



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**Desarrollo y caracterización funcional de quesos
frescos adicionados con oleorresina de chile
habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con alto
contenido en capsaicinoides**

TESIS

Para obtener el título de

Licenciada en Nutrición

PRESENTA

P.L.Nut. Mariel Guadalupe Valencia Cordova
No. cuenta: 247278

Bajo la Dirección de:
Dr. Ernesto Alanís García
Profesor Investigador de tiempo completo
UAEH-ICSA

Codirección:
Dra. Nelly del Socorro Cruz Cansino
Profesor Investigador de tiempo completo
UAEH-ICSA



San Agustín, Tlaxiaca, Hgo, noviembre de 2019

Mariel Guadalupe Valencia Cordova



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**



De acuerdo con el artículo 40 del Reglamento de Titulación vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

"Desarrollo y caracterización funcional de quesos frescos adicionados con oleoresina de chile habanero (*Capsicum chinense Jacq.*) con alto contenido en capsaicinoides"

Que para obtener el Título de Licenciada en Nutrición sustenta la Pasante

C. Mariel Guadalupe Valencia Cordova

ATENTAMENTE

Pachuca, Hidalgo, 16 de enero de 2020

"Amor, Orden y Progreso"

PRESIDENTE:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
SECRETARIO:	DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA
PRIMER VOCAL:	MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ
SEGUNDO VOCAL:	DRA. GUADALUPE LÓPEZ RODRÍGUEZ
TERCER VOCAL:	DR. ERNESTO ALANÍS GARCÍA
PRIMER SUPLENTE:	DRA. ESTHER RAMÍREZ MORENO
SEGUNDO SUPLENTE:	MTRA. CLAUDIA ELENA VALADÉZ SERRANO

“DEJA QUE TODO TE ACONTEZCA
BELLEZA Y TERROR
SOLO SIGUE ADELANTE
NINGÚN SENTIMIENTO ES DEFINITIVO”
RAINER MARIA RILKE.

DEDICADO A LOS ÁNGELES QUE DIOS
ME HA DADO:
ROSA, VULFRANO, JACINTO,
CONSTANTINO Y CHRISTIAN GAEL.

Agradecimientos:

En primer lugar agradezco a **Dios** por la vida y la oportunidad que me dio de estar donde me encuentro el día de hoy, por las enseñanzas y bendiciones que me ha confiado.

A mi hijo **Christian Gael**, gracias por donar el tiempo que merecías que estuviera contigo, para que yo lograra mis metas, gracias por ser paciente y esperar, gracias por llenar mi vida con felicidad y gracias porque sin ti, yo no sería nada. Te amo con mi vida entera, estos logros son porque estás conmigo, eres mi más grande tesoro y mi mayor motivación.

A mi padre **Vulfrano** por enseñarme que la disciplina y la constancia me llevarán lejos, y a mi madre **Guadalupe** por enseñarme que todo lo que quieres lo puedes lograr y que siempre hay que dar el mejor esfuerzo en lo que sea que hagas. A ambos por su apoyo y amor sin límites, gracias por nunca dejarme sola, esto es de ustedes, gracias por ser los mejores padres.

Al resto de mi familia, gracias por el apoyo y las palabras de aliento, en especial gracias a mi hermano **Agustin**, a mi cuñada **Bibiana** y a mi sobrino **Mateo**, por estar en mi vida, por ayudarme, por celebrar mis logros, pero también estar en los momentos difíciles.

A las mujeres que estuvieron conmigo desde que inicie con esto: **Mariana**, gracias por siempre estar conmigo, por confiar en mí, por compartir todo, siempre dar más de lo que recibes y por qué jamás te cansas de escucharme, a **Betty**, gracias por tu apoyo incondicional en mi vida, por toda tu ayuda en el desarrollo de esta tesis porque sin eso, no se habría acabado nunca, por acompañarme en cada paso, por alegrarte y también llorar con mis cosas, a **Mosy** gracias porque cuando te necesite estuviste conmigo, a las tres gracias con todo el corazón por regalarme su amistad.

A quien siempre me escuchó atentamente y cuando estaba a punto de renunciar, me regaló las palabras que me dieron la fuerza para cumplir esta meta, por el cuidado, la dedicación, el tiempo, el apoyo, el amor que me has dado y por que nunca dudo que iba a lograr esta meta, gracias **David**.

A mis amigos del laboratorio: a **Lis**, por apoyarme y escucharme **Andrea**, por hacerme reír y preocuparte por mí, **Jiménez**, por compartir y ayudarme **Traspeña** por la confianza y el apoyo y **Lili**, por las pláticas y por entenderme, a los cinco gracias por hacer más llevaderos los problemas, porque con ustedes todo fue más fácil, gracias por demostrarme que los amigos siempre están en las buenas y en las malas, me los llevo en el corazón.

