ani12030245>
- Teodoro, R. A. R., de Barros Fernandes, R. V., Botrel, D. A., Borges, S. V., & de Souza, A. U. (2014). Characterization of Microencapsulated Rosemary Essential Oil and Its Antimicrobial Effect on Fresh Dough. *Food and Bioprocess Technology*, 7(9), 2560–2569. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1302-1>
- Torres-Alvarez, C., Núñez González, A., Rodríguez, J., Castillo, S., Leos-Rivas, C., & Báez-González, J. G. (2017). Perfil químico, actividad antimicrobiana y antioxidante del aceite esencial de naranja y sus aceites concentrados. *CYTA - Journal of Food*, 15(1), 129–135. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1220021>
- Vukić, D., Pavlić, B., Vukić, V., Iličić, M., Kanurić, K., Bjekić, M., & Zeković, Z. (2022). Antioxidative capacity of fresh kombucha cheese fortified with sage herbal dust and its preparations. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2274–2283. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05241-y>
- Yulin Zhu-Changzhu Lib, -Haiying Cui - Lin Lin. (2021). Encapsulation strategies to enhance the antibacterial properties of essential oils in food system. *Food Control*, 123.
- Zantar, S., Yedri, F., Mrabet, R., Laglaoui, A., Bakkali, M., & Zerrouk, M. H. (2014). Effect of *Thymus vulgaris* and *Origanum compactum* essential oils on the shelf life



of fresh goat cheese. *Journal of Essential Oil Research*, 26(2), 76–84.  
<https://doi.org/10.1080/10412905.2013.871673>