

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Tema: Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco.

Trabajo de Investigación, previo a la obtención del Grado Académico de
Magíster en Tecnología de Alimentos

Autor: Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto

Director: Ingeniero Orestes Darío López Hernández, Ph.D.

Ambato – Ecuador

Mayo - 2019

A la Unidad Académica de Titulación de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

El Tribunal receptor del Trabajo de Investigación presidido por Doctora Jacqueline de las Mercedes Ortiz Escobar, e integrado por los señores Ingeniero Milton Rubén Ramos Moya, Ph.D., Licenciada Danaé Fernández Rivero Máster, designados por la Unidad Académica de Titulación de Posgrado de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato, para receptor el Trabajo de Investigación con el tema: “Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco.”, elaborado y presentado por el señor Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto, para optar por el Grado Académico de Magíster en Tecnología de Alimentos; una vez escuchada la defensa oral del Trabajo de Investigación el Tribunal aprueba y remite el trabajo para uso y custodia en las bibliotecas de la UTA.



Dra. Jacqueline de las Mercedes Ortiz Escobar
Presidenta del Tribunal



Ing. Milton Rubén Ramos Moya, Ph.D.
Miembro del Tribunal



Lcda. Danaé Fernández Rivero, M.Sc.
Miembro del Tribunal

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La responsabilidad de las opiniones, comentarios y críticas emitidas en el Trabajo de Investigación presentado con el tema: “Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco” le corresponde exclusivamente a: Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto, Autor bajo la Dirección de Ingeniero Orestes Darío López Hernández, Ph.D. Director del Trabajo de Investigación; y el patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.



Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto

C.C. 060358251-1

AUTOR



Ingeniero Orestes Darío López Hernández, Ph.D.

C.C. 175478486-4

DIRECTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que el Trabajo de Investigación, sirva como un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según normas de la Institución.

Cedo los Derechos de mi trabajo, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad.



Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto

C.C. 060358251-1

AUTOR

ÍNDICE GENERAL

Portada.....	i
A la Unidad Académica de Titulación.....	ii
Autoría del trabajo de investigación	iii
Derechos de autor.....	iv
Agradecimiento	x
Dedicatoria	xi
resumen Ejecutivo.....	xii
Executive Summary	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I.....	3
EL PROBLEMA.....	3
1.1 Tema.....	3
1.2 Planteamiento del problema	3
1.2.1 Contextualización	4
1.2.2 Análisis Crítico	5
1.2.3 Prognosis.....	6
1.2.4 Formulación del problema	6
1.2.5 Interrogantes.....	6
1.2.6 Delimitación del objeto de investigación	6
1.3 Justificación	7
1.4 Objetivos.....	7
1.4.1 General.....	7
1.4.2 Específicos	8
CAPITULO II.....	9
MARCO TEÓRICO.....	9
2.1 Antecedentes Investigativos	9
2.2 Fundamentación Filosófica.....	11
2.3 Categorías Fundamentales.....	11
2.3.1 Marco Conceptual De La Variable Independiente	11

2.3.1.1	Queso fresco	11
2.3.1.2	Características físico químicas del queso fresco	12
2.3.1.3	Microencapsulación	13
2.3.1.4	Microencapsulación de aceites esenciales.....	14
2.3.2	Marco conceptual de la variable dependiente.....	15
2.3.2.1	Concentración de agua en el queso fresco	15
2.3.2.2	Tiempo de vida útil del queso fresco	15
2.3.2.3	Patógenos presentes en el queso fresco.....	16
2.4	Hipótesis	16
CAPITULO III		17
METODOLOGÍA.....		17
3.1	Modalidad básica de la investigación	17
3.2	Nivel o tipo de investigación	17
3.3	Población y muestra	18
3.3.1	Población.....	18
3.3.2	Muestra.....	18
3.4	Operacionalización de las variables	19
3.4.1	Variable Independiente	19
3.4.2	Variable Dependiente	20
3.5	Plan de recolección de información	22
3.5.1	Microencapsulación del aceite esencial de tomillo	22
3.5.2	Rendimiento del proceso de microencapsulación.....	22
3.5.3	Determinación de la eficiencia de microencapsulación mediante cromatografía gaseosa.....	23
3.5.4	Elaboración de queso fresco con inclusión de microencapsulado	24
3.5.5	Análisis proximal.....	25
3.5.5.1	Humedad	25
3.5.5.2	Grasa.....	26
3.5.5.3	Proteína.....	26
3.5.6	Análisis fisicoquímicos	27
3.5.6.1	pH	27

3.5.6.2	Acidez titulable	28
3.5.7	Color	28
3.5.8	Análisis de perfil de textura	29
3.5.9	Análisis microbiológicos.....	29
3.5.10	Análisis sensorial	30
3.6	Plan de procesamiento de la información	30
CAPITULO IV.....		31
ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS		31
4.1.1	Rendimiento de microencapsulación	31
4.1.2	Eficiencia de microencapsulación.....	32
4.1.3	Análisis del contenido de componentes esenciales mediante cromatografía de gases.....	32
4.1.4	Análisis proximal.....	35
4.1.5	Análisis fisicoquímicos	37
4.1.6	Color	38
4.1.7	Análisis de perfil de textura	40
4.1.8	Análisis microbiológicos.....	42
4.1.8.1	Recuento de aerobios-mesófilos	43
4.1.8.2	Recuento de mohos y levaduras	44
4.1.8.3	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
4.1.8.4	<i>Escherichia coli</i>	47
4.1.8.5	<i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i>	48
4.2	Análisis sensorial	49
4.3	Verificación de hipótesis	50
CAPITULO V.....		51
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		51
5.1	Conclusiones	51
5.2	Recomendaciones	52
CAPITULO VI.....		53
PROPUESTA		53
6.1	Datos Informativos.....	53

6.2	Antecedentes de la propuesta	53
6.3	Justificación	55
6.4	Objetivos.....	55
6.4.1	General	55
6.4.2	Específicos	55
6.5	Análisis de factibilidad.....	56
6.6	Fundamentación	56
6.6.1	Microencapsulación	56
6.7	Metodología	57
6.8	Administración	59
6.9	Previsión de la evaluación	60
	BIBLIOGRAFÍA	61

ÍNDICE TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla N° 1:	Operacionalización de la variable independiente.....	19
Tabla N° 2:	Operacionalización de la variable dependiente	20
Tabla N° 3:	Rendimiento de microencapsulación	31
Tabla N° 4:	Eficiencia de microencapsulación	32
Tabla N° 5:	Cuantificación de componentes esenciales del AE de tomillo y su microencapsulado	33
Tabla N° 6:	Análisis proximal del queso sin y con inclusión	36
Tabla N° 7:	Color del queso sin y con inclusión.....	39
Tabla N° 8:	Análisis de perfil de textura	41
Tabla N° 9:	Análisis microbiológicos.....	42
Tabla N° 10:	Modelo operativo (plan de acción).....	58
Tabla N° 11:	Administración de la propuesta.....	59
Tabla N° 12:	Previsión de la evaluación	60
Gráfico N° 1:	Cromatograma del AE de tomillo.....	34
Gráfico N° 2:	Cromatograma del microencapsulado de AE de tomillo	35
Gráfico N° 3:	Acidez titulable del queso sin y con inclusión	37
Gráfico N° 4:	pH del queso sin y con inclusión	38
Gráfico N° 5:	Recuento de aerobios – mesófilos del queso sin y con inclusión	43
Gráfico N° 6:	Recuento de Staphylococcus aureus del queso sin y con inclusión.....	45
Gráfico N° 7:	Recuento de Escherichia coli del queso sin y con inclusión	47
Gráfico N° 8:	Análisis sensorial del queso sin y con inclusión	49

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme la vida, la fortaleza y la sabiduría para culminar con éxito esta etapa, a mi madre Myriam que siempre ha estado a mi lado apoyándome, dándome amor y fuerzas para superar cada obstáculo y poder cumplir mis metas, a mi padre Euclides por su apoyo constante, su amor y su enseñanza, agradezco a mis hermanos Maryela, Juan Carlos y Luis por ser mi ejemplo e inspiración en cada peldaño de mi vida, a María Fernanda con quien compartí mis alegrías y tristezas durante estos años de formación profesional, enseñándome y siendo un ejemplo vivo de sencillez, perseverancia y esfuerzo continuo.

Al Ing. Orestes López Ph.D. por su acertada guianza en la ejecución de este trabajo, por compartir sus conocimientos y brindarme su apoyo.

A la Ph.D. Omaira Márquez, Ing. Mónica Silva, Ing. Aracely Pilamala, Ph.D. Víctor García e Ing. Mario Álvarez por su colaboración desinteresada en el desarrollo de este trabajo.

Al proyecto Canje de Deuda de la FCIAL y al grupo de investigación Andes Bioactivos

Josué Bonifaz

DEDICATORIA

A Dios por su magnificencia y su amor incondicional conmigo a pesar de mis muchos errores.

A mis padres a quienes les debo todo lo que soy y son el motivo de mi continuo deseo de superación.

A mis hermanos en quienes he visto la senda por la cual transitar en la vida.

A mi sobrina Renatta a quien quiero mucho y aspiro apoyar cuando lo necesite.

“Gracias por tanto, perdón por tan poco”

Josué

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

TEMA:

“EFECTO DE LA INCLUSIÓN DE MICROENCAPSULADOS DE TOMILLO EN LA ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO.”

AUTOR: Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto

DIRECTOR: Ingeniero Orestes Darío López Hernández, Ph.D.

FECHA: 26 de Marzo del 2019

RESUMEN EJECUTIVO

Las propiedades antimicrobianas de los aceites esenciales, en especial el de tomillo por su contenido de timol, ha permitido su uso como antimicrobiano. Se microencapsuló el aceite esencial de tomillo mediante secado por aspersión, empleando maltodextrina y goma arábiga como materiales de la pared polimérica, se evaluó su efecto en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas y sensoriales del queso fresco. Se comparó el queso con inclusión de microencapsulados en una concentración de 0,5 % en comparación con un queso control (sin inclusión de microencapsulados). El microencapsulado contenía 20 % (p/p) de carga de aceite esencial de tomillo, se logró una eficiencia de microencapsulación del 90 %. Los compuestos principales identificados en el aceite esencial de tomillo libre y en el aceite extraído de las microencápsulas fueron timol, carvacrol, linalol, p-cimeno y terpineol, los cuales fueron cuantificados mediante cromatografía gaseosa. El recuento de microorganismos aerobios-mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en el queso con inclusión de las microcápsulas de aceite esencial de tomillo fue menor que en el queso sin inclusión del microencapsulado. El aceite microencapsulado permitió una reducción del conteo microbiano a los 17 días de almacenamiento del queso control con respecto al que se incluyó el microencapsulado de 5,05 UFC/g a 3,90 UFC/g para el recuento de aerobios- mesófilos, de 8,38 UFC/g a 7,57 UFC/g para el recuento de mohos y levaduras, de 6,25 UFC/g a 5,00 UFC/g para el recuento de *S. aureus*, de 8,18 UFC/g a 7,51 UFC/g para el recuento de *E. coli*, lo que prolongó la vida útil del producto. El estudio confirmó el efecto antimicrobiano del aceite esencial de tomillo microencapsulado y el mantenimiento de la actividad antimicrobiana del microencapsulado durante el tiempo de almacenamiento sin modificar las propiedades fisicoquímicas, organolépticas y sensoriales del queso fresco.

Descriptor: actividad antimicrobiana, secado por aspersión, aceite esencial de tomillo, lácteo, microcápsulas, reducción del conteo microbiano.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

THEME:

"EFFECT OF THE INCLUSION OF THYME MICROENCAPSULATES IN THE
PREPARATION OF FRESH CHEESE."

AUTHOR: Ingeniero Josué David Bonifaz Nieto

DIRECTED BY: Ingeniero Orestes Darío López Hernández, Ph.D.

DATE: March 24th, 2019

EXECUTIVE SUMMARY

The antimicrobial properties of essential oils, especially thyme for its thymol content, has allowed its use as an antimicrobial. The thyme essential oil was microencapsulated by spray drying, using maltodextrin and gum arabic as polymer wall materials, its effect on the physicochemical, microbiological, organoleptic and sensory properties of fresh cheese was evaluated. The cheese was compared with inclusion of microencapsulated in a concentration of 0.5% compared to a control cheese (without inclusion of microencapsulated). The microencapsulation contained 20% (w / w) of thyme essential oil load, a microencapsulation efficiency of 90% was achieved. The main compounds identified in the essential oil of free thyme and in the oil extracted from the microencapsules were thymol, carvacrol, linalool, p-cymene and terpineol, which were quantified by gas chromatography. The count of aerobic-mesophilic microorganisms, molds and yeasts, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in the cheese including the thyme essential oil microcapsules was lower than in the cheese without inclusion of the microencapsulation. The microencapsulated oil allowed a reduction of the microbial count after 17 days of storage of the control cheese with respect to which the microencapsulation of 5.05 CFU / g to 3.90 CFU / g was included for the aerobic-mesophilic count of 8.38 CFU / g to 7.57 CFU / g for the mold and yeast count, from 6.25 CFU / g to 5.00 CFU / g for the *S. aureus* count, from 8.18 CFU / g to 7.51 CFU / g for the *E. coli* count, which extended the shelf life of the product. The study confirmed the antimicrobial effect of the microencapsulated thyme essential oil and the maintenance of the micro-encapsulated antimicrobial activity during the storage time without modifying the physicochemical, organoleptic and sensory properties of the fresh cheese.

Keywords: antimicrobial activity, spray drying, thyme essential oil, milk, microcapsules, microbial count reduction.

INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos denominadas (ETAs) son originadas por múltiples deficiencias en los procesos de manipulación, conservación, transporte, distribución y comercialización. Dentro del grupo de los productos lácteos específicamente el queso fresco es un alimento ampliamente consumido por la población ecuatoriana; sin embargo se desconoce la calidad bacteriológica del mismo (Vásquez, Salhuana, Jiménez, y Abanto, 2018) y lo convierte en un medio propenso a la proliferación de microorganismos y que al ser ingerido representa un riesgo para la salud del consumidor. En la industria quesera es latente la preocupación por el control de los microorganismos patógenos y encontrar el mecanismo más idóneo para garantizar inocuidad y prolongar la vida en anaquel (Morales, Higuera, y Cadena, 2015).

Las tendencias en la industria alimentaria incluyen la utilización de compuestos con actividad biológica, preferentemente de origen vegetal, en la dieta humana (Cenobio-Galindo *et al.*, 2017). Las sustancias de origen natural han sido usadas con el propósito de proveer calidad sensorial, microbiológica y reemplazar sustancias que han sido catalogadas desde hace varios años como los grandes actores en la causa de enfermedades modernas. Los Aceites Esenciales (AEs) derivados de las plantas son conservantes antimicrobianos que otorgan características organolépticas y mejoras en el proceso de elaboración, además cubren un amplio espectro de actividades denominadas nutracéuticas y biocida contra organismos como bacterias y hongos (Asensio, 2013).

Los AEs son extraídos desde hace muchas décadas de plantas empleadas con fines medicinales, dentro de ellos resalta el tomillo que tradicionalmente ha sido utilizado como astringente, expectorante, antiespasmódico, antiséptico y antifúngico (Morales *et al.*, 2015). El timol y carvacrol presentes en el AE de tomillo (*thymus vulgaris*) tienen efectos inhibitorios sobre bacterias y hongos (García y Palou, 2008).