Dra. Quina, gracias por escucharme, ayudarme y estar al pendiente de mí, **Dra. Alicia**, gracias por tu ayuda en este trabajo, por esas pláticas y bromas que nunca se si son bromas, pero siempre me provocabas una sonrisa, **Mtro. Chava**, gracias por que tus conocimientos contribuyeron a este trabajo, pero sobre todo gracias por brindarme tu amistad y **Mtra. Gloria**, gracias por siempre estar dispuesta a ayudarme y darme ánimos, tal vez no desde niñas pero hoy somos amigas y agradezco eso, a los cuatro gracias por enseñarme lo que sabían, por ayudarme, guiarme, escucharme incondicionalmente, gracias porque me regalaron su tiempo y hasta las ganas de seguir en este camino.

A la **Dra. Nelly**, gracias por ayudarme siempre, por tanto tiempo y dedicación con este proyecto, gracias por enseñarme a ser perseverante y por creer en mí, porque su apoyo fue una parte fundamental de este proyecto.

A la **Dra. Angelita**, por el conocimiento que me brindo, por esas largas jornadas pero siempre amenas, porque para mi aprender de usted fue muy importante.

Al **Dr. Alanís, Dr. Ariza, Mtra. Claudia y Dra. Esther** gracias por su apoyo en esta tesis, por compartir sus conocimientos y su tiempo.

A las personas con quien me encontré en esta etapa por hacer más amena mi estancia a **Eloisa, Lore, Nery, Iris, Jessica, Pau y Pao**.

Índice

Resumen	1
Summary.....	3
1. Marco teórico.....	5
1.1 Generalidades del chile habanero.....	5
1.2 Generalidades de los capsaicinoides.....	5
1.3 Características fisicoquímicas y moleculares de la capsaicina.....	8
1.4 Actividad antioxidante y antimicrobiana de la capsaicina.....	9
1.5 Extracción de la capsaicina.....	10
1.6 Métodos de cuantificación de capsaicinoides.....	12
1.7 Beneficios sobre la salud de la capsaicina.....	14
1.8 Uso de las oleorresinas en la industria alimentaria.....	17
1.9 Adición de oleorresinas en alimentos.....	18
1.10 Acción de las caseínas sobre la pungencia de la capsacina.....	19
1.11 Generalidades de los quesos frescos.....	20
1.11.1 Queso panela.....	21
1.11.2 Queso Oaxaca.....	22
2. Problema de investigación.....	23
3. Justificación.....	24
4 Objetivo General.....	25
4.1 Objetivos específicos.....	25
5. Metodología.....	26
5.1 Obtención y análisis cualitativo y cuantitativo de capsaicina y dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero.....	29

5.1.1 Obtención de la muestra de chile habanero	29
5.1.2 Curva de secado.....	29
5.1.3 Obtención de oleorresina de chile habanero.	29
5.1.4 Rendimientos de la oleorresina	30
5.1.5 Cuantificación de capsacinoides por HPLC.....	30
5.2 Análisis cuantitativo de fenoles totales y actividad antioxidante en la oleorresina de chile habanero.	31
5.2.1 Contenido fenólico total.	31
5.2.2 Determinación de actividad antioxidante por ABTS.....	32
5.2.3 Determinación de actividad antioxidante por DPPH.	32
5.3 Elaboración de quesos frescos y adición de capsacinoides.....	33
5.3.1 Elaboración de queso panela	33
5.3.2 Elaboración de queso Oaxaca.....	33
5.3.3 Adición de oleorresina de chile habanero a quesos.....	34
5.4 Análisis químico proximal de quesos	35
5.4.1 Humedad.	35
5.4.2 Proteína.	36
5.4.3 Grasa.	36
5.4.4 Cenizas.....	37
5.4.5 Carbohidratos.	38
5.5 Análisis microbiológico de quesos	38
5.5.1 Preparación de las muestras para análisis microbiológico.	38
5.5.2 Coliformes totales	38
5.5.3 Bacterias ácido lácticas	38
5.5.4 Levaduras	39

5.6 Evaluación sensorial de quesos.....	39
5.7 Contenido fenólico total y actividad antioxidante en quesos	40
5.7.1 Extracción de péptidos en quesos para medición de antioxidantes en quesos.	40
5.7.2 Extracción etanólica para medición de antioxidantes en quesos.....	40
5. 8 Calidad de quesos	41
5.8.1 Determinación de pH y acidez titulable.....	41
5.8.2 Determinación de sinéresis.....	41
5.9 Análisis estadístico.....	42
6. Resultados y discusión.....	43
6.1 Obtención y análisis cuanti y cualitativo de capsaicina y dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero.....	43
6.1.1 Curva de secado para a deshidratación del chile habanero.	43
6.1.2 Rendimientos de la extracción.....	44
6.1.3 Análisis cuali y cuantitativo de capsaicina y dihidrocapsaicina por HPLC.	44
6.1.4 Cuantificación de capsaicina y dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero durante almacenamiento.	46
6.2 Análisis cuantitativo de fenoles totales y actividad antioxidante en la oleorresina de chile habanero.	48
6.2.1 Determinación de contenido fenólico total en oleorresina de chile habanero.	48
6.2.2 Capacidad antioxidante por ABTS en oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.....	50
6.2.3 Capacidad antioxidante por DPPH en oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.....	51
6.3 Análisis químico proximal y microbiológico en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero.....	52