La microencapsulación de compuestos con actividad biológica es el proceso de recubrimiento de dichos compuestos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico (Lopretti *et al.*, 2007). La microencapsulación es una tecnología que puede contribuir al procesamiento de los alimentos al preservar su contenido nutricional, coadyuvar con una liberación controlada en la formulación y facilitar su manipulación. La liberación oportuna de los microencapsulados mejora la eficacia de los aditivos, amplía el campo de aplicación de los ingredientes alimentarios y asegura la dosis óptima, mejorando así la rentabilidad para el fabricante de alimentos (Guevara, 2007).

El presente trabajo pretende medir el efecto de la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo en la elaboración de queso fresco, con la finalidad de influir positivamente en las propiedades organolépticas, fisicoquímicas y sensoriales, así como extender la vida en anaquel y evitar la proliferación de agentes patógenos.

CAPITULO I

1. EL PROBLEMA

1.1 TEMA

Efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hace algunos siglos los alimentos fueron considerados como la fuente de energía necesaria para el desarrollo y mantenimiento de la vida. El progresivo conocimiento de los fundamentos fisiológicos de la nutrición permitió establecer, en primer lugar, el papel de los diferentes principios activos, más tarde, el de las vitaminas, minerales y otros micronutrientes, llegándose a saber la composición nutricional de cada alimento y el papel que juegan los mismos en la alimentación y nutrición humana (Dehesa, 2012).

En la actualidad la comprobación de la calidad e inocuidad de los alimentos es de obligatorio cumplimiento por los productores y los gobiernos como una forma de prevención, ya que las ETAs se han incrementado en muchos países (Organización Mundial de la Salud, 2007).

El queso fresco es un producto que con un manejo deficiente de elaboración contribuye a su contaminación con patógenos, aunque esto en general puede ocurrir en varios estados de la cadena producción-consumo, dando origen a ETAs que son una fuente importante de morbi-mortalidad a nivel mundial (Estrella, 2013). Debido a esta notoria susceptibilidad de este alimento a una contaminación microbiana, en esta investigación se plantea incluir microencapsulados de aceite esencial de tomillo en dicha matriz alimentaria para reducir la carga patógena e incrementar su vida en anaquel.

1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN

El Codex Alimentarius define al queso como el producto de textura blanda, semidura, dura y extra dura, que puede estar sujeto a un proceso de maduración y no maduración, el cual se obtiene por la coagulación de forma total o parcial de la proteína de la leche, esto debido al mecanismo de acción provisto del cuajo y por el escurrimiento parcial del lactosuero resultante de dicha coagulación, en consecuencia, la proteína del queso contiene un valor superior en comparación a la materia prima sobre la cual se elaboró este alimento (Food and Agricultural Organization & Organización Mundial de la Salud, 2013).

En relación al queso fresco, (González Villarreal, 2002) lo define como el alimento que se obtiene por coagulación de la leche pasteurizada, con un porcentaje de grasa láctea entera o descremada, la cual contiene caseína de la leche que se encarga de retener de esa materia grasa un porcentaje de ácido láctico y sustancias minerales.

Los quesos frescos están asociados a intoxicaciones alimentarias causadas por microorganismos patógenos, debido a una deficiente higiene en el proceso de elaboración, ruptura de la cadena de frío y por una inadecuada pasteurización de la leche, por lo cual se alteran sus propiedades intrínsecas y su tiempo de vida útil (Rodríguez Gomez, 2010).

Existen aditivos artificiales para productos lácteos usados ampliamente en el queso fresco para conservar sus cualidades sensoriales y minimizar los riesgos de contaminación; no obstante es primordial hacer un uso responsable de estos aditivos acorde a la normativa nacional vigente y la dosificación requerida (FAO y OMS, 2013). Ante lo expuesto anteriormente el objeto de este estudio es proponer una alternativa segura de reducción microbiana y conservación del queso fresco mediante la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo.

Los AEs son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (ingredientes activos) (Martinez, 2003). Con el fin de aprovechar las propiedades bioactivas de los aceites esenciales se aplicó la microencapsulación como un método que rodea a una base sólida, líquida o gaseosa (núcleo) con un recubrimiento resistente, inmisible y adherente con el núcleo, para posteriormente ser incluido en una matriz alimentaria.

1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO

Con este trabajo se trata de evaluar el efecto de incluir microencapsulados de tomillo en la elaboración de queso fresco y así obtener una adecuada calidad microbiológica, sensorial, y fisicoquímica de este producto. Es primordial establecer el nivel óptimo de inclusión de microencapsulados de AE de tomillo en el queso fresco, para así contrarrestar una posible alteración de las propiedades sensoriales que posee este alimento.

En su mayoría las microempresas lácteas de tipo artesanal desconocen el manejo de Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Higiene, las cuales dentro de un negocio dedicado a la fabricación de alimentos es trascendental su conocimiento, porque acoger estas normas, reglamentos y procedimientos garantiza alimentos saludables, inocuos y de calidad. En caso contrario, esto repercute a continuar con un inadecuado proceso de elaboración, elevar los riesgos de contraer ETAs, así como pérdidas económicas y desprestigio de la empresa.

1.2.3 PROGNOSIS

Por medio de este trabajo en el cual se incluirá microencapsulados de aceite esencial de tomillo en el proceso de elaboración de queso fresco, se favorecerá de manera principal la calidad microbiológica y la vida útil del alimento.

La microencapsulación es una tecnología de conservación de agentes activos que permite dentro de los alimentos favorecer la disminución de la proliferación de agentes microbianos patógenos e impedir la pérdida de propiedades organolépticas, sensoriales y nutricionales del aceite esencial.

1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo influirá la inclusión de microencapsulados de tomillo en la calidad microbiológica, propiedades organolépticas, fisicoquímicas, sensoriales y vida útil del queso fresco?

1.2.5 INTERROGANTES

¿Los microencapsulados de tomillo poseen características antimicrobianas que contribuyan a la prolongación de la vida útil del queso fresco?

¿La inclusión de microencapsulados de tomillo en el queso fresco influirá en sus propiedades organolépticas, fisicoquímicas y sensoriales?

1.2.6 DELIMITACIÓN DEL OBJETO DE INVESTIGACIÓN

Área: Tecnología de Alimentos

Subárea: Alimentación

Sector: Industrial

Subsector: Lácteos

1.3 JUSTIFICACIÓN

Según estudios realizados por distintas entidades se puede decir que el queso tipo fresco posee una gran contaminación microbiana que puede afectar la calidad del producto. Esta es la principal razón por la que se realiza este trabajo de investigación, en el cual se desarrolla una alternativa natural mediante la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo en el proceso de elaboración de este alimento que permita inhibir la presencia de patógenos y extender su vida útil.

Los aceites esenciales y extractos de origen vegetal contienen altos niveles de antimicrobianos con uso potencial en la industria alimenticia, en este sentido el tomillo cuyo componente principal es el timol posee capacidad antimicrobiana para contrarrestar ciertos microorganismos del queso fresco tales como: *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris* y *L. monocytogenes*.

La inclusión se basa en medir la liberación de los agentes activos que posee el microencapsulado de AE de tomillo en el queso fresco, con ello permitirá cumplir los requerimientos de calidad en aspectos microbiológicos, fisicoquímicos y organolépticos, así como las necesidades alimentarias del consumidor.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 GENERAL

Evaluar el efecto de la inclusión de microencapsulados de tomillo en el proceso de elaboración de queso fresco, sobre la calidad del producto obtenido.

1.4.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Microencapsular mediante secado por aspersión el aceite esencial de tomillo en mezclas de polímeros adecuados para uso en alimentos.
- ✓ Determinar el nivel óptimo de inclusión de microencapsulados de tomillo en un único proceso de elaboración de queso fresco.
- ✓ Evaluar la calidad microbiológica, físico-química, organoléptica y sensorial de los quesos obtenidos.
- ✓ Determinar el tiempo de vida útil del queso fresco con inclusión de microencapsulados de tomillo.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

La presencia de microorganismos patógenos en los productos lácteos es un problema de suma importancia en la salud pública, en este sentido el consumo de queso en sus diferentes presentaciones ha estado asociado con las ETAs en diferentes partes del mundo (Prates, Rauber, Júlia, y Goldbeck, 2017). De acuerdo a la Normativa Técnica ecuatoriana, para el caso particular de los quesos frescos, establece que debe tener en su composición, ausencia de microorganismos patógenos, con lo cual se asegura una adecuada conservación y así mantener su calidad (INEN 1528, 2012). Según lo expuesto la elaboración del queso fresco sufre importantes cambios desde convertirlo en un arte empírico a una tecnología industrial con un sustento científico encaminado a la producción de alimentos con parámetros microbiológicos y sensoriales aceptables.

Los consumidores de hoy en día buscan alimentarse de productos lo más naturales posibles que en su elaboración implique una mayor utilización de conservantes naturales en lugar de conservantes artificiales. Bajo este propósito, se ha empezado a utilizar conservantes naturales de origen herbáceo en la producción de alimentos (Ricardo Parra, 2011). Dentro de lo expuesto se encuentran el carvacrol y timol, los cuales son agentes antimicrobianos utilizados en la conservación de alimentos que provienen de especies herbáceas como el orégano y el tomillo respectivamente (García y Palou, 2008).

En un trabajo realizado sobre las propiedades antimicrobianas del timol y el carvacrol en películas plásticas con un recubrimiento en forma de microcápsulas, permitió la inhibición del crecimiento de forma significativa de un amplio espectro de microorganismos tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria*

innocua, *Saccharomyces cerevisiae* y *Aspergillus niger* (Guarda, Rubilar, Miltz, y Galotto, 2011).

Los AEs son líquidos aromáticos y volátiles extraídos de plantas de uso potencial en la industria alimentaria. Los componentes químicos de los AE son metabolitos secundarios, los cuales juegan un papel importante como defensa de la planta y además poseen propiedades antimicrobianas (Hyldgaard, Mygind, y Meyer, 2012).

La microencapsulación es un método utilizado en la producción alimenticia que no demuestra deterioro de los principios activos de los AE, así como su composición y propiedades antimicrobianas (Leimann, Gonçalves, Machado, y Bolzan, 2009). Hay reportes sobre el efecto de inclusión de productos microencapsulados de AE en el queso, como es el caso del AE de romero para la extensión de la vida útil del queso fresco Minas, elaborado en Brasil, cuyas conclusiones fueron que a una concentración del 0,5 % del AE permitió una reducción microbiana de 1,36 ciclos log después de 3 días de almacenamiento y 0,73 ciclos log después de 15 días de almacenamiento en comparación con el tratamiento control.

Además es importante señalar que el proceso de microencapsulación no alteró la composición química del AE de romero y fue efectivo en el control de la acidez del queso (Fernandes *et al.*, 2017).

En una investigación realizada en Portugal sobre la funcionalización de un queso maduro con microencapsulado de hinojo y manzanilla se demostró que no hay un efecto significativo sobre los parámetros nutricionales, y si se mostró una mayor actividad antioxidante después del séptimo día de almacenamiento (Caleja *et al.*, 2016).

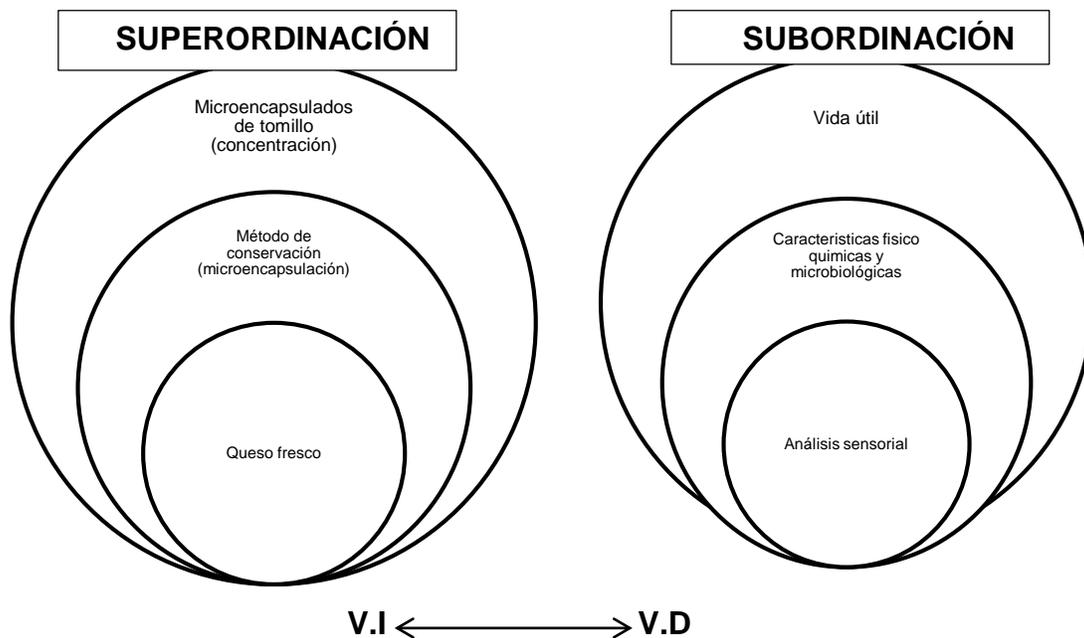
Este estudio enmarca una visión general sobre la inclusión de aceites esenciales microencapsulados en el queso fresco, junto a los mecanismos de acción

relacionados a favor de obtener productos lácteos inocuos, de calidad y con un importante aumento de su vida en anaquel.

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

El trabajo se fundamentó en los principios del paradigma positivista que considera que es posible establecer leyes generales, que serán independientes del tiempo.

2.3 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES



2.3.1 MARCO CONCEPTUAL DE LA VARIABLE INDEPENDIENTE

2.3.1.1 Queso fresco

El queso es un alimento indispensable en la dieta básica del ser humano ya que conserva los componentes insolubles de la leche, por efecto de la coagulación de la leche se obtiene la caseína y la materia grasa, seguida de un desuerado que es la separación del lactosuero de la cuajada (Estrella, 2013). Cuando se coagula la

leche por acción de agentes coagulantes y se drena parcialmente el suero se obtiene el queso, si la cuajada del queso no está madura, se prensa y se sala, se le denomina queso tipo fresco (FAO y OMS, 2013).

El queso fresco es elaborado con leche natural de vaca, pasteurizada, no acidificada y que puede ser entera o parcialmente descremada. Su composición incluye un porcentaje elevado de agua y por ello es altamente perecedero, de ahí que tiene que conservarse bajo refrigeración desde el momento de su elaboración (Cruz Guerra, 2006).

2.3.1.2 Características físico químicas del queso fresco

El queso fresco posee diferencias respecto a otros tipos debido a su composición y características físico-químicas, lo que especifica una variabilidad sensorial; en este sentido las principales causas de variabilidad se pueden atribuir a la composición de la leche de partida, al proceso de trabajo de la cuajada (coagulación y desuerado) y el almacenamiento (B. Islas, 2006).

Las propiedades físicas del queso en la industria alimentaria se pueden establecer al utilizar un penetrómetro, que es un método que permite medir la dureza del alimento; también se puede determinar el grado de dureza del alimento al someterlo a un estrés ejercido por un texturómetro, en el cual el producto es sometido a una doble compresión que simula el proceso de masticación humana (Zuñiga, Ciro, y Osorio, 2007).

La composición química como la acidez, concentración de sal, proteínas y contenido de grasas son de importancia fundamental en el momento de evaluar la calidad de un queso, la acidez en un queso no solo tiene incidencia sobre el sabor, sino que además tiene influencia directamente sobre los cambios que experimenta la red de proteínas que constituye la cuajada del queso, teniendo esto un papel fundamental en los fenómenos de sinéresis y textura final (Pinho, Mendes, Alves, y Ferreira, 2004).

2.3.1.3 Microencapsulación

La microencapsulación es un método que consiste en producir micropartículas que protegen las sustancias activas microencapsuladas, es decir el material a proteger esta incrustado dentro de otro material o sistema conocido como material de pared (Castro-Rosas *et al.*, 2017). Es uno de los métodos más importantes en la última década para la conservación de los principios activos de compuestos naturales que son empleados como aditivos alimentarios (Gil Garzón, Alzate Tamayo, Sánchez-Camargo, y Millán Cardona, 2011). Este método tiene diferentes propósitos en un producto alimenticio, entre los que se destacan: la conservación y liberación controlada en el tiempo de nutrientes, disminución de la higroscopicidad, transformación de líquidos a sólidos, estabilidad durante el almacenamiento, mejoramiento de cualidades organolépticas y funcionales de productos alimenticios. (Sandoval Aldana, Rodríguez Sandoval, y Ayala Aponte, 2011).

Además, la microencapsulación permite potenciar sabores y aromas específicos, enmascarar olores, aumentar bioactividades, pueden ser utilizados también como conservantes para extender la vida útil de la matriz alimentaria (Paulo y Santos, 2017).

El producto resultante de la microencapsulación recibe la denominación de “microesfera” o “microcápsula”, en las microcápsulas el principio activo puede ser de naturaleza líquida o gaseosa, se encuentra altamente disperso bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas en una matriz encapsulante. (Lopretti *et al.*, 2007).

En las microcápsulas el principio activo puede ser de naturaleza líquida, se encuentra incluido en una especie de reservorio recubierto por una fina película de material. En el caso de las microesferas, el principio activo se encuentra altamente disperso bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas en una matriz de

material que puede ser igual al recubrimiento (Alvarenga Botrel *et al.*, 2012). Las microcápsulas precautelan que la matriz alimentaria presente resistencia a las condiciones de procesamiento y empaquetado, en consecuencia la mejoría del sabor, aroma, estabilidad, valor nutritivo y apariencia de los productos resultantes (Ricardo Parra, 2011).

La pared del microencapsulado es la estructura formada por el agente microencapsulante alrededor de la sustancia microencapsulada o núcleo, dicha pared cumple la función de protección del núcleo contra el deterioro así como del control en la liberación de la sustancia microencapsulada, bajo condiciones deseadas (Young, Sarda, y Rosenberg, 1993). La microencapsulación otorga una solución eficaz en la reducción de volatilidad, higroscopicidad y reactividad; asimismo en el incremento de la estabilidad de productos que presentan condiciones ambientales adversas (Favaro-trindade, Santana, Monterrey-Quintero, Trindade, y Netto, 2010).

Los procesos de microencapsulación se clasifican en procesos químicos, los cuales involucran técnicas de coacervación, co-cristalización, polimerización interfacial, gelificación iónica, incompatibilidad polimérica, atrapamiento en liposomas e inclusión molecular; y en procesos mecánicos están las técnicas de secado por aspersión, secado por congelamiento/enfriamiento y extrusión (Madene y Jacquot, 2006).

2.3.1.4 Microencapsulación de aceites esenciales

La microencapsulación de AEs es una nueva tecnología dentro de la industria alimentaria ya que previene la volatilización y extiende la vida útil de los componentes biológicos (Moreno, 2010). El secado por aspersión requiere de una emulsión alimenticia optimizada en condiciones de emulsificación, composición y homogeneización, dentro de este proceso el tamaño de las gotas de aceite puede ser influenciado por la composición y por la presión de homogeneización de la

emulsión, así también la grasa extraíble, la morfología y tamaño de la partícula que son parámetros físico-químicos que reflejan una buena eficiencia en la microencapsulación e indican una buena estabilidad oxidativa (Drusch, 2007).

2.3.2 MARCO CONCEPTUAL DE LA VARIABLE DEPENDIENTE

2.3.2.1 Concentración de agua en el queso fresco

El queso fresco posee un alto contenido acuoso dentro de un intervalo de valores entre el 50 % y el 80 %, este contenido acuoso conlleva a una reducción en el tiempo de vida útil del alimento así como es un factor importante en la textura final donde con alta humedad mayor cantidad de sólidos presentes en el lactosuero y con baja humedad se asocia a un queso duro y con poca elasticidad, Ante la ausencia de un proceso de maduración es primordial pasteurizar la leche para inhibir el desarrollo de gérmenes patógenos en el producto final.

2.3.2.2 Tiempo de vida útil del queso fresco

El queso fresco es un alimento con alto contenido de proteínas y agua, cuya producción constituye una de las actividades económicas más importantes de la región interandina del Ecuador. Este producto es altamente susceptible al crecimiento de los microorganismos, lo que constituye un riesgo para la salud de los consumidores.

En el queso fresco, el tiempo de vida útil es afectado por factores ambientales y fisicoquímicos, por el envasado, por los métodos de fabricación y por el uso de compuestos activos empleados expresamente para prolongar su vida útil, pero principalmente por la calidad de la materia prima de la que procede.

Otro factor que determina la duración de la vida útil de los quesos es la temperatura de almacenamiento durante su comercialización.

2.3.2.3 Patógenos presentes en el queso fresco

La leche constituye un excelente sustrato para la proliferación de microorganismos debido a su alto contenido de nutrientes, los productos elaborados a partir de este alimento y que no son sometidos a tratamientos rigurosos como la pasteurización antes de ser consumidos, son los principales focos de transmisión de microorganismos causantes de enfermedades como la salmonelosis, enfermedades entéricas, etc. (Estrella, 2013).

Las altas cargas de coliformes totales, coliformes fecales y *E. coli* evidencian la contaminación del producto, ya sea por la materia prima utilizada o por fallas en el proceso de elaboración o comercialización antes de la venta al consumidor; así mismo el elevado recuento de bacterias mesófilas y *S. aureus* evidencia malas condiciones sanitarias y representa un riesgo potencial para la salud del consumidor (Cristóbal y Maurtua, 2003).

2.4 HIPÓTESIS

Ho La inclusión del microencapsulado de tomillo en el queso fresco no influye en la calidad microbiológica, físico-química, organoléptica y sensorial.

Hi La inclusión del microencapsulado de tomillo en el queso fresco influye en la calidad microbiológica, físico-química, organoléptica y sensorial.

SEÑALAMIENTO DE LAS VARIABLES

Variable Independiente: Inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo.

Variable Dependiente: Análisis proximales, fisicoquímicos, perfil de textura, calidad microbiológica y sensorial del queso fresco.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

En este trabajo se recopiló información actualizada de artículos científicos, libros y tesis, tomando como prioridad el análisis experimental cuantitativo en el laboratorio mediante el cual se manipularon las variables indagatorias y se alcanzaron los objetivos propuestos.

3.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo se desarrolló mediante datos adquiridos en el laboratorio, con el fin de determinar el efecto de la inclusión del microencapsulado de aceite esencial de tomillo en la elaboración de queso fresco. En particular para este trabajo la metodología es de tipo:

✓ **Bibliográfica**

Para el desarrollo de este trabajo se realizó una revisión de la literatura relevante referente al tema de estudio, con lo que se estableció hipótesis y se construyó un diseño experimental, que después permitió analizar y discutir los resultados reportados.

✓ **Experimental**

En el laboratorio se midió el efecto de la inclusión del microencapsulado de aceite esencial de tomillo en el proceso de elaboración del queso fresco, adicionalmente se ponderó la evaluación físico química, sensorial y microbiológica.

✓ **Explicativa**

Este trabajo se sustentó en las necesidades respecto a una determinada realidad del proceso de elaboración de queso fresco, el cual presenta múltiples falencias de carácter microbiológico, físico químico y sensorial inmerso desde su producción hasta su distribución como producto en sí. Se resaltó la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo como agente de reducción y control de estos factores de inocuidad, y su aumento de vida en anaquel de estos alimentos de la industria láctea.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1 POBLACIÓN

Se consideró como población de este trabajo al queso fresco, el cual se elaboró de acuerdo a los preceptos de Salazar, (2013), la adquisición del aceite esencial de tomillo fue provisto por la empresa Isabrubotanik y la microencapsulación a lo especificado en el método descrito por Taylor *et al.*, (2012).

3.3.2 MUESTRA

Se realizaron 3 repeticiones para cada ensayo de 2 muestras de queso sin y con inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo. El análisis sensorial se efectuó mediante un panel de degustación conformado por 30 personas.

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.4.1 Variable independiente

Tabla N° 1: Operacionalización de la variable independiente

Conceptualización	Categoría	Indicador	Ítem	Técnica e instrumento
Microencapsulados de aceite esencial de tomillo de uso alimentario, reducen la actividad microbiana de un alimento.	Composición	Microencapsulado de aceite esencial de tomillo	¿Cómo incidirá en la calidad del queso fresco la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?	Norma Técnica Ecuatoriana INEN 1528:2012 Queso frescos no madurados

3.4.2 Variable dependiente

Tabla N° 2: Operacionalización de la variable dependiente

Conceptualización	Categoría	Indicador	Ítem	Técnica e instrumento
Queso fresco. Producto lácteo obtenido por procesos de coagulación.	Análisis proximales	Humedad Proteína Grasa	¿Los análisis proximales varían con la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?	AOAC 990.19
	Análisis fisicoquímicos	pH Acidez	¿Los análisis fisicoquímicos varían con la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?	pHmetro Bureta digital
	Análisis de perfil de textura	Ciclo 1 Dureza Ciclo 2 Dureza Cohesividad Elasticidad Firmeza Masticabilidad	¿El análisis de perfil de textura varía con la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?	CT3 Texture Analyzer BROOKFIELD
	Análisis microbiológicos	Aerobios-mesófilos Mohos y Levaduras <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> <i>Listeria</i>	¿Los parámetros microbiológicos varían con la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?	AOAC 2000.18 AOAC 991.20 INEN 1529-13 INEN 1529-14

monocytogenes

	Forma	
Análisis sensorial	Humedad en superficie	¿Los parámetros sensoriales varían con la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo?
	Rugosidad	UNE-ISO 6558
	Elasticidad	
	Intensidad aromática	
	Firmeza	
	Solubilidad	
	Granulosidad	
	Impresión textura	
	Perfil gustativo	

3.5 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

En los Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de los Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se llevó a cabo el desarrollo del trabajo. El ensayo se realizó con las siguientes muestras:

- ✓ Queso fresco sin inclusión
- ✓ Queso fresco con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo

3.5.1 Microencapsulación del aceite esencial de tomillo

La microencapsulación del aceite esencial de tomillo se realizó en concordancia a las especificaciones de Villacrez, (2013). Los polímeros encapsulantes para preparar la solución fueron goma arábica Nexira Lote 171345 (Dallant, Barcelona, España), maltodextrina Norbright Lote 17L594 (Tate y Lile Inc, Decatur, IL). Todos fueron pesados en una balanza técnica (Mettler Toledo XPE) de 0,1 mg de precisión. La dispersión de los polímeros encapsulantes fue preparada disolviendo los componentes sólidos en las siguientes proporciones 50 g de maltodextrina, 30 g de goma arábica en 270 mL de agua destilada. Seguidamente se adicionó el aceite esencial (Isabrubotanik S.A, Ambato, Ecuador) en una concentración de 20 % p/p y se mantuvo en agitación lenta y progresiva por 5 minutos. La dispersión fue disuelta en su totalidad empleando un homogeneizador (Ultra turrax TOPS SR 30, Alemania) a una velocidad de 24000 min⁻¹. La dispersión preparada se alimentó a un secador por aspersion (Minispray Dryer BUCHI B-290, Suiza), con flujo de aire de secado y alimentación en paralelo, atomizador de tipo tobera de dos fluidos, empleando un flujo de aire de atomización de 600 L/h, una temperatura de entrada del aire de 160 °C y una temperatura de salida de 80 °C.

3.5.2 Rendimiento del proceso de microencapsulación

El rendimiento del proceso de microencapsulación se determinó considerando lo expuesto por López, Nogueira, y Romero, (2015) en el cual a partir de un balance

de masas donde se consideró que la entrada de producto fue igual que la salida, relacionando la masa de producto obtenida con la masa teórica de polímeros y el aceite esencial de tomillo alimentado al secador y expresado en porcentaje. Es importante destacar la utilización del principio del rotor-estator, con 3 vástagos de 2, 4 y 8 palas, para así determinar el mejor rendimiento.

El rendimiento se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{Masa del polvo obtenido (gramos)}}{\text{Masa de polímeros y aceite (gramos)}} \times 100$$

3.5.3 Determinación de la eficiencia de microencapsulación mediante cromatografía gaseosa

Las muestras de aceite esencial de tomillo antes y después de la microencapsulación fueron analizadas en los laboratorios de la Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Proyecto Canje de Deuda Ecuador-España. Se implementó el método de cuantificación de compuestos volátiles por cromatografía de gases considerando los preceptos de Jofre, (2009) con ligeras modificaciones. Para las muestras de aceite esencial de tomillo el procedimiento demandó colocar en un tubo de ensayo con tapa aproximadamente 0,2 g del aceite, se agregó 3 mL de hexano y se agitó levemente, se dejó reposar hasta que la parte superior de la solución se clarificó, alrededor de 15 minutos. Luego, se extrajo la fase de hexano que contenía los compuestos volátiles, dicho volumen fue de 10 μ L que se completó en su contenido y se inyectó en el cromatógrafo de gases.

Para las muestras del microencapsulado se tomó en referencia lo especificado por López, Nogueira, y Turiño, (2015), se disolvió 2 g de microcápsulas en 10 mL de agua destilada en un erlenmeyer, la muestra fue agitada por 10 minutos para romper la pared polimérica y luego se añadieron 15 mL de hexano. El contenido

del erlenmeyer se trasladó a varios tubos y fueron centrifugados a 12000 min⁻¹ durante 20 minutos a 15 °C en una microcentrífuga (Bunsen Finsen R, Unión Europea).

Los compuestos volátiles de la superficie de las microcápsulas fueron determinados mediante el lavado de 2 g del polvo con hexano, siguiendo el resto del procedimiento de igual forma. En ambos casos se dejó reposar hasta que la parte superior de la solución se clarificó y se continuó el proceso de manera similar al descrito anteriormente para la determinación del aceite.

Dicho análisis se realizó en un cromatógrafo (Agilent Technologies 789B GC System, Estados Unidos), empleando una columna capilar tipo HP-88 (60 m longitud x 250 µm x 0,2 µm diámetro interior), una temperatura inicial de 40 °C durante 6 minutos, incrementándose posteriormente a 5 °C/min hasta alcanzar los 120 °C; seguidamente se incrementó la temperatura de 120 hasta 150 °C a una velocidad de 2 °C/min y finalmente se incrementó la temperatura de 150 a 240 °C a una velocidad de 5 °C/min. El flujo del analito fue de 3 mL/min mientras que el flujo de hidrógeno fue de 0,1 mL/min y el flujo de aire de 0,2 mL/min.