6.3.1 Análisis químico proximal de quesos adicionados con oleorresina de chile habanero.....	53
6.3.2 Coliformes totales	55
6.3.3 Bacterias ácido lácticas.	58
6.3.4 Levaduras	59
6.4 Evaluación sensorial de quesos.....	60
6.4.1Evaluación sensorial de los quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero.	60
6.4.2 Frecuencia de consumo de chile.	62
6.5 Contenido fenólico total y actividad antioxidante en quesos	64
6.5.1 Contenido fenólico total en queso frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	64
6.5.2 Actividad antioxidante medida por ABTS en quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero	67
6.5.3 Capacidad antioxidante por DPPH en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero	70
6.6 Calidad de quesos	73
6.6.1 pH y acidez titulable en quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	73
6.6.2 Sinéresis.	76
7. Conclusiones.....	78
8. Recomendaciones.....	80
14. Anexos	99
Anexo 1. Curva patrón de capsaicina para HPLC.....	99
Anexo 2. Curva patrón de dihidrocapsaicina para HPLC-.....	99
Anexo 3. Curva patrón para determinación de Contenido fenólico total.	100

Anexo 4. Curva patrón para prueba de DPPH.....	100
Anexo 5. Curva patrón para prueba de ABTS.....	101
Anexo 6. Hoja de evaluación sensorial	102
Anexo 7. Frecuencia de consumo de chile	103

Índice de tablas

Tabla 1. Cadenas laterales que presentan los distintos tipos de capsaicinoides.	7
Tabla 2. Clasificación de quesos.	20
Tabla 3. Diferentes concentraciones adicionadas de capsaicina en los quesos frescos	35
Tabla 4. Concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero.	48
Tabla 5. Contenido fenólico y actividad antioxidante en oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	52
Tabla 6. Composición química proximal de quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero	54
Tabla 7. Frecuencia de consumo de chile en población evaluada	63
Tabla 8. Contenido de fenoles totales en quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	66
Tabla 9. Capacidad antioxidante por ABTS en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	69
Tabla 10. Capacidad antioxidante por DPPH en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	72
Tabla 11. pH y acidez titulable en quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.	75
Tabla 12. Pérdida de peso por sinéresis en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero.	77

Índice de figuras

Figura 1. Estructura base de los capsaicinoides	6
Figura 2. Estructura química de la capsaicina.....	6
Figura 3. Purificación de la oleorresina de chile habanero.....	11
Figura 4. Quesos frescos. panela (a) y Oaxaca (b).....	22
Figura 5. Diseño metodológico. Etapa 1.	27
Figura 6. Diseño metodológico. Etapa 2.	28
Figura 7. Curva de secado para deshidratación por convección de chile habanero.	43
Figura 8. Cromatogramas de capsacina y dihidrocapsaicina por HPLC:	46
Figura 9. Presencia de Coliformes totales en muestras de queso panela y Oaxaca	57
Figura 10. Presencia de las BAL en muestras de queso panela y Oaxaca.....	59
Figura 11. Evaluación sensorial de quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero.....	61
Figura 12. Pungencia de quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero.....	62
Figura 13. Curva patrón de capsaicina para HPLC	99
Figura 14. Curva patrón de dihidrocapsaicina para HPLC.	99
Figura 15. Curva patrón contenido fenólico total.....	100
Figura 16. Curva patrón para prueba de DPPH	100
Figura 17. Curva patrón para prueba de ABTS.....	101

Abreviaturas

% AT: Porcentaje de acidez titulable

Abs: Absorbancia

ABTS: 2, 2-acino-bis-(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

BAL: Bacterias ácido lácticas

CAP: Capsaicina

CFT: contenido de fenoles totales

CGRP: Péptido relacionado con el gen de la calcitonina

C00: Control de queso Oaxaca

C0P: Control de queso panela

C1O: Concentración 1 de queso Oaxaca

C1P: Concentración 1 de queso panela

C2O: Concentración 2 de queso Oaxaca

C2P: Concentración 2 de queso panela

C3O: Concentración 3 de queso Oaxaca

C3P: Concentración 3 de queso panela

DHC: Dihidrocapsaicina

DPPH: 2.6-Difenil-1-Picrilhidrazilo

EAG: Equivalentes de Ácido Gálico

ET: Equivalentes de Trolox

EUA: Estados Unidos de América

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

NOM: Norma Oficial Mexicana

OCH: Oleorresina de chile habanero

pH: Potencial de Hidrógeno

ppm: partes por millón

SAGARPA: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural Pesca y Alimentación