La eficiencia de microencapsulación (ME) se calculó empleando la siguiente expresión López, Nogueira, y Romero, (2015):

$$ME = \frac{\%Aceite\ total - \%Aceite\ extraído}{\%Aceite\ total} \times 100$$

3.5.4 Elaboración de queso fresco con inclusión de microencapsulado

El queso fresco fue elaborado en los laboratorios de la Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería, Carrera de Ingeniería Agroindustrial de acuerdo a la técnica de procesamiento de González Villarreal, (2002), usando leche pasteurizada (75 °C/10min) que cumplió con parámetros de calidad especificados en la normativa (INEN 1528, 2012), la leche se enfrió hasta una

temperatura de 40 °C se añadió el cloruro de calcio y luego se agregó el cuajo. Se dejó reposar por 30 minutos para que se coagule. Una vez formada la cuajada se cortó tanto horizontalmente como verticalmente con una lira. La masa fue girada lentamente con una pala de agitación y se dejó reposar durante 5 minutos para completar el primer desuerado. La masa se agitó nuevamente y se dejó reposar durante 15 minutos más. Esta etapa de drenaje fue el segundo desuerado, volumen que fue almacenado para utilizarlo como medio de inclusión del microencapsulado, en referencia a los parámetros de Fernandes *et al.*, (2017) se estableció en un contenido del 0,5 % para evaluar la inhibición del crecimiento de patógenos a lo largo del tiempo. La cantidad de microencapsulado del aceite esencial en la concentración señalada se homogeneizó en suero láctico y se calentó (63 °C/15min) de forma aislada. Se continuó con el proceso de moldeado (utilizando moldes de PVC de 4,5 cm diámetro y 2 cm altura) en el que se sumergieron los quesos en la solución del microencapsulado (concentración 0,5 %) con el suero láctico durante 15 minutos. Se enmalló y prensaron los quesos por 2 horas. El queso fue almacenado en bolsas de polietileno a 4 °C.

3.5.5 Análisis proximal

3.5.5.1 Humedad

La determinación de humedad (% H) se realizó de acuerdo a la técnica de la AOAC 990.19 (AOAC International, 1993), se dispuso 2 g de las muestras de queso en un crisol de porcelana, el cual debe estar tarado, después las muestras se secaron en una estufa a una temperatura de 130 °C durante 24 horas. Luego de este proceso se colocó el crisol en un desecador con el propósito de obtener un peso constante. El porcentaje de humedad se calculó en base a la siguiente ecuación:

$$\%H = \left(\frac{(W1 - W2)}{\text{peso de la muestra}} \right) * 100$$

Dónde:

W_1 = peso de la muestra + crisol antes del secado

W_2 = peso de la muestra + crisol después del secado

3.5.5.2 Grasa

La determinación de grasa se realizó en concordancia a lo especificado por el método AOAC 2000.18 Gerber AOAC International, (2000). Inicialmente se pesó 3 g de las muestras de queso y se colocaron en el interior de un butirómetro con la adición de ácido sulfúrico (H_2SO_4) a una concentración del 92 % el cual cubrió la muestra añadida. Luego a baño maría durante 30 minutos a una temperatura de 65 °C se colocó el butirómetro para disolver aún más la muestra, seguido a esto se añadió 1 mL de alcohol amílico y se agitó. Se completó el volumen de H_2SO_4 , hasta alcanzar las tres cuartas partes de la columna graduada. El butirómetro se colocó en baño maría por 5 minutos más y se agitó. Seguidamente a este proceso se dispuso el butirómetro en una centrifuga a 1200 min^{-1} durante 5 minutos. Se realizó la lectura llevando la base de la columna de grasa a cero, presionando el tapón del butirómetro y expresando la cantidad de grasa en porcentaje.

3.5.5.3 Proteína

La determinación de proteína se basó en el método Kjeldahl y las especificaciones de la técnica AOAC 991.20 AOAC International, (1995). Este método se compone de tres procedimientos: 1) Digestión: Se pesó 0,1 g de muestra la cual de manera previa debió ser triturada y homogeneizada, esta muestra se colocó en un tubo de digestión Kjeldahl, al tubo se añadió 2,5 g de K_2SO_4 , 0,15 g de $CuSO_4$ y 10 mL de H_2SO_4 a una concentración del 98 %. Luego el tubo de digestión se dispuso a calentamiento a una temperatura de 150 °C entre 15 y 30 minutos, posteriormente se dejó la muestra a temperaturas de 270 °C y 300 °C de 15 a 30 minutos para reducir la producción de humos blancos. Seguidamente se continuó la digestión a 400 °C entre 60 y 90 minutos hasta obtener un líquido transparente con una

coloración azul verdosa. 2) Destilación: Se sacó el tubo de digestión y se enfrió a temperatura ambiente, se añadió 10 mL de agua destilada- En un erlenmeyer se adicionó 50 mL de H₃BO₃ al 4 % con 3 gotas de indicador Tashiro, este erlenmeyer se conectó al equipo de destilación con la muestra diluida, es importante programar en el equipo una dosificación de 50 mL de NaOH al 40 %. Finalmente se colocó el tubo de digestión en el destilador hasta recoger un volumen de 250 mL en el erlenmeyer (50 mL de H₃BO₃ + 200 mL de destilado). 3) Valoración: La valoración permite cuantificar la cantidad final de aniones presentes en la muestra destilado, en este trabajo se valoró el destilado con una solución de HCl a una concentración 0,1 mol/L hasta el cambio de color en el tubo.

El cálculo del contenido de proteína se fundamentó en las siguientes ecuaciones:

$$\% N = (V_m - V_b) * N * mEQ * 100 / m$$
$$\% \text{Proteína} = \%N * F$$

Donde:

N= Concentración molar del ácido de valoración

V_m= Volumen de ácido consumido en la muestra

V_b= Volumen del ácido consumido en el blanco.

F= Factor proteico (6,37 utilizado para lácteos).

mEQ= Miliequivalentes del nitrógeno.

m= muestra.

3.5.6 Análisis fisicoquímicos

3.5.6.1 pH

La determinación de pH se realizó mediante el uso de un pHmetro para sólidos (HANNA Edge Kit pH HI2020, España). Se introdujo el electrodo en las muestras

de queso hasta que se estabilice y realizar la anotación del valor obtenido. Este análisis se efectuó desde el día 1 hasta el 15 con una frecuencia de muestreo de cada 2 días, realizando la medición por triplicado.

3.5.6.2 Acidez titulable

La acidez titulable se determinó contemplando los parámetros establecidos de la NTE INEN 0013, (1984) mediante la cual inicialmente se colocó 20 g de muestra a la par de la adición de un volumen dos veces mayor de agua destilada y 2 mL de solución indicadora de fenolftaleína. Luego se utilizó una bureta automática y se tituló lentamente una solución de NaOH a una concentración 0,1 mol/L hasta obtener un color rosado persistente por un tiempo de 30 segundos y se anotó el volumen de solución empleada de la bureta. El porcentaje de acidez se calculó en base a la siguiente ecuación:

$$\%A = \left(\frac{V \times N}{m1 - m} \right) * 100$$

Dónde:

A= Acidez titulable del queso fresco, en porcentaje de ácido láctico.

V= Volumen de la solución de NaOH empleado en la titulación.

N= Concentración molar de la solución de NaOH

m= Masa de matraz erlenmeyer vacío en gramos.

m1= Masa del matraz erlenmeyer con la muestra.

3.5.7 Color

En la determinación de los parámetros del color de las muestras se realizó por medio de un colorímetro (Konica Minolta Chroma Meter CR 400, Japón), se tomó medidas de los parámetros de L* (luminosidad), a* (relacionado con el

enrojecimiento) y b^* (relacionado con tendencia al amarillo) en cinco puntos promedio de los quesos.

3.5.8 Análisis de perfil de textura

El Análisis de Perfil de Textura se realizó mediante un analizador de textura (BROOKFIELD CT3). Se centró la muestra en la placa base del equipo TA-RT-KI con una sonda cilíndrica con código TA5, usando una celda de carga de 10 kg. Con requerimientos dispuestos así: velocidad del test fue de 0,3 mm/s, con una carga de activación de 0,07 N y la deformación del 80 % de la longitud original. Los parámetros texturales establecidos fueron: dureza (fuerza pico del primer ciclo y del segundo ciclo de compresión en N), cohesividad, elasticidad, firmeza y masticabilidad.

3.5.9 Análisis microbiológicos

Para los análisis microbiológicos se tomaron como referencia los parámetros establecidos en la Norma INEN 1528, (2012). Se tomaron 10 g de muestra homogenizándolos con 90 mL de agua de peptona tamponada estéril, seguidamente se prepararon diluciones apropiadas para las siguientes determinaciones de microorganismos (1) recuento de aerobios mesófilos en Plate Count Agar (Merck, EEUU) tomando como referencia los parámetros establecidos en la norma INEN 1529-5 (INEN, 2006), que se incubaron a 38 °C por 48 horas, (2) Mohos y levaduras en Potato Dextrose Agar (Difco, Le Pont de Claix, FRANCIA) según los parámetros establecidos en la norma INEN 1529-10 (INEN, 2013), la incubación se efectuó a 25 °C por 5 días, (3) *Staphylococcus aureus* en agar Baird Parker Agar (Difco, Le Pont de Claix, FRANCIA) y una solución de K_2TeO_3 (para identificar el crecimiento microbiano) que se incubaron a 37 °C por 48 horas y acorde a los requerimientos de la norma INEN 1529-14 (INEN, 1998), (4) *Escherichia coli* en agar eosina azul de metileno para recuento en placa EAM (Acumedia, EEUU) incubadas a 37 °C por 72 horas, según los parámetros

establecidos en la norma AOAC 991.14 (AINIA, 2015) con algunas modificaciones, (5) *Salmonella* se realizó según los requisitos establecidos en la norma INEN 1529 (INEN, 1999) en Bismuth Sulfite Agar (Difco, Le Pont de Claix, FRANCIA), que se incubaron a 37 °C por 20 horas, (6) *Listeria monocytogenes* en agar Palcam (Acumedia, EEUU) en referencia con los parámetros de la norma INEN- ISO 11290-1 (INEN, 1996), incubadas a 37 °C por 24 horas. Todos los recuentos de los análisis microbiológicos se expresaron como el logaritmo de la unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (log UFC/g) por duplicado durante 23 días.

3.5.10 Análisis sensorial

En el análisis sensorial se realizó una prueba a través de un panel de degustación compuesto por 30 personas que establecieron las diferencias existentes entre las muestras de queso con y sin inclusión de microencapsulados de AE de tomillo, siguiendo los requerimientos de la norma UNE- ISO 6558. (UNE-ISO, 2008), es importante establecer una codificación numérica alternada a los quesos por degustar. Los atributos sensoriales evaluados fueron: intensidad aromática, perfil gustativo, granulosis, firmeza y humedad en superficie.

3.6 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

Para el procesamiento de los datos obtenidos se utilizó los siguientes programas:

MiniTab 17 y Origin 9.1: Permitió realizar pruebas estadísticas de las muestras y de ese modo establecer significancias entre ellas.

Microsoft Word y Excel: Para realizar el trabajo escrito, tabular la información y procesar los datos.

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1 Rendimiento de microencapsulación

Las emulsiones formadas con valores constantes de carga del aceite esencial de tomillo, maltodextrina, goma arábica y temperatura de entrada/salida tuvieron una variación en el rendimiento de microencapsulación como se muestran en la tabla 3

Tabla N° 3: Rendimiento de microencapsulación

Rotor (palas)	Rendimiento (%)
2	86
4	88
8	90

Se denotó el mayor rendimiento en el tratamiento que empleó el rotor de 8 palas, una carga del 20 % y una temperatura de entrada de 160 °C, alcanzando un rendimiento del 90 %, un valor aceptable para la escala de este trabajo y superior al rendimiento del estudio realizado por Pastuña, (2016), que estableció un rendimiento del 82,10 % a una carga del 33 % con una temperatura de entrada 150 °C con mezcla de goma arábica y maltodextrina en la microencapsulación de aceite de sachá inchi.

En el estudio de Rubio, (2016) considera preponderante el valor del principio activo del aceite esencial ya que de este modo se asegura que la mayor cantidad de AE se ha incorporado en el microencapsulado y que la gran mayoría de principio activo se ha quedado en el interior de la microcápsula. Para este trabajo el rotor de 8 palas otorgó una mejor homogenización de la emulsión debido al esfuerzo cortante superior y así coadyuvó a obtener un alto rendimiento de microencapsulación, ya que al haber mayor homogeneización la eficiencia de

microencapsulación es superior y por tanto queda menos aceite superficial y el rendimiento es mayor.

4.1.2 Eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación (ME), se puede evidenciar en la Tabla 4.

Tabla N° 4: Eficiencia de microencapsulación

Aceite Extraído (%)	Aceite Total (%)	ME (%)
17,67 ± 32,6	20,00 ± 32,9	89,85

Se obtuvo una eficiencia de microencapsulación superior al 80 %, un valor aceptable y que fue ligeramente similar al obtenido en el estudio realizado por Ruiz, (2016) en el cual estableció que todo ingrediente activo liposoluble emulsionado en polímeros hidrosolubles, al entrar al spray dryer forman microcápsulas, por ello al haber un elevado grado de homogeneización de la emulsión conlleva a alcanzar una mayor eficiencia de microencapsulación.

4.1.3 Análisis del contenido de componentes esenciales mediante cromatografía de gases

Mediante cromatografía de gases se cuantificó el contenido de componentes esenciales del aceite esencial de tomillo y del microencapsulado, estos resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla N° 5: Cuantificación de componentes esenciales del AE de tomillo y su microencapsulado

Componente	AE tomillo (%)	Microencapsulado AE tomillo (%)
p-cimeno	21,63	3,55
Linalol	20,27	2,80
Terpineol	25,47	1,76
Carotol	5,85	0,96
Cariofileno	6,01	1,38
Timol	41,40	7,46
Terpinen 4-ol	4,73	0,11
2-cimeno (carvacrol)	22,70	4,48
2-careno	2,61	0,23

La determinación de la composición del aceite esencial de tomillo por método de cromatografía gaseosa realizado por Acosta, Castro, Roque, y Felix, (2000) especifica porcentajes de los componentes esenciales que no difieren a los obtenidos en este trabajo, se encuentran dispuestos así: carvacrol (31 %), timol (32,6 %), linalol (2,18 %), careno (1,18 %), cariofileno (6,6 %) y terpineol (11,4 %); así mismo los valores obtenidos por Polit y Val, (2016) respecto al aceite esencial posee un contenido elevado en monoterpenos oxigenados e hidrocarbonados, encontrándose en mayor proporción el timol (51,34 %), p-cimeno (35,16 %), terpineol (3,5 %) y carvacrol (3,5 %), los cuales han sido reconocidos por su actividad antimicrobiana y antifúngica en un sin número de aplicaciones en la industria farmacéutica y alimentaria.