TPRV1: Receptor de Potencial Transitorio V1

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Unidades de medida

µL: Microlitros

µmol: micromoles

h: Horas

L: Litros

Log: Logaritmo base 10

min: Minutos

°C: Grados celsius

rpm: Revoluciones por minuto

1 **Resumen**

2 El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es parte de los chiles más picantes del
3 mundo debido a sus alcaloides (capsaicinoides), sus efectos benéficos en la salud se
4 han evidenciado mediante suplementación y se ha comprobado efecto antiobesidad,
5 anticáncer, antidiabéticos, alivio al dolor, beneficios en el tracto gastrointestinal, y
6 cardioprotector. Sin embargo, debido a su característica pungencia, la ingesta de la
7 fuente natural se vuelve complicada, y la obtención en encapsulados resulta ser de
8 costos elevados. El objetivo de este trabajo fue desarrollar y caracterizar quesos
9 frescos adicionados con oleoresina de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.
10 (OCH)) con capsaicinoides para determinar características fisicoquímicas,
11 microbiológicas y antioxidantes. En la OCH, durante el almacenamiento, se
12 cuantificaron los capsaicinoides, fenoles totales y actividad antioxidante. Se utilizaron
13 dos tipos de queso fresco, Oaxaca y panela, con tres concentraciones diferentes C1,
14 C2 y C3 (0.84, 1.68, 2.53 mg CAP/30 g respectivamente), y un control (C0), en los
15 quesos adicionados con oleoresina se determinó el análisis químico proximal,
16 recuento microbiano, evaluación sensorial y pungencia, y durante el almacenamiento
17 se evaluó el pH, acidez titulable, sinéresis, contenido fenólico total y actividad
18 antioxidante por ABTS y DPPH (extracción acuosa y etanólica). Durante el
19 almacenamiento, de la OCH, su concentración de capsaicina y de dihidrocapsaicina
20 fue estable a los 35 días a 4°C, su contenido fenólico total se mantuvo sin cambio
21 hasta el día 45 (29.13 ± 0.61 - 28.31 ± 0.17 mg EAG/mL), así como la actividad
22 antioxidante por DPPH al día 35 (11.30 ± 1.73 - 10.18 ± 0.67 μ mol ET/mL), y únicamente
23 al día 15 para ABTS (7.78 ± 0.029 - 6.08 ± 0.07 μ mol ET/mL). Respecto a los quesos
24 frescos no hubo diferencia en los valores de carbohidratos y cenizas, sin embargo,
25 para proteína, grasa y humedad, los quesos Oaxaca fueron mayores
26 significativamente respecto a los quesos panela. El contenido de coliformes totales
27 en todas las muestras (4.02-3.36 Log UFC/g) estuvieron por debajo de los límites
28 establecidos por la NOM-243-SSA1-2010, y se encontró un menor crecimiento de
29 bacterias ácido lácticas en los quesos Oaxaca (4.71-3.36 Log UFC/g) comparados

1 con los quesos panela (4.71-4.68 Log UFC/g), no se detectaron levaduras en
2 ninguna muestra.

3 En el contenido fenólico total, entre las muestras por día de almacenamiento, en la
4 extracción acuosa, los quesos Oaxaca adicionados (94.03 ± 0.35 - 164 ± 7.97 mg
5 EAG/100 g) fueron mayores en relación a los quesos panela (67.70 ± 2.76 - 23.05 ± 2.89
6 mg EAG/100 g), contrario a la extracción etanólica donde los panela (23.66 ± 0.87 -
7 59.46 ± 1.41 mg EAG/100 g) fueron mayores en comparación con los quesos Oaxaca
8 (22.28 ± 0.32 - 44.19 ± 0.86 mg EAG/100 g). En ABTS, relacionado todas las muestras
9 por los días almacenados, en la extracción acuosa, los quesos Oaxaca (6.51 ± 0.31 -
10 19.85 ± 0.48 mg ET/100 g) arrojaron valores por encima de los quesos panela
11 (34.80 ± 0.50 - 45.56 ± 0.22 mg ET/100 g), mientras que en la extracción etanólica, las
12 muestras de panela (9.09 ± 1.06 - 25.58 ± 1.4 mg ET/100 g) fueron mayores. En cuanto
13 a DPPH, en relación a todas las muestras por día de almacenaje, los quesos panela
14 (1325 ± 49.67 - 1564 ± 30.78 mg ET/100 g) fueron más altos con respecto a los quesos
15 Oaxaca (8330.86 ± 1621.56 - 1278.43 ± 85.37 mg ET/100 g) en la extracción acuosa,
16 para la extracción etanólica, las muestras fueron similares (1570 ± 72 - 1712.28 ± 14.36
17 mg ET/100 g). El contenido de capsaicinoides en la oleoresina es alto y estable
18 hasta el día 35 (14.37 mg CAP/g y 10.49 mg DHC/g), sensorialmente los quesos
19 Oaxaca fueron mejor aceptados, además de mantener su actividad antioxidante en el
20 almacenamiento. Por lo anterior los quesos adicionados con oleoresina de chile
21 habanero contienen capsaicinoides y fenoles, los cuales son compuestos bioactivos
22 de interés para la salud. Por lo que podría ser una alternativa en la prevención de
23 enfermedades no transmisibles para el consumidor en general, así como
24 coadyuvante para el tratamiento de la obesidad.