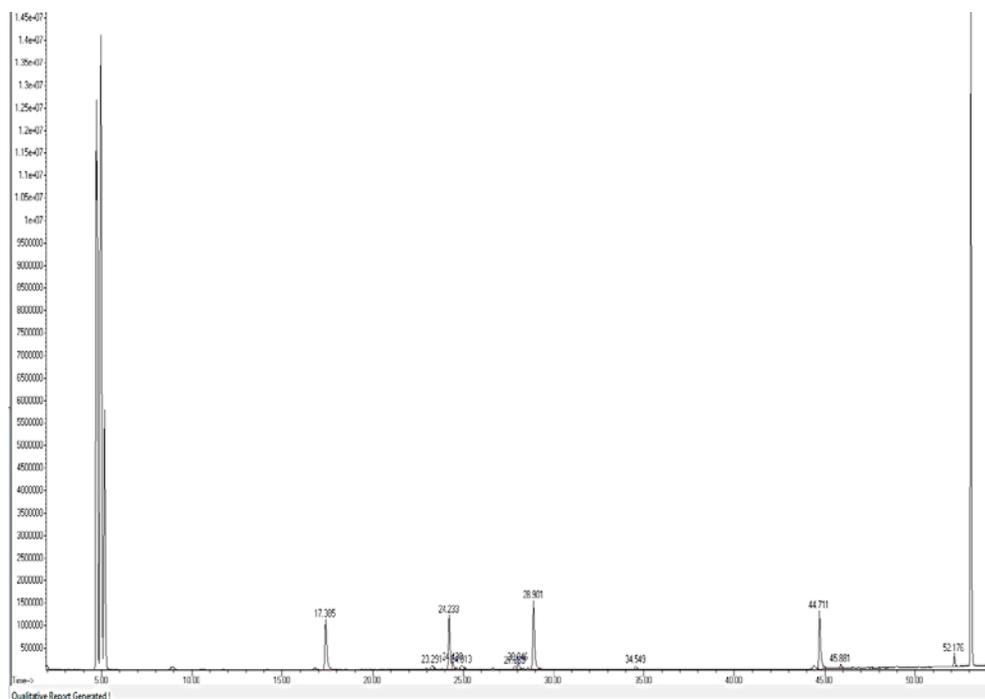


Gráfico N° 1: Cromatograma del AE de tomillo

Los 2 compuestos de contenido mayoritario fueron el timol, terpineol y el carvacrol, tal y como se muestra en el Gráfico 1. El aceite esencial de tomillo desde el punto de vista bactericida y antioxidante es atractivo por su alto contenido de componentes esenciales como lo son: timol, carvacrol, linalol, p-cimeno, terpineol (Godinez, Chávez, Barrientos, & Cano, 2001). Según Guarda *et al.*, (2011) el timol y carvacrol son los componentes principales del aceite esencial de tomillo que poseen actividad antimicrobiana frente a los microorganismos gram positivos y gram negativos, este efecto se debe a su acción sobre la membrana bacteriana demostrado en el estudio de Chuquitarco, (2011) en la aplicación de aceites esenciales de orégano y tomillo en cuatro tipos de hortalizas para disminuir la carga microbiológica patógena, se obtuvieron resultados de mayor efectividad en el aceite esencial de tomillo frente al aceite esencial de orégano.

Tabla N° 6: Análisis proximal del queso sin y con inclusión

Muestra	Humedad (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
Queso sin inclusión	61,71±0,67 ^a	16,80±0,00 ^a	14,50±0,10 ^a
Queso con inclusión	65,09±1,18 ^b	17,00±0,00 ^b	15,20±0,00 ^b

^{a,b} desviación estándar en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia significativa.

Los valores de humedad de las muestras de queso sin inclusión y queso con inclusión de microencapsulados se establecieron entre el 61 % y 65 %, estos resultados poseen estadísticamente diferencia significativa y se sitúan dentro de los parámetros aceptables por la Norma INEN 1528, (2012) y la Norma General del Queso Codex Alimentarius FAO y OMS, (2013), donde establece que el porcentaje de humedad de quesos semiduros está entre el 55 % y 65 %, es importante mencionar que un queso fresco contiene un porcentaje de humedad relativamente elevado y que el agua retenida se debe a técnicas de fabricación utilizadas como un escaso desuerado de la cuajada, adición de poca sal, etc (Gomez y Chuquibala, 2014). Por tanto a pesar de que hay diferencia significativa los valores obtenidos son aceptables porque se encuentran dentro del intervalo de la norma.

El contenido de grasa se situó entre el 16 % y 17 %, estadísticamente se encontró diferencia significativa entre las muestras (queso sin inclusión y queso con inclusión de microencapsulados), un estudio realizado por Saransig, (2013) reportó un contenido similar y en la Norma General del Queso Codex Alimentarius FAO y OMS, (2013) se considera un valor aceptable, norma en la cual establece a este contenido de grasa como semidescremado (contenido graso superior o igual al 10 % e inferior al 25 %). En consecuencia, a pesar de existir diferencia significativa los resultados están enmarcados dentro del intervalo de requisitos de calidad que demanda la norma.

El contenido de proteína de las muestras de queso se situó entre el 14 % y 15 %, valores que estadísticamente denotan diferencia significativa de la muestra del queso con inclusión de microencapsulado con respecto al queso sin inclusión con un leve incremento del valor proteico, un estudio realizado por Allaica, (2016) en el cual se elaboró un queso fresco con inclusión de polvo de romero en su procesamiento coincidió en estos resultados; así como la investigación de B. Islas, 2006; Pinho *et al.*, (2004) en la cual se elaboraron diversos tipos de queso fresco con el fin de establecer parámetros de calidad en sus características fisicoquímicas, proximales y sensoriales durante el procesamiento y almacenamiento. Se considera importante la diferencia significativa porque deja en manifiesto el valor agregado que otorga la inclusión de microencapsulado en el queso fresco.

4.1.5 Análisis fisicoquímicos

Los resultados de los análisis fisicoquímicos de acidez titulable y pH se aprecian en los Gráficos 3 y 4 respectivamente, por un periodo de almacenamiento de 15 días a 4 °C.

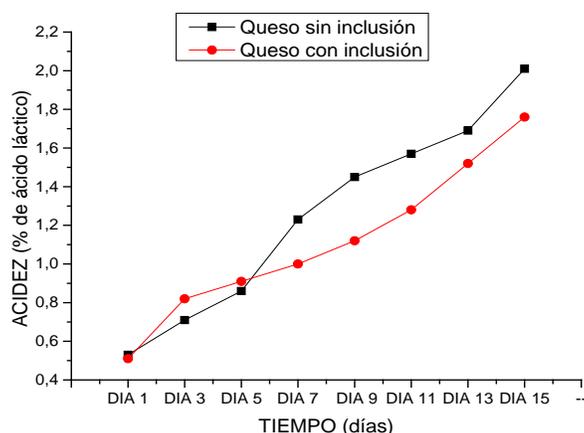


Gráfico N° 3: *Acidez titulable del queso sin y con inclusión*

En el análisis de acidez titulable se denota un aumento del porcentaje debido a que la acidez desarrollada es consecuencia de la acción de bacterias fermentadoras de la lactosa (bacterias lácticas) que producen un aumento en la concentración de ácido láctico en función del tiempo de almacenamiento del queso (Negri, 2005), valores elevados de acidez en la leche para la fabricación de productos lácteos en plantas procesadoras es rechazado (Cano y Chauca, 2017) y (Vargas-Uscategui, Arenas-Clavijo, y Ramírez-Navas, 2017).

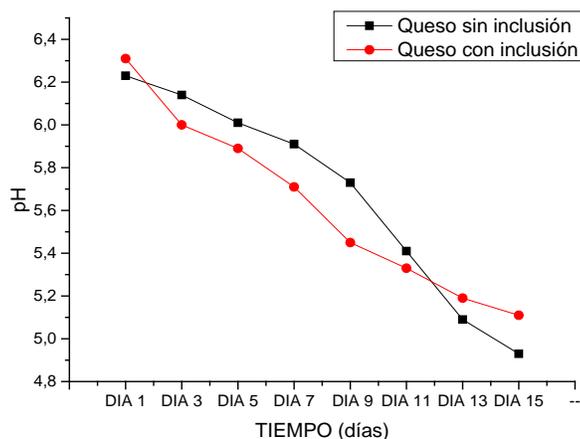


Gráfico N° 4: *pH del queso sin y con inclusión*

En el análisis de pH se dimensiona que al aumento de la acidez titulable existe una disminución de los valores obtenidos de pH, esto debido a que el pH y la acidez titulable difieren entre sí, puesto que el pH presenta estabilidad de la leche respecto a la temperatura sometida, con lo cual se aminora la rápida proliferación de bacterias patógenas (Negri, 2005) y (Castro Vergara, 2014).

4.1.6 Color

El color es un parámetro muy importante que permite establecer el cambio con la inclusión del microencapsulado de aceite esencial de tomillo en el queso fresco. Para cada muestra se obtuvieron las variables L^* , a^* y b^* del sistema de color. El parámetro L^* indica variación en la luminosidad (desde el 0 % para negro y 100 %

para blanco), a* del mismo modo indica variación entre el verde (-a) y rojo (+a), y b* señala variación entre el azul (-b) y el amarillo (+b).

Tabla N° 7: Color del queso sin y con inclusión

Muestra	L*	a*	b*
Queso sin inclusión	92,60 ± 1,16 ^a	-3,01 ± 0,29 ^a	17,06 ± 0,56 ^a
Queso con inclusión	93,28 ± 1,16 ^a	-3,44 ± 0,19 ^b	17,59 ± 1,52 ^a

^{a,b} desviación estándar en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia significativa.

Respecto al parámetro L* los valores obtenidos fueron de 92,60 al 93,28 estableciendo que no existen diferencia en ninguno de los tratamientos. En un estudio realizado por Chacón y Pineda, (2009) se obtuvo resultados similares al analizar las características físicas, químicas y sensoriales de un queso de cabra deduciendo que los quesos con alto contenido de humedad tienden a ser más luminosos y menos saturados S. Álvarez, Rodríguez, Ruiz, y Fresno, (2007), en este trabajo esto se atribuyó a la disminución existente de este parámetro entre las muestras del queso sin inclusión y el queso con inclusión del microencapsulado.

Los valores de las coordenadas a* y b* estuvieron muy cerca del centro acromático definido por Segato *et al.*, (2016). En el parámetro a* los valores determinados presentan una variabilidad muy baja, lo que indica que, a pesar de que el queso fresco se fabrica de forma artesanal e industrial, su color se mantiene constante entre los diferentes lotes de producción (Chacón y Pineda, 2009), estadísticamente presentan diferencia significativa entre los tratamientos debido a los factores antes mencionados.

En lo que se refiere a los valores del parámetro b^* se situaron entre el 17,03 y 17,59 (unidades adimensionales), no se encontraron diferencias significativas de manera estadística, al igual que en el estudio realizado por Marchesini *et al.*, (2016) el cual menciona que las operaciones y el tiempo de elaboración, la homogeneización y el moldeado coadyuvan a la obtención de estos valores. El ligero aumento en los valores de b^* se relaciona con la presencia de proteólisis y reacciones de pardeamiento en los quesos (Medina, Igual, Contreras, y Camacho, 2013).

4.1.7 Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura refiere el conjunto de propiedades mecánicas y de superficie de un producto que puede percibir, evaluar y medir mediante receptores bucales, táctiles, visuales y auditivos. La textura y el sabor están relacionados con el contenido de grasa y proteína presente en el queso, sabor, aroma, cremosidad, color, viscosidad, sensaciones bucales y brillo dependen mucho del contenido y la composición fisicoquímica de estos componentes. Además que son factores de calidad que inciden directamente sobre las preferencias del consumidor (Lobato-Calleros, Aguirre-Mandujano, y Vernon-Carter, 1999). El análisis de textura se realizó con la ayuda de un texturómetro analizando los parámetros de dureza, cohesividad, elasticidad, firmeza y masticabilidad como detalla la Tabla 8.

Tabla N° 8: Análisis de perfil de textura

Parámetros	Queso sin inclusión	Queso con inclusión
Dureza 1 (N)	20,88 ± 0,89 ^a	17,97 ± 0,91 ^b
Dureza 2 (N)	17,96 ± 0,60 ^a	14,86 ± 0,23 ^b
Cohesividad	0,78 ± 0,02 ^a	0,75 ± 0,02 ^a
Elasticidad	8,30 ± 0,09 ^a	8,23 ± 0,07 ^a
Firmeza	16,21 ± 2,01 ^a	13,53 ± 0,74 ^b
Masticabilidad	0,13 ± 0,00 ^a	0,11 ± 0,01 ^b

^{a,b} desviación estándar en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia significativa.

Los valores obtenidos de dureza, cohesividad y elasticidad estadísticamente no evidencian diferencias significativas en las muestras y los parámetros evaluados, lo que concuerda con lo reportado por De la Ossa y Rivera, (2012) y Osorio Tobón, Ciro Velásquez, y Mejía, (2005), se obtuvo estos valores por la inclusión del microencapsulado de tomillo, la cual se realizó mediante una inmersión y modificó el contenido de humedad del alimento, con esto disminuyó la fuerza para comprimir el queso, el límite hasta que el producto puede deformarse antes de romperse y determinar cuanta estructura original del alimento se ha roto por la compresión inicial (Guzmán, Tejada, De la Ossa, y Rivera, 2015) y (D. Álvarez, 2013). Los valores obtenidos de firmeza y masticabilidad denotan estadísticamente diferencias significativas entre las muestras y los parámetros analizados, en similitud con el trabajo realizado por Zuñiga *et al.*, (2007), la aplicación del microencapsulado presentó características de textura blanda con bajo contenido en grasa en el queso fresco así como en la investigación realizada por Guerrero, Salas, y Baldeón, (2015) en la evaluación instrumental de la textura del queso elaborado con suero concentrado por ultrafiltración. Estas características especificadas influyen directamente en la firmeza que es la energía requerida para desintegrar un alimento para luego ser tragado y la masticabilidad

que es el trabajo necesario para desintegrar el alimento (De la Ossa y Rivera, 2012).

4.1.8 Análisis microbiológicos

A continuación en la Tabla 9 se presentan los resultados del análisis microbiológico de los quesos con y sin inclusión del microencapsulado de AE de tomillo.

Tabla N° 9: Análisis microbiológicos

Tratamiento	Aerobios- mesófilos	Mohos- levaduras	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella</i>
Queso sin inclusión	51,53± 2,07 ^b	85,58± 3,10 ^b	68,18± 3,40 ^b	82,24± 3,01 ^b	Ausencia	Ausencia
Queso con inclusión	39,36± 2,02 ^a	83,28± 2,20 ^a	54,77± 2,00 ^a	77,66± 2,03 ^a	Ausencia	Ausencia

^{a,b} desviación estándar en la misma columna con diferente superíndice indican diferencia significativa.

El análisis microbiológico ejecutado evidenció resultados favorables del recuento de aerobios-mesófilos, mohos-levaduras, *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* y *Salmonella* acorde a los parámetros que establece la NTE INEN 1528, (2012) así como FAO y OMS, (2013) durante los veinte y tres días de almacenamiento de las muestras de queso fresco, esto es preponderante respecto al propósito que tiene la industria alimenticia en inhibir y ralentizar cualquier desarrollo de microorganismos patógenos dentro de las áreas de procesamiento o almacenamiento de alimentos listos para el consumo (Plaza-Ibarra y Morales Romo-Leroux, 2001).

4.1.8.1 Recuento de aerobios-mesófilos

En el Gráfico 5 se muestran de forma gráfica los resultados del recuento de microorganismos aerobios-mesófilos a lo largo de 23 días.