25

26 **Palabras clave:** Chile habanero, capsaicina, dihidrocapsaicina, oleoresina, quesos
27 frescos, y almacenamiento

1

2 **Summary**

3 Habanero chili (*Capsicum chinense* Jacq.) is one of the spiciest chili peppers in the
4 world due to the presence of some alkaloids (capsaicinoids), its beneficial effects on
5 health have been evidenced by supplementation and proven anti-obesity, anti-cancer,
6 anti-diabetic, pain relief, benefits in gastrointestinal tract, and cardioprotective effects,
7 however, due to its characteristic pungency, the intake of natural source is
8 complicated, and the encapsulation results be of high costs. The objective of this
9 work was to characterize fresh cheeses added with oleoresin of habanero pepper
10 (*Capsicum chinense* Jacq.) with a high capsaicinoids content to determine
11 physicochemical, microbiological and antioxidant characteristics. In the oleoresin of
12 habanero pepper during storage, the content of capsaicinoids, total phenols and
13 antioxidant activity was quantified. Two types of fresh cheese “Oaxaca and panela”,
14 with three different capsaicin concentrations: C1, C2 and C3 (0.84, 1.68 and 2.53 mg
15 CAP / 30 g respectively), were used and a control (C0), based on the beneficial dose
16 reported for patients with obesity, in cheeses added with oleoresin, the proximal
17 chemical analysis, microbial count, sensory evaluation and pungency were
18 determined, and during storage pH, titratable acidity and syneresis the total phenolic
19 content and antioxidant activity by ABTS and DPPH, aqueous and ethanolic
20 extraction were evaluated. On the first day of extraction, the oleoresin of habanero
21 pepper presented a capsaicin concentration of 14.37 ± 1.08 and dihydrocapsaicin of
22 10.49 ± 0.33 , which were stable during the 35 days stored at 4 °C, and total phenolic
23 content remained without changes until the day 45 (29.13 ± 0.61 - 28.31 ± 0.17 mg
24 GAE/mL), The DPPH values were stable up to the day 35 of storage (11.30 ± 1.73 -
25 10.18 ± 0.67 $\mu\text{mol TE/mL}$) and values for ABTS were similar until the 15 (7.78 ± 0.029 -
26 6.08 ± 0.07 $\mu\text{mol TE/mL}$). Respect to fresh cheeses, there were no difference in the
27 values of carbohydrates and ashes, however, for protein, fat and moisture, Oaxaca
28 cheeses were higher significantly compared with panela cheeses. Total coliform
29 content in all samples showed 4.02-3.36 Log CFU/g under the limits established by
30 NOM-243-SSA1-2010 and lower growth lactic acid bacteria was found in Oaxaca

1 cheeses (4.71-3.36 Log CFU/g) in relation to panela cheeses (4.71-4.68 Log CFU/g)
2 and were no detected yeasts in any sample.
3 In total phenolic content, among the samples per day of storage, in aqueous
4 extraction, the Oaxaca cheeses added (94.03 ± 0.35 - 164 ± 7.97 mg GAE/100 g) were
5 higher in relation to the panela cheeses (67.70 ± 2.76 - $23.05 \pm$ mg GAE/100 g), contrary
6 to the ethanolic extraction where the panela cheeses were larger compared to the
7 Oaxaca cheeses (22.28 ± 0.32 - 44.19 ± 0.86 mg GAE/100 g). In ABTS, related all the
8 samples for the days stored, in the aqueous extraction, the Oaxaca cheeses
9 (6.51 ± 0.31 - 19.85 ± 0.48 mg TE/100 g) threw values above to the panela cheeses
10 (34.80 ± 0.50 - 45.56 ± 0.22 mg TE/100 g), while in the ethanolic extraction, the panela
11 samples (9.09 ± 1.06 - 25.58 ± 1.4 mg TE/100 g) were high. As for DPPH, in relation to
12 all samples per day of storage, the panela (8330.86 ± 1621.56 - 1278.43 ± 85.37 mg
13 TE/100 g) were higher with respect to Oaxaca cheeses (8330.86 ± 1621.56 mg TE/100
14 g) in aqueous extraction; for ethanolic extraction, the samples were similar (1570 ± 72 -
15 1712.28 ± 14.36 mg TE/100 g). The content of capsaicinoids in oleoresin is high and
16 stable until day 35 (14.37 mg CAP/g and 10.49 mg DHC/g), Oaxaca cheeses were
17 better accepted sensory, besides to maintaining their antioxidant activity in storage.
18 Therefore, cheeses added with oleoresin of habanero pepper contain capsaicinoids
19 and phenols, which are bioactive compounds of interest to health. Therefore it could
20 be an alternative in the prevention of noncommunicable diseases for the consumer in
21 general, as well as an adjuvant for the treatment of obesity.