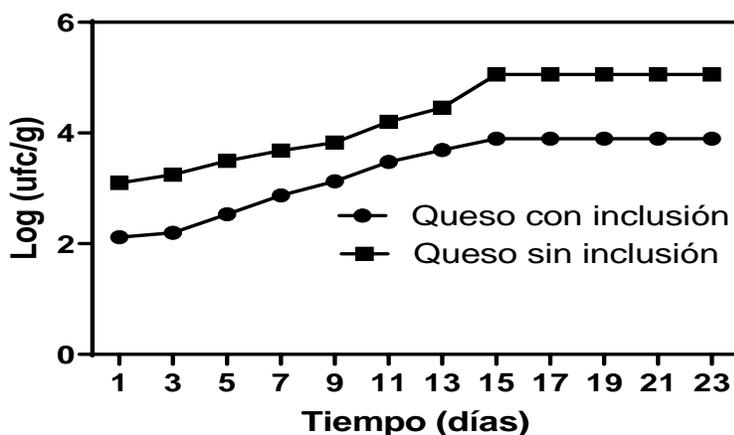


Gráfico N° 5: *Recuento de aerobios – mesófilos del queso sin y con inclusión*

Se estableció significación estadística durante los veinte y tres días de almacenamiento en el recuento de UFC/g de aerobios-mesófilos. La Figura 5 revela que inicialmente la muestra de queso sin inclusión alcanzó un valor de 3,07 UFC/g, el cual es superior respecto a los 2,02 UFC/g de la muestra de queso con inclusión. El crecimiento de los microorganismos incrementó paulatinamente en función al tiempo de almacenamiento hasta un valor de queso sin inclusión 5,05 UFC/g y queso con inclusión 3,90 UFC/g al décimo quinto día, lo que evidenció que la acción antimicrobiana del microencapsulado de aceite esencial de tomillo fue efectiva en concordancia con la investigación realizada por Asensio, (2013) en la que utilizó aceite esencial de orégano y timol como antimicrobiano en la producción de queso cottage. Asimismo los recuentos de UFC/g no superaron los límites establecidos de la Norma INEN, ya que con carga bacteriana elevada de los quesos muestreados se refleja deficiencias higiénicas en la manipulación del queso fresco, lo cual representa un riesgo para la salud del consumidor (González-Montiel, Lucio; Franco-Fernández, y Melitón Jesús, 2015). Los

recuentos altos de la flora aerobia mesófila, puede deberse a una contaminación excesiva de la materia prima y a una elevada proporción de microorganismos termorresistentes, o bien a una mala pasteurización o una recontaminación posterior al tratamiento térmico (Vásquez *et al.*, 2018).

4.1.8.2 Recuento de mohos y levaduras

El contenido en el Gráfico 6 se evidencia de forma comparativa el recuento de mohos y levaduras de los quesos tratados en el tiempo.

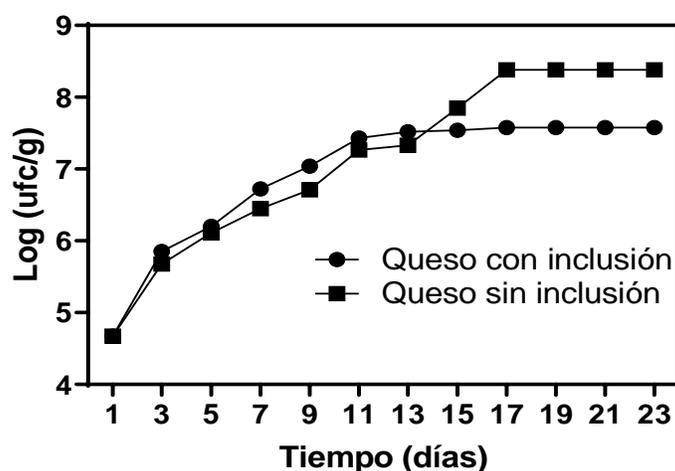


Gráfico N° 6. Recuento de mohos y levaduras del queso sin y con inclusión

El recuento de UFC/g de mohos y levaduras reveló significación estadística durante los veinte y tres días de almacenamiento. La Figura 6 refleja un crecimiento inicial igual de 4,67 UFC/g en la muestra de queso sin inclusión y la muestra de queso con inclusión, con el transcurrir del tiempo aumentó y fluctuó dichos valores de UFC/g. Los valores más altos de crecimiento se evidenciaron entre los días décimo quinto y décimo séptimo de almacenamiento de la muestra de queso sin inclusión (7,84 y 8,38 UFC/g) y la muestra de queso con inclusión (7,53 y 7,57 UFC/g), respectivamente.

Estos valores obtenidos comprueban una favorable acción antimicrobiana del microencapsulado de aceite esencial de tomillo en las muestras de queso fresco, la cual funciona como una barrera y permite reducir al mínimo los efectos adversos del ataque patógeno (Rosas y López, 2011). La presencia de mohos y levaduras que superen los límites permitidos denotan que el ambiente de trabajo, los equipos, utensilios y el almacenamiento presentan deficiencias higiénicas; así como alteraciones del queso en las que se mencionan: sabor mohoso, hinchazón (excesiva formación de gas), aumento de la acidez, cambios en la textura y decoloración anormal (González-Montiel *et al.*, 2015). Algunos autores consideran que los mohos y levaduras no producen ETAs pero pueden causar deterioro en el producto (Fuentes Mora, 2003; Ruíz, Menco, y Chams, 2017).

4.1.8.3 Recuento de *Staphylococcus aureus*

El Gráfico 7 presenta el comportamiento del recuento de *S. aureus* en los quesos durante el tiempo.

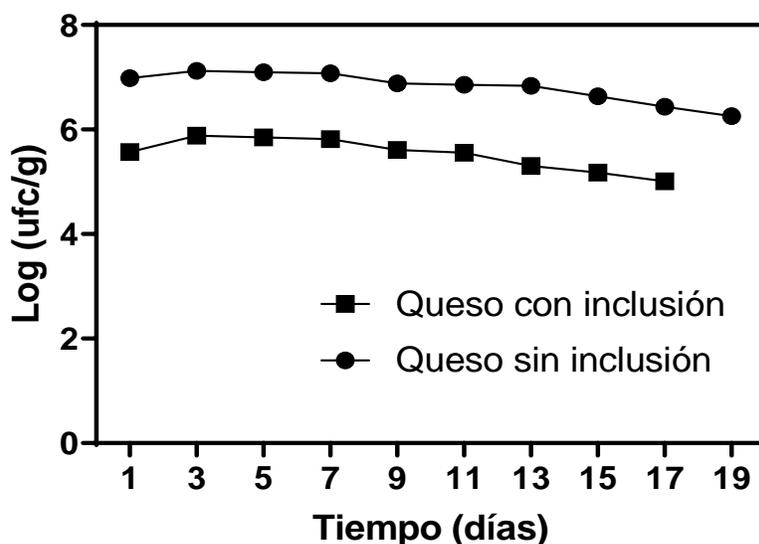


Gráfico N° 7: Recuento de *Staphylococcus aureus* del queso sin y con inclusión

El recuento de UFC/g de *S. aureus* mostró significación estadística durante los veinte y tres días de almacenamiento. En la Figura 7 se denota que inicialmente la muestra de queso sin inclusión obtuvo un valor de 6,98 UFC/g, el cual es mayor al valor de 5,56 UFC/g de la muestra de queso con inclusión. El crecimiento de los microorganismos fluctuó paulatinamente en función al tiempo de almacenamiento hasta un valor de queso sin inclusión 6,25 UFC/g y queso con inclusión 5,00 UFC/g al décimo séptimo día, lo que reveló la acción inhibitoria del microencapsulado de aceite esencial de tomillo fue efectiva en concordancia con la investigación realizada por Carvalho, (2015) en el efecto inhibitorio comparativo de aceite esencial de tomillo contra *staphylococcus aureus*, *listeria monocytogenes* y mesófilos en queso. Además, los recuentos de UFC/g no superaron los límites establecidos de la Norma INEN, ya que la presencia de *S. aureus* en el queso manifiesta una gran deficiencia higiénica y representa un peligro latente como vehículo de intoxicación estafilocócica. El *S. aureus* se encuentra presente por el uso de leche cruda en la elaboración del queso, por la presencia de mastitis y malas prácticas de ordeño por parte del personal debido a las condiciones sanitarias inadecuadas. También como otras fuentes de contaminación pueden ser el material y el equipo de trabajo (Vásquez, 2012).

4.1.8.4 *Escherichia coli*

Los resultados del Gráfico 8 exhiben el recuento de *E. coli* en las muestras de queso con y sin inclusión durante 23 días.

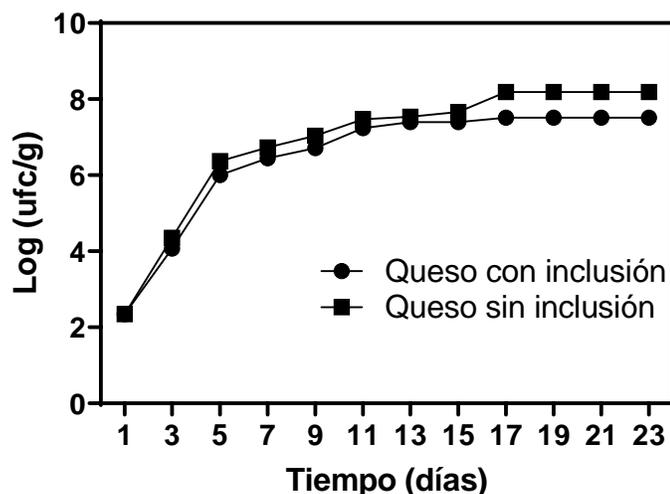


Gráfico N° 8: Recuento de *Escherichia coli* del queso sin y con inclusión

El recuento de UFC/g de *E. coli* reveló significación estadística durante los veinte y tres días de almacenamiento. La Figura 8 refleja un crecimiento inicial igual de 2,34 UFC/g en la muestra de queso sin inclusión y la muestra de queso con inclusión, con el transcurrir del tiempo aumentó y fluctuó dichos valores de UFC/g. Los valores más altos de crecimiento se evidenciaron entre los días décimo quinto y décimo séptimo de almacenamiento de la muestra de queso sin inclusión (7,66 y 8,18 UFC/g) y la muestra de queso con inclusión (7,39 y 7,51 UFC/g), respectivamente.

Estos valores obtenidos comprueban que el microencapsulado de aceite esencial de tomillo se constituye en una barrera de control para la proliferación de ataques patógenos (Fernandes, 2017). La contaminación de los quesos frescos con una elevada carga del indicador microbiológico *E. coli* representa una afectación a la calidad del producto y el tiempo de vida útil, ya que la presencia de estos

microorganismos estima un rápido deterioro acompañado de un exudado anormal en el queso (Aguirre, 2016). Estos hallazgos sugieren que las condiciones de higiene durante la elaboración del queso son insatisfactorias o que hubo contaminación después del proceso de elaboración antes de llegar al consumidor (Cristóbal, 2003).

4.1.8.5 *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*

El recuento de *L. monocytogenes* y *Salmonella* no evidenció crecimiento de UFC/g, el cual recalca la importancia del uso de antimicrobianos y biopreservantes en el procesamiento de alimentos de consumo masivo como el queso fresco, esto se atribuye a que en la composición del microencapsulado posee aceite esencial de tomillo el cual otorga propiedades antimicrobianas por acción de sus componentes activos timol y carvacrol, que según Guarda *et al.*, (2011) demuestran viabilidad para utilizarse en una matriz de polímeros para la conservación de alimentos frescos, como se evidenció en la investigación realizada por Morales *et al.*, (2015) en la que fue efectivo el uso de aceite esencial de tomillo sobre la contaminación de *Listeria* en el queso ricota. Estos compuestos naturales previenen el crecimiento de patógenos y los efectos de deterioro son mínimos (García y Palou, 2008). Se pueden aplicar varios aceites esenciales como agentes antimicrobianos naturales para inhibir el ataque microbiano de los quesos y prolongar su vida útil (Khorshidian, Yousefi, Khanniri, y Mortazavian, 2017).

Los resultados obtenidos de este apartado del trabajo están en concordancia con los parámetros microbiológicos de Barrios Centeno, (2006) y la investigación desarrollada por Fernandes *et al.*, (2017) en la cual el aceite esencial de romero microencapsulado fue capaz de controlar la proliferación de bacterias mesófilas en el queso fresco Minas y Cenobio-Galindo *et al.*, (2017) al medir el efecto de un microencapsulado de xoconostle con capacidad antioxidante en un queso funcional tipo Oaxaca.

4.2 Análisis sensorial

En el Gráfico 9 se presenta el análisis sensorial de las muestras de queso sin inclusión y queso con inclusión, el análisis se efectuó a las 3 tres días de almacenamiento considerando un 95 % de nivel de confianza con el cual se pudo establecer diferencias significativas.

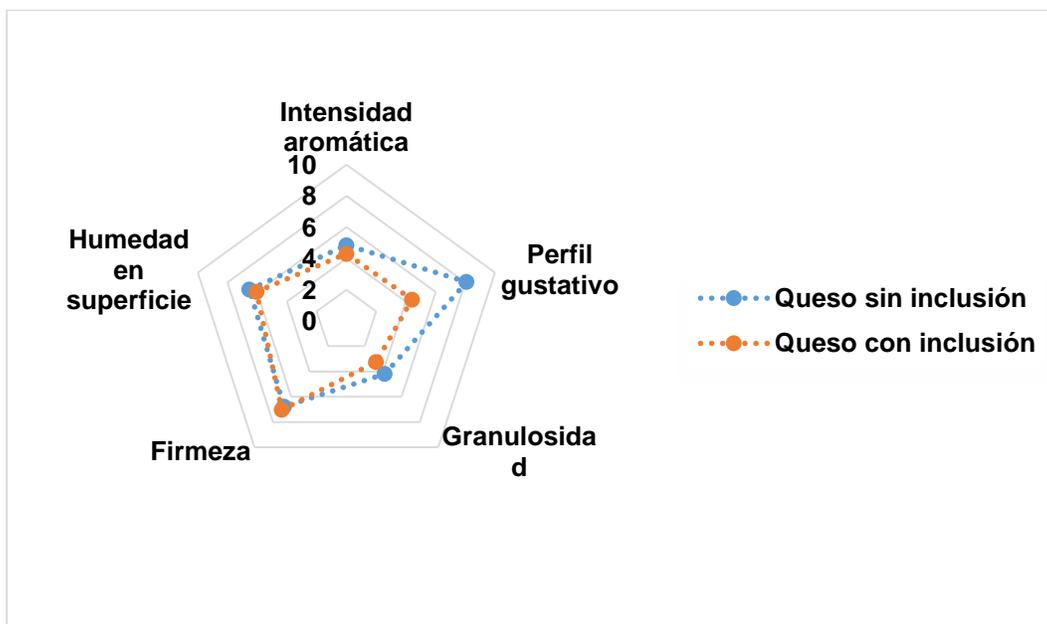


Gráfico N° 9: Análisis sensorial del queso sin y con inclusión

Se evaluaron parámetros de intensidad aromática, perfil gustativo, granulosidad, firmeza y humedad en superficie. La intensidad aromática de la muestra de queso sin inclusión se valoró con un atributo 3 (ligera), mientras que la muestra de queso con inclusión se situó en el atributo 4 (intensa) esto debido al aceite esencial de tomillo el cual le confiere al queso fresco un aroma herbal, estadísticamente no se presentaron diferencias significativas. El perfil gustativo presentó diferencias significativas entre el queso sin inclusión y el queso con inclusión calificando la muestra sin inclusión con un atributo 2 (suave) y la muestra con inclusión con un atributo 4 (intenso), en este caso se vio más atenuado el sabor que otorga el aceite esencial de tomillo al queso fresco. En cuanto a la granulosidad la muestra

de queso sin inclusión y la muestra con inclusión se determinaron como un atributo 4 (fibroso), un estándar característico de este tipo de queso. Se estableció una firmeza en la muestra de queso con inclusión y queso con inclusión con un atributo 3 (media) y una humedad en superficie 4 (húmeda), estos parámetros están establecidos por la actividad acuosa del queso fresco.