22

23 **Keywords:** Habanero pepper, capsaicin, dihydrocapsaicin, oleoresin, fresh cheeses
24 and storage

1. Marco teórico

1.1 Generalidades del chile habanero

Desde tiempos remotos, los chiles han formado parte de la dieta y cultura mexicana utilizados como alimento y condimento, ya que su sabor picante brinda la característica principal de los alimentos mexicanos (Castellón-Martínez et al., 2012). Existen alrededor de 29 especies de chiles descritas y clasificadas en México, de las cuales cinco son domesticadas y utilizadas por el hombre. Algunas de las especies más comunes son: *Capsicum annum* L, *Capsicum frutescens* L, *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum pubescens* L, de los cuales *Capsicum annum* L y *Capsicum frutescens* L son nativas (Rodríguez, 2012).

El origen del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) se encuentra en Sudamérica, en la cuenca del Orinoco, sin embargo, México lo ha adoptado en la actividad culinaria por su característico sabor (Tapia-Vargas et al., 2016). En México la producción de *Capsicum chinense* Jacq. es mayor en el ciclo otoño-invierno con 57% mientras que el restante (43%) se produce en la temporada primavera-verano. Por otro lado, Yucatán con el 41% y Tabasco con el 32%, generan más de la mitad de la producción nacional (SAGARPA, 2015), el contenido de capsaicina (CAP) (el compuesto que genera la pungencia) en el chile habanero está entre 350 mil y 500 mil Unidades Scoville (Tapia-Vargas et al., 2016) escala que lo hace posicionar como uno de los chiles más picantes del mundo.

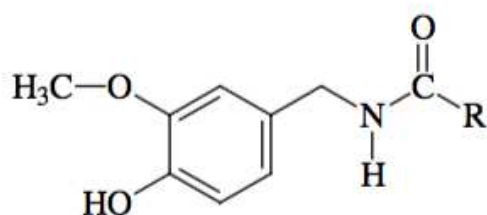
22

1.2 Generalidades de los capsaicinoides

El sabor picante de los chiles se debe a un grupo de alcaloides llamados capsaicinoides (Figura 1), los cuales son exclusivamente sintetizados en la placenta de la fruta donde se acumulan en vesículas, y son considerados metabolitos secundarios (Mendoza, 2013). Estos compuestos se sintetizan a partir de la condensación de un compuesto fenólico (vainillilamina) con un ácido graso (8-metil-

1 6-nonenol-CoA) (Sánchez y Gutiérrez, 2016). Existen diferencias estructurales como
 2 el número de carbonos de la cadena lateral (R) y de si poseen o no insaturaciones,
 3 las cuales ayudan a identificar los distintos tipos de capsaicinoides. En la tabla 1 se
 4 representan las cadenas más abundantes presentes en los capsaicinoides
 5 (Fernández, 2008).

6



7

Figura 1. Estructura base de los capsaicinoides

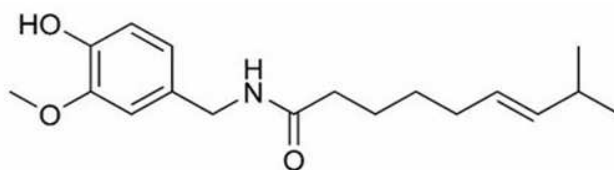
8

9 Los miembros más importantes de este grupo son la capsaicina (CAP) (Figura 2), la
 10 dihidrocapsaicina (DHC), la norhidroxicapsaicina, la homocapsaicina y la
 11 homohidrocapsaicina. La CAP y DHC constituyen aproximadamente el 90% del
 12 contenido total de capsaicinoides en los chiles, prevaleciendo casi en todos los casos
 13 la capsaicina como el componente más abundante (Orellana-Escobedo et al., 2013).

14

15

16



17

18

19

Figura 2. Estructura química de la capsaicina.

20

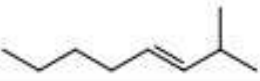
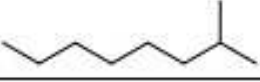
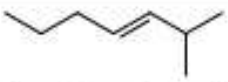

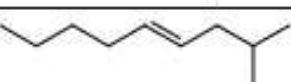
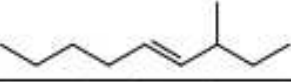


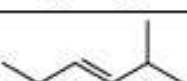


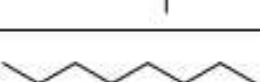


21

22

23

1

2 Tabla 1. Cadenas laterales que presentan los distintos tipos de capsaicinoides.

R =	NOMBRE
	Capsaicina
	Dihidrocapsaicina
	Norcapsaicina
	Nordihidrocapsaicina
	Homocapsaicina I
	Homocapsaicina II
	Homodihidrocapsaicina I
	Homodihidrocapsaicina II
	Homodihidrocapsaicina II
	Nornordihidrocapsaicina
	Nornornordihidrocapsaicina
	Nonivamida
	Vainillilamida de ác. decílico
	Vainillilamida de ác. caprílico

3

4

Nota: En la columna R se pueden observar las cadenas ramificadas y sus diferencias para poder identificar los capsaicinoides (Fernández, 2008).

5

6

1 A pesar de las variedades de especies de chile, como el *Capsicum annuum* var.
2 *annuum*, *Capsicum annuum* L. var. *acuminatum* y *Capsicum chinense* Jacq, el
3 contenido de capsaicinoides depende del estado de maduración del chile, cuando la
4 maduración está avanzada se incrementa el contenido de capsaicinoides, y se debe
5 al cambio en el metabolismo del fruto y la disminución en las peroxidasas en la
6 maduración (Cerón-Carrillo et al., 2014). El contenido de los capsaicinoides se
7 encuentra genéticamente controlado en el fruto, no obstante existen variables
8 ambientales como la temperatura, luz, humedad del suelo y el nivel de fertilización
9 que afectan directamente el contenido de estas sustancias en el fruto (Ruíz-Lau et
10 al., 2010) por lo tanto, se requiere especial atención en estos factores para garantizar
11 la estabilidad de estos componentes.

12

13 **1.3 Características fisicoquímicas y moleculares de la capsaicina.**

14 La capsaicina ($C_{18}H_{27}NO_3$), es un alcaloide incoloro sin sabor ni aroma, el cual se
15 produce en la parte superior de la fruta (chile) donde la placenta y las paredes son
16 unidas, este compuesto está presente en el vegetal fresco y perdura aun cuando la
17 especie se encuentra seca (Mendoza, 2013). La forma física se reconoce por
18 escamas o placas monocíclicas, tiene un peso molecular de 305.4 g/mol, un punto de
19 fusión de 62–65 °C (Roth, 2017), punto de ebullición de 210–220 °C a una presión
20 absoluta de 0.01 mmHg, se sublima a 115 °C y presenta su máxima absorción en UV
21 a 227–228 nm. Es soluble en éter etílico, alcohol etílico, acetona, alcohol metílico,
22 ácido acético, tetracloruro de carbono, benceno y álcalis calientes, e insoluble en
23 agua fría con un valor aproximado 6.4 de pH (Acofarma, 2006). La estabilidad de la
24 capsaicina en soluciones almacenadas, a una concentración de 4 M o superior
25 durante un año si se almacenan a 4 °C protegidas de la luz son estables (Kopec et
26 al., 2002). Aunado a esto se han reportado distintos beneficios de esta molécula,
27 como los explicados a continuación.

28

1 **1.4 Actividad antioxidante y antimicrobiana de la capsaicina.**

2 Se ha demostrado que los pimientos picantes son una buena fuente de antioxidantes
3 dietéticos, ya que además de contener compuestos como carotenoides (105-134
4 mg/100 g), vitamina A (148-243 µg/100 g), ácido ascórbico (60-150 mg/100 g)
5 polifenoles (150-600 mg/100 g), se presentan constituyentes específicos que
6 generan la pungencia llamados capsaicinoides (principalmente CAP y DHC) a los
7 que se les atribuye una notable actividad antioxidante (Mendoza-Sánchez et
8 al.,2015).

9

10 Durante la maduración en la especie *Capsicum chinense* Jacq., la concentración de
11 carotenoides y capsaicinoides aumenta conforme el chile llega a su madurez,
12 mientras que la concentración de fenoles disminuye. En cuanto a la actividad,
13 antioxidante, los pimientos maduros muestran una actividad significativa evaluada
14 por la prueba de blanqueo de β-caroteno y los pimientos inmaduros presentan una
15 actividad superior en la eliminación de radicales (Menichini et al., 2009). Desde 1992
16 se reporta que la CAP puede prevenir la oxidación del ácido oleico a temperaturas de
17 cocción, ya que la interacción de estos dos componentes forman una amida, y frente
18 a la alta temperatura, la oxidación de este ácido parece ser inhibida por capsaicina,
19 por lo que sigue ser un antioxidante en medios no acuosos (Henderson y
20 Henderson, 1992).

21

22 Se ha prestado especial atención al género *Capsicum*, y principalmente a sus
23 componentes activos como lo son la CAP y sus análogos, ya que los alimentos que
24 contienen grandes cantidades de chile ají (*Capsicum annuum* L. var. *Longum*)
25 permanecen por largo tiempo de almacenamiento sin presentar una degradación
26 significativa (Soertano et al., 1997), además de su uso para tratar algunas
27 enfermedades como la candidiasis oral (León et al., 2004), esto atribuido a las
28 propiedades antimicrobianas del fruto. Por ejemplo, el *Capsicum annuum* L. var
29 *aviculare* reduce significativamente el crecimiento de *Aspergillus flavus* (Moreno-
30 Limón et al., 2012) y por otro lado, extractos de chile habanero en su tercer grado de
31 maduración (determinado por su coloración naranja), presentan una mayor eficacia

1 del efecto inhibitorio para diversos tipos de microorganismos (*Escherichia coli*,
2 *Penicillium* spp y *Lactobacillus casei*) comparados con extractos de chile serrano y
3 poblano, y es atribuido a un péptido existente en esta especie, el cual se encuentra
4 presente en las semillas (G10P1.7.57)(Cerón-Carrillo et al., 2014).