4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

El análisis estadístico de cada tratamiento con un nivel de confianza de 95 %, establece rechazar la hipótesis nula ya que la inclusión del microencapsulado de tomillo en el queso fresco influye en la calidad microbiológica, físico-química, organoléptica y sensorial.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Se microencapsuló mediante secado por aspersion el aceite esencial de tomillo, en una mezcla de polímeros formada por: 50 % de maltodextrina, 30 % de goma arábica y 20 % de carga del AE, alcanzándose un rendimiento del 90 % y una eficiencia de microencapsulación del 89,85 %.

La concentración de microencapsulado de AE agregado al queso fresco fue de 0,5 % (precautelando no exceder el nivel máximo permitido 3 %), que inhibió el crecimiento de bacterias a lo largo del tiempo. Hay que tomar en cuenta la palatabilidad como un factor determinante para establecer la concentración a incluir en el proceso de elaboración del queso.

El microencapsulado de aceite esencial de tomillo fue capaz de controlar la proliferación de aerobios-mesófilos, mohos y levaduras, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* en el queso fresco, promoviendo un retraso en el ataque patógeno del microorganismo, extendiendo así la vida útil del producto. El recuento de microorganismos en el queso con inclusión de las microcápsulas de aceite esencial de tomillo fue menor que en el queso sin inclusión del microencapsulado. El aceite microencapsulado permitió una reducción del conteo microbiano a los 17 días de almacenamiento del queso control con respecto al que se incluyó el microencapsulado de 5,05 UFC/g a 3,90 UFC/g para el recuento de aerobios-mesófilos, de 8,38 UFC/g a 7,57 UFC/g para el recuento de mohos y levaduras, de 6,25 UFC/g a 5,00 UFC/g para el recuento de *S. aureus*, de 8,18 UFC/g a 7,51 UFC/g para el recuento de *E. coli*. Los hallazgos de este trabajo muestran que el tratamiento con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo se pueden utilizar como un posible biopreservante en el queso fresco, ya que funciona como una barrera e inhibe los efectos adversos del ataque patógeno.

En base a los análisis microbiológicos se estimó 17 días la vida útil del queso fresco con inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo en condiciones de almacenamiento adecuadas. Así como los tratamientos no promovieron cambios significativos en el contenido de humedad, grasa y proteína de las muestras, se registraron valores aceptables dentro de los parámetros que establecen la Norma General del Queso y la Norma INEN vigente.

5.2 Recomendaciones

Este trabajo muestra un gran potencial en la inclusión de microencapsulados de aceite esencial de tomillo en la elaboración de queso fresco. Sin embargo, es necesario profundizar y continuar investigando con el fin de determinar los atributos organolépticos y microbiológicos, y su posible proyección a escala industrial, realizando las adaptaciones necesarias para el proceso de elaboración.

Aumentar el nivel de carga de inclusión del aceite esencial para microencapsular y medir los efectos en una matriz alimentaria.

Elaborar quesos frescos con inclusión de microencapsulados de otros aceites esenciales que denoten capacidad antimicrobiana y antioxidante, para establecer los cambios que producen en el perfil microbiológico de este producto lácteo.

Medir el crecimiento microbiano en quesos con la inoculación de *Listeria monocytogenes* y como el microencapsulado del AE inhibe el crecimiento patógeno.

CAPITULO VI

6. PROPUESTA

ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO CON INCLUSIÓN DE MICROENCAPSULADO DE ACEITE ESENCIAL DE TOMILLO A ESCALA INDUSTRIAL.

6.1 DATOS INFORMATIVOS

Tema: Elaboración de queso fresco con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo a escala industrial.

Institución ejecutora: Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Beneficiarios: Empresas productoras de queso. Universidad Técnica de Ambato.

Ubicación: Ambato, Ecuador

Tiempo de ejecución: Diciembre 2018 – Mayo 2019

Equipo técnico responsable: Ing. Josué Bonifaz Nieto, Ing. Orestes López Hernández.

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

En la actualidad se puede evidenciar nuevas tecnologías en la industria alimentaria. Una de estas es la microencapsulación. La microencapsulación cumple con la función de proteger y preservar numerosos ingredientes activos, esta tecnología es usada en la industria farmacéutica, industria textil y en la industria alimentaria. (Pedroza, 2002). Mediante este proceso sustancias activas

se introducen en una matriz con el fin de aislarlos de agentes externos que pudieran contaminar al producto que lo contiene (AINIA, 2015).

En la industria alimentaria se han documentado algunos estudios acerca de microencapsulados elaborados a partir de aceites esenciales, hojas, tallos de algunas plantas, cuyas propiedades son utilizadas como antimicrobianas, antibacteriales, antifúngicas entre otras. En un estudio realizado se determinó la capacidad antimicrobiana del microencapsulado con aceite esencial de orégano β -ciclodextrina determinando la capacidad antimicótica en cepas de levadura blanca y en mohos y levaduras aisladas de la cascara de tomate (Matos, Quispe, Quito, y Beltrán, 2010).

En la industria láctea se han reportado algunas investigaciones acerca del uso de microencapsulados una de ellas es la incorporación de nisina encapsulada en alginato de calcio y lactosuero en un queso campesino, para lo cual se inoculo *L. innocua* cuyos resultados arrojaron una reducción en el crecimiento en comparación a un control que no contenía el encapsulado (Rodríguez y Playas, 2016). Se realizó un estudio para analizar el efecto de la microencapsulación sobre las propiedades reológicas y fisicoquímicas del yogurt blando, dando a notar que, la microencapsulación bacteriana podría ser una alternativa sugestiva en la inclusión de bacterias probióticas en productos lácteos acidificados, obteniendo resultados positivos en las cualidades sensoriales del producto. (González, Pérez, y Urbina, 2014).

Varios estudios se han realizado acerca de la obtención de microencapsulados a partir de aceites esenciales dando como consecuencia excelentes resultados. Gonzales, (2017) evaluó complejos de polisacáridos en la microencapsulación mediante secado por aspersion del aceite de almendra de capulín dando como resultados que la estabilidad oxidativa del aceite de capulín encapsulado fue mejor que la del no encapsulado.

6.3 JUSTIFICACIÓN

El queso tipo fresco es un alimento de fácil contaminación, lo cual ocasiona el desarrollo de microorganismos que pudieran afectar la calidad y la inocuidad del mismo; por lo que con esta propuesta se pretende desarrollar alternativas en su elaboración con el fin de inhibir el crecimiento microbiano y alargar la vida útil del producto.

Una gran alternativa es el uso de aceites esenciales que se caracterizan por sus propiedades antibacteriales, antimicrobianas, antifúngicas. Por lo cual es importante buscar una tecnología para la inclusión de estos aceites, sin afectar sus características nutricionales y sensoriales. Una opción es la microencapsulación que forma una matriz protectora de los nutrientes del aceite. Y además impide el paso de agentes externos contaminantes. Es por este motivo que este proyecto se basará en la elaboración de queso fresco con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo a escala industrial.

6.4 OBJETIVOS

6.4.1 General

Proponer la evaluación de queso fresco con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo a escala industrial.

6.4.2 Específicos

- ✓ Obtener el microencapsulado de tomillo para la inclusión en queso tipo fresco.
- ✓ Evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas, texturales y de color en el queso tipo fresco con inclusión del microencapsulado de aceite esencial de tomillo.

- ✓ Determinar la aceptabilidad del producto terminado por medio de una evaluación sensorial.

6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

Esta propuesta será de carácter tecnológico ya que se pretende implementar nuevas tecnologías en la industria láctea, elaborando un producto inocuo, de calidad nutricional y con un periodo de vida útil más prolongado. Este proyecto además tendrá un carácter sociológico, procurando mejorar los productos fabricados en las industrias productoras de lácteos. La investigación y el análisis en el laboratorio serán de gran aporte para el desarrollo de esta investigación.

6.6 FUNDAMENTACIÓN

6.6.1 Microencapsulación

La microencapsulación es considerada como un empaque , en la que un material es protegido de manera individual aislándolo del ambiente y de influencias contaminadas (R. P. Islas, 2002). El proceso de microencapsulación consiste en micropartículas formadas por una membrana polimérica porosa que contiene una sustancia activa, la microencapsulación es una tecnología que está siendo utilizada en la industria textil, metalúrgica, química, alimenticia, cosméticos, farmacéutica y medicina. (R Parra, 2010). En la microencapsulación pequeñas partículas son rodeadas por un recubrimiento integrado a las cápsulas; una capsula es conocida como matriz contenedora del principio activo (Garnica, 2018). Existen diferentes métodos que se utilizan para la obtención de microencapsulados.

- ✓ Secado por aspersion, consiste en la transformación de un material líquido en material sólido, mediante el proceso de secado caliente. Este método es

utilizado cuando existen materiales sensibles al calor, debido a que el tiempo de secado es corto.

- ✓ Polimerización interfacial, se produce la polimerización de un monómero en la interface de dos sustancias inmiscibles, se forma una membrana, dando lugar a la formación de microcápsulas.
- ✓ Incompatibilidad polimérica, en este método se separan dos fases, se utilizan dos polímeros que químicamente son incompatibles en un mismo solvente. Se utiliza cuando el material a encapsular es sólido para lo cual se emplean solventes orgánicos.
- ✓ Coacervación, se obtienen pequeñas esferas de microcápsulas que se caracterizan por evitar las pérdidas por volatilización y proteger contra la oxidación.
- ✓ Liposomas, se obtienen a partir de lípidos y agua. Se procesan mediante moléculas anfifílicas que poseen sitios hidrofóbicos (Villena, Morales, Gallardo, y Ruíz, 2009).

6.7 METODOLOGÍA

En el desarrollo de esta propuesta, se realizará diferentes capacitaciones, que contribuirán al buen desarrollo del proyecto.

Tabla N° 10: Modelo operativo (plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Recursos	Presupuesto	Tiempo
Formulación de la propuesta	Justificar los beneficios, importancia y aporte a la industria del proyecto.	Análisis bibliográfico	Humano Técnico Económico	\$100	1 mes
Desarrollo preliminar de la propuesta	Elaboración de microencapsulado de aceite esencial de tomillo	Obtención de microencapsulado.	Humano Técnico Económico	\$100	15 días
Implementación de la propuesta	Aplicación de procedimientos y técnicas para la obtención del microencapsulado y su inclusión en queso tipo fresco.	Elaboración del producto. Análisis fisicoquímico y microbiológico.	Humano Técnico Económico	\$500	2 meses
Evaluación de la propuesta	Socialización de resultados con la industria.	Análisis del producto	Humano Técnico Económico	\$300	1 mes

6.8 ADMINISTRACIÓN

La propuesta estará coordinada a cargo del Dr. Orestes López y el Ing. Josué Bonifaz.

Tabla N° 11: Administración de la propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Metodología empleada para la Elaboración de queso fresco con inclusión de microencapsulado de aceite esencial de tomillo a escala industrial.	Falta de conocimiento en la inclusión de microencapsulado en queso fresco.	Capacidad antimicrobiana Calidad sensorial	Determinación de la vida útil del producto. Determinación proximal Determinación sensorial	Dr. Orestes López Ing. Josué Bonifaz.

6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Tabla N° 12: Previsión de la evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
¿Por qué evaluar?	Aporte a la industria en el Ecuador.
¿Para qué evaluar?	Producción de alimentos inocuos con mayor tiempo de vida útil.
¿Cuándo evaluar?	Ejecución del proyecto.
¿Cómo evaluar?	Análisis en el Laboratorio.
¿Con qué evaluar?	Investigaciones realizadas.

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, O., Castro, A., Roque, M., & Felix, L. (2000). Composición química del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L “Tomillo”, por cromatografía de gases-espectrometro de masa GC/MS y análisis de su actividad antimicrobiana. *Ciencia e Investigación*.
- AINIA. (2015). El limoneno, clavo y tomillo microencapsulados, de interés para alimentación, calzado y plástico, *4*, 14–15.
- Allaica, N. (2016). *Utilización de polvo de romero como saborizante natural en la elaboración del queso fresco*.
- Alvarenga Botrel, D., Vilela Borges, S., Victória de Barros Fernandes, R., Dantas Viana, A., Maria Gomes da Costa, J., & Reginaldo Marques, G. (2012). Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *International Journal of Food Science and Technology*, *47*(11), 2289–2296. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03100.x>
- Álvarez, D. (2013). *Caracterización de las principales propiedades reológicas de los quesos prensados frescos y amasados expendidos en la ciudad de Cuenca*.
- Álvarez, S., Rodríguez, V., Ruiz, E., & Fresno, M. (2007). CORRELACIONES DE TEXTURA Y COLOR INSTRUMENTAL CON LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE QUESOS DE CABRA CANARIOS, *56*, 663–666.
- AOAC International. (1993). *AOAC 990.19-1993, Solids(Total) in Milk*.
- AOAC International. (1995). *AOAC Method 991.20 Total Nitrogen in Milk*.
- AOAC International. (2000). *AOAC Official Method 2000.18 Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk*.
- Asensio, C. (2013). Utilización de aceites esenciales de variedades de orégano como conservante antimicrobiano, antioxidante y de las propiedades sensoriales de alimentos: queso cottage, ricota y aceite de oliva., 228.
- Barrios Centeno, H. (2006). *Evaluación y mejoramiento de la calidad microbiológica de queso fresco a base de leche no pasteurizada , elaborado artesanalmente y comercializado en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala*.

- Caleja, C., Ribeiro, A., Barros, L., Barreira, J. C. M., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., ... Ferreira, I. C. F. R. (2016). Cottage cheeses functionalized with fennel and chamomile extracts: Comparative performance between free and microencapsulated forms. *Food Chemistry*, 199, 720–726. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.085>
- Cano, E., & Chauca, E. (2017). Calidad bacteriana y su relacion con la acidez total del queso fresco artesanal., (051), 118–124.
- Castro-Rosas, J., Ferreira-Grosso, C. R., Gómez-Aldapa, C. A., Rangel-Vargas, E., Rodríguez-Marín, M. L., Guzmán-Ortiz, F. A., & Falfan-Cortes, R. N. (2017). Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food - A review. *Food Research International*, 102(September), 575–587. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.054>
- Castro Vergara, A. C. (2014). Efecto de la adición de un dextrano sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y funcionales de queso de pasta hilada semigraso, 141. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/46582/1/38212476.2014.pdf>
- Cenobio-Galindo, A. J., Rodriguez-Diaz, I., Salcedo-Hernandez, R., Hernandez-Fuentes, A. D., Quintero-Lira, A., & Campos-Montiel, R. G. (2017). Efecto de un microencapsulado con capacidad antioxidante en un queso funcional tipo oaxaca en su vida de anaquel., 2, 474–480. Retrieved from <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume2/3/9/78.pdf>
- Chacón, A., & Pineda, M. L. (2009). Características químicas , físicas y sensoriales de un queso de cabra adaptado del tipo, 20(737), 297–309.
- Chuquitarco, M. (2011). Aplicación de aceites esenciales de orégano y tomillo en cuatro tipos de hortalizas para disminuir la carga microbiológica patógena.
- Cristóbal, R. L., & Maurtua, D. J. (2003). Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima , Perú , y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp ., 14(3), 158–164.
- De la Ossa, Y., & Rivera, C. (2012). *Analisis comparativo de perfil de textura de los quesos frescos de cabra y vaca, con relacion al contenido de grasa y*

almacenamiento.