5

6 **1.5 Extracción de la capsaicina.**

7 Con la finalidad de extraer la CAP de su fuente natural se pueden emplear diferentes
8 métodos, uno de ellos es la deshidratación osmótica (Luna et al., 1996; Hernández et
9 al., 2009), la cual consiste en la inmersión de frutas o vegetales que son colocadas
10 en disoluciones acuosas, con concentraciones de solutos (azúcar o sales) altas,
11 donde ocurren tres fenómenos de transferencia de masa, el flujo de agua desde el
12 alimento a la disolución. La transferencia de soluto desde la disolución al alimento y
13 la transferencia de solutos del alimento hacia la disolución, como pueden ser
14 azúcares, ácidos orgánicos, minerales, vitaminas, entre otros (Ochoa-Martínez y
15 Ayala-Aponte, 2005).

16

17 La extracción de capsaicinoides por medio de deshidratación osmótica de chile
18 Habanero es otro método, y se realiza sometiendo el chile a relación chile:salmuera
19 1:2, pH de 3, temperatura 40 °C y concentración de sal 2.5%, de la cual se obtiene un
20 25% de los capsaicinoides (Hernández et al., 2009).

21

22 También está la extracción con fluidos supercríticos, o también llamado gas denso,
23 es una sustancia que comparte las propiedades físicas tanto del gas como del líquido
24 en su punto crítico, estos se comportan más como un gas, pero tiene la característica
25 de disolvente de un líquido (Azwanida, 2015). El CO₂ ha sido empleado mayormente
26 debido a sus bajos parámetros críticos, que es un gas económico, de fácil
27 disponibilidad en estado puro, no tóxico y no flamable. El proceso de extracción
28 supercrítica consiste en dos pasos: La extracción del componente soluble en el
29 disolvente supercrítico y la separación del soluto extraído del disolvente. La matriz de
30 extracción puede ser sólida líquida o viscosa (Andrews et al., 2016). Este

1 procedimiento se ha empleado para la extracción de capsaicinoides de Rocoto
2 (*Capsicum pubescen*) empleando en CO₂ como Fluido Supercrítico (Gamarra et al.,
3 2014), también empleado para *Capsicum annuum var. annuum* (Elizalde, 2008), para
4 pimentón dulce y picante (*Capsicum annuum*, *C. annuum cv. Scotch Bonnet*, *Chili var*
5 *Byedige*, *C frutescens*) (Fernández-Trujillo, 2008).

6

7 Otro método ampliamente utilizado para la extracción de estos componentes es el
8 empleo de disolventes orgánicos, sin embargo este proceso debe de ser
9 cuidadosamente desarrollado, ya que produce impactos sobre el ambiente y sobre la
10 salud de los operarios y consumidores (Cardona et al., 2006). La Comisión Europea
11 en la directiva 94/45/CE, establece que los disolventes que pueden emplearse para
12 la extracción de oleorresinas de chile son el metanol, etanol, acetona, hexano,
13 acetato de etilo, diclorometano y dióxido de carbono (Restreoi et al., 2007). El
14 fenómeno de transferencia de componentes del fruto al disolvente se lleva a cabo por
15 lixiviación con disolventes orgánicos (anteriormente mencionados), esta extracción
16 pertenece al tipo sólido-líquido, la lixiviación es utilizada para separar el soluto
17 deseado o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, poniéndolo en contacto
18 con una fase líquida, ambas fases entran en íntimo contacto y el soluto o solutos se
19 difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los
20 componentes originales del sólido (De la Cruz, 2011). La extracción con disolventes,
21 tiene como paso final la concentración del extracto (Figura 3), dando como producto
22 final una oleorresina en la que están concentrados los principios activos de la fuente
23 natural.

24

25

26

27

28

29

30

31



Figura 3. Purificación de la oleorresina de chile habanero.

1 Para la purificación de este extracto, se puede llevar a consistencia de oleorresina,
2 eliminando el exceso de disolvente, es conveniente purificar eliminando al máximo
3 los residuales de solvente antes de ser aplicada en productos para consumir
4 (Gallego, 2006). Estas oleorresinas por lo general se extraen de sustratos aromáticos
5 o con principios colorantes y aromatizantes, como en el caso de algunas hierbas
6 medicinales y productos vegetales (Sánchez y Moreno, 2014). Este método de
7 extracción es de los más comúnmente empleados para la obtención de
8 capsaicinoides (Pino et al., 2006; Koleva et al., 2013; Nagoth et al., 2014; Sánchez y
9 Moreno, 2014), ya que resulta ser una técnica simple.

10

11 En los productos de estas extracciones, están concentrados los principios activos de
12 la fuente natural (chile), sin embargo, sí se desea conocer