- Dehesa, L. F. (2012). Gaceta Médica de Bilbao Tecnología Alimentaria y Salud Humana . El Caso de la Leche y los Productos Lácteos . La Industria Alimentaria como Estrategia, 109(2). <https://doi.org/10.1016/j.gmb.2011.09.002>
- Drusch, S. (2007). Sugar beet pectin : A novel emulsifying wall component for microencapsulation of lipophilic food ingredients by spray-drying, 21, 1223–1228. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.08.007>
- Estrella, G. (2013). *Monitoreo de la calidad e inocuidad durante el almacenamiento de queso fresco elaborado artesanalmente en las parroquias rurales del cantón Riobamba*. Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.
- FAO & OMS. (2013). Norma General Del Codex para el queso. *CODEX Alimentarius*, 1–4. <https://doi.org/1020-2579>
- Favaro-trindade, C. S., Santana, A. S., Monterrey-Quintero, E. S., Trindade, M. A., & Netto, F. M. (2010). Food Hydrocolloids The use of spray drying technology to reduce bitter taste of casein hydrolysate. *Food Hydrocolloids*, 24(4), 336–340. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.012>
- 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), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12759>
- Fuentes Mora, L. (2003). *Estudio de parámetros Microbiológicos que afectan la calidad del Queso tipo Gouda*. Retrieved from <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/faf954e/doc/faf954e.pdf>
- García, R., & Palou, E. (2008). Mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*.
- Garnica, G. (2018). Microencapsulación de aromas y sabores.
- Gil Garzón, M. A., Alzate Tamayo, L. M., Sánchez-Camargo, A. del P., & Millán Cardona, L. de J. (2011). Secado por aspersión: una alternativa para la conservación de los compuestos bioactivos y aromáticos del extracto de ajo

- (*Allium sativum* L.) TT - Spray drying: An alternative to conserve bioactive and aromatic compounds from garlic extract (*Allium sativu*. *Revista Lasallista de Investigación*, 8(2), 40–52. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-44492011000200005&lang=pt%0Ahttp://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v8n2/v8n2a05.pdf
- Godinez, J., Chávez, B., Barrientos, C., & Cano, T. (2001). Obtención Y Caracterización Del Aceite Esencial De Tomillo (*Thymus Vulgaris*) Cultivado En Guatemala, Utilizado En Diversidad De Productos Fitofarmacéuticos., 1–44.
- Gomez, C., & Chuquibala, J. (2014). *Influencia del porcentaje de humedad, tiempo de inmersión en salmuera y presión de envasado al vacío en la vida útil del queso fresco.*
- Gonzales, D. (2017). “*Evaluación de complejos de proteína- polisacáridos en la microencapsulación mediante secado por aspersion del aceite de almendra de capulín (Prunus serotina).*”
- González-Montiel, Lucio; Franco-Fernández, & Melitón Jesús. (2015). Perfil microbiológico del queso de aro consumido en la Cañada Oaxaqueña/Microbiological profile of aro cheese consumed in Oaxaca, Mexico. *Brazilian Journal of Food Technology*, 18(3), 250–257. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.7514>
- González, Pérez, & Urbina. (2014). Efecto de la Microencapsulación sobre las Propiedades Reológicas y Fisicoquímicas del Yogurt Blando. *Información Tecnológica*, 25(6), 45–56. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642014000600007>
- González Villarreal, M. (2002). Tecnología para la Elaboración de Queso Blanco , Amarillo y Yogurt. *República de Panamá*, 1–16.
- Guarda, A., Rubilar, J. F., Miltz, J., & Galotto, M. J. (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *International Journal of Food Microbiology*, 146(2), 144–150. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.011>

- Guerrero, C., Salas, W., & Baldeón, E. (2015). *INSTRUMENTAL EVALUATION A CHEESE TEXTURE MADE FROM CONCENTRATED WHEY BY ULTRAFILTRATION* (Vol. 81).
- Guevara, L. L. (2007). Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying. *Revista Iberoamericana de Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 5(10).
- Guzmán, L., Tejada, C., De la Ossa, Y., & Rivera, C. (2015). *Análisis comparativo de perfiles de textura de quesos frescos de leche de cabra y vaca*. (Vol. 13).
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology*, 3(JAN), 1–24. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>
- INEN. (1996). MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS PARA CONSUMO HUMANO Y PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL — MÉTODO HORIZONTAL PARA LA DETECCIÓN Y RECUENTO DE *Listeria monocytogenes* — Parte 1: MÉTODO DE DETECCIÓN (ISO 11290-1:1996, IDT).
- INEN. (1998). CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. STAPHYLOCOCCUS AUREUS. RECUENTO EN PLACA DE SIEMBRA POR EXTENSIÓN EN SUPERFICIE. AGUA. CALIDAD DEL AGUA. MUESTREO. MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS. *Primera*, 2127.
- INEN. (1999). INEN 1529-2. Control microbiológico de los alimentos. Toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico.
- INEN. (2006). Control microbiológico de los alimentos. determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.
- INEN. (2013). Norma técnica ecuatoriana NTE INEN 1529-14 : 2013 Primera revisión CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. STAPHYLOCOCCUS AUREUS.
- INEN 1528. (2012). Norma técnica ecuatoriana. 1528: 2012. Norma general para quesos frescos no madurados., 2–7.
- Islas, B. (2006). *Caracterización físico-química de diversos tipos de quesos*

elaborados en el valle de Tulancingo Hidalgo con el fin de proponer normas de calidad. Universidad Autonoma del Estado de Hidalgo. Retrieved from http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/506/Caracterizacion_fisico_quimica_tipos_de_quesos.pdf;jsessionid=53AC257CE85D4685D1D207C3CE2C146F?sequence=1

- Islas, R. P. (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. *Memorias Del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 10. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.6.7047>
- Jofre, V. (2009). Validación de la metodología analítica para la determinación De Acidos Grasos En Aceites De Oliva Extra Virgen. *Memoria:Tesis*.
- Khorshidian, N., Yousefi, M., Khanniri, E., & Mortazavian, A. M. (2017). Potential application of essential oils as antimicrobial preservatives in cheese. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.09.020>
- Leimann, F. V., Gonçalves, O. H., Machado, R. A. F., & Bolzan, A. (2009). Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Materials Science and Engineering C*, 29(2), 430–436. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2008.08.025>
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., & Vernon-Carter, E. J. (1999). Propiedades Reológicas De Análogos De Queso: Efectos De Sustituto De Grasa, Grasa Y Humedad Propiedades Reológicas De Análogos De Queixo: Efectos De Sustituto De Grasa, Grasa E Humedade Reological Properties of Analogous of Cheese: Effect of Fat Substitut. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 2(3), 119–124. <https://doi.org/10.1080/11358129909487591>
- López, O., Nogueira, A., & Romero, A. (2015). Estudio preliminar de microencapsulación de aceite de calabaza amarga, 23(1), 52–55.
- López, O., Nogueira, A., & Turiño, W. (2015). MICROENCAPSULACION DE SABORES MEDIANTE SECADO POR ASPERSION, 23(1), 65–69.

- Lopretti, M; Barreiro, F; Fernandes, I; Damboriarena, A; Ottati, C; Olivera, A. (2007). Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. *Publicación Anual Del Laboratorio Tecnológico de Uruguay*, 2(2), 19–23.
- Madene, A., & Jacquot, M. (2006). Review Flavour encapsulation and controlled release – a review, 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.00980.x>
- Marchesini, G., Balzan, S., Segato, S., Novelli, E., Marchesini, G., Balzan, S., ... Andrighetto, I. (2016). Colour traits in the evaluation of the ripening period of Asiago cheese Colour traits in the evaluation of the ripening period of Asiago cheese, 411–414.
- Martinez, A. (2003). Aceites esenciales. *Pharmaceutical Chemistry Faculty*, 1–34. Retrieved from <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>
- Matos, A., Quispe, S., Quito, M., & Beltrán, S. (2010). Evaluación de la capacidad antimicrobiana del aceite esencial de Orégano (*Origanum vulgare*) microencapsuladas con β -ciclodextrina Aplicados en Cultivos Microbianos, 1, 18–24.
- Medina de Dias, R., Dupertius, L., Amadio, C., Dip, G., Zimmermann, M., Espejo, C., & Raimondo, E. (2003). Aceite esencial de tomillo como antioxidante y conservador en hamburguesas funcionales. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias UNCUYO*, 35(2), 13–23.
- Medina, Z., Igual, M., Contreras, C., & Camacho, M. M. (2013). *CARACTERIZACIÓN DE QUESOS FRESCO Y CURADO FABRICADOS A PARTIR DE LECHE DE CABRAS*.
- Morales, A. F., Higuera, J. V., & Cadena, E. M. (2015). Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocytogenes* en queso Ricotta Efecto Antimicrobiano del Aceite Esencial del Tomillo (*Thymus vulgaris*) sobre la contaminación de *Listeria monocyt.*
- Moreno, D. A. (2010). Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health, 51, 327–345. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.07.027>
- Negri, L. (2005). EL pH Y LA ACIDEZ DE LA LECHE, 155–161.

- NTE INEN 0013. (1984). DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE, 0013.
- Organización Mundial de la Salud. (2007). *Informe sobre la salud en el mundo*.
- Osorio Tobón, J. F., Ciro Velásquez, H. J., & Mejía, L. G. (2005). Caracterización Reológica Y Textural Del Queso Edam Rheological and Textural Characterization of the Edam Cheese. *Dyna.Unalmed.Edu.Co*, 72, 33–45. Retrieved from <http://dyna.unalmed.edu.co/ediciones/147/articulos/HC230804/HC230804.html>
- Parra, R. (2010). *Microencapsulación de alimentos*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* (Vol. 63).
- Parra, R. (2011). *Microencapsulación de Alimentos*. *Open Journal Systems* (Vol. 63). <https://doi.org/0304-2847>
- Pastuña, A. (2016). *Microencapsulación de aceite de sacha inchi mediante secado por aspersión*. Universidad Técnica de Ambato.
- Paulo, F., & Santos, L. (2017). Design of experiments for microencapsulation applications: A review. *Materials Science and Engineering C*, 77, 1327–1340. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.219>
- Pedroza, R. (2002). Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los Procesos para la Microencapsulación de Alimentos para Larvas de Especies Acuícolas. *Memorias Del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*, 10. <https://doi.org/10.3305/nh.2014.29.6.7047>
- Pinho, O., Mendes, E., Alves, M. M., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2004). Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of “Terrincho” Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison. *Journal of Dairy Science*, 87(2), 249–257. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73163-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73163-X)
- Plaza-Ibarra, L., & Morales Romo-Leroux, M. F. (2001). *Análisis Microbiológico en Quesos Frescos que se Expenden en Presencia o Ausencia de Listeria y Salmonella*. *Escuela Superior Politécnica del Litoral*.
- Polit, U., & Val, C. D. E. (2016). VALÈNCIA Composición química de los aceites esenciales de Lavanda y Tomillo . Determinación de la actividad.
- Prates, F., Rauber, S., Júlia, W., & Goldbeck, C. (2017). Microbiological quality and safety assessment in the production of moderate and high humidity cheeses,

9–14.

- Rodriguez, A., & Playas, Y. (2016). *Incorporación de nisina encapsulada en alginato de calcio y lactosuero en un queso campesino*.
- Rodriguez Gomez, J. M. (2010). Consecuencias higiénicas de la alteración de los alimentos. *Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de Los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. 1.*, 19–66. Retrieved from <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1107/1121>
- Rosas, A., & López, A. (2011). Actividad Antimicrobiana de Aceite Esencial de Tomillo. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*.
- Rubio, A. (2016). Determinación de aceites esenciales microencapsulados (limón y árbol del té) empleados como bioplaguicidas.
- Ruiz, A. M. (2016). Determinación de bioplaguicidas microencapsulados : aceites de canela y menta.
- Ruíz, R., Menco, N., & Chams, linda. (2017). Valoración microbiológica de queso costeño artesanal y evaluación higiénico-locativa de expendios en Córdoba, Colombia. *Rev. Salud Pública*, 19(3), 311–317. <https://doi.org/10.15446/rsap.v19n3.54853>
- Salazar, D. (2013). Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos.
- Sandoval Aldana, A., Rodríguez Sandoval, E., & Ayala Aponte, A. (2011). Encapsulación de Aditivos para la Industria de Alimentos. *Ingeniería y Competitividad*, 5(2), 73. <https://doi.org/10.25100/iyc.v5i2.2298>
- Saransig, B. (2013). *Evaluación de la calidad sensorial y nutritiva del queso fresco elaborado con sustitución parcial de aceite de sachá inchi*. Universidad Técnica de Ambato.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, D. R. P. y A. (2006). *Elaboración de quesos tipo Panela y Oaxaca. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca Y Alimentación*. Oaxaca, México.
- Segato, S., Balzan, S., Elia, C. A., Lignitto, L., Granata, A., Magro, L., ... Novelli, E. (2016). Effect of period of milk production and ripening on quality traits of Asiago cheese Effect of period of milk production and ripening on quality traits

- of Asiago cheese, 469–472.
- Taylor, P., Bringas-Iantigua, M., Expósito-molina, I., Reineccius, G. a, López-, O., & Pino, J. a. (2012). Influence of Spray-Dryer Air Temperatures on Encapsulated Mandarin Oil Influence of Spray-Dryer Air Temperatures on Encapsulated Mandarin Oil. *Drying Technology: An International Journal*, 29(June 2014), 520–526. <https://doi.org/10.1080/07373937.2010.513780>
- UNE-ISO. (2008). Análisis sensorial de alimentos.
- Vargas-Uscategui, R., Arenas-Clavijo, A., & Ramírez-Navas, J. S. (2017). Efecto del proceso de acidificación sobre el color de queso cottage. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3), 677. <https://doi.org/10.15517/ma.v28i3.22876>
- Vásquez, V., Salhuana, J., Jiménez, L., & Abanto, L. (2018). *Evaluacion de la calidad bacteriologica de quesos fresco en Cajamarca* (Vol. 17). <https://doi.org/10.21704/rea.v17i1.1172>
- Villacrez, J. L. (2013). Desarrollo de microencapsulados por SPRAY DRYING a partir de frutos de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth), 92.
- Villena, M., Morales, M., Gallardo, V., & Ruíz, M. (2009). Técnicas de microencapsulación : una propuesta para microencapsular, 50, 43–50.
- Young, S. L., Sarda, X., & Rosenberg, M. (1993). Microencapsulating Properties of Whey Proteins. 2. Combination of Whey Proteins with Carbohydrates. *Journal of Dairy Science*, 76(10), 2878–2885. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77626-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77626-2)
- Zuñiga, L., Ciro, H., & Osorio, J. (2007). *Estudio de la dureza del queso edam por medio de análisis de perfil de textura y penetrometría por esfera*. Medellín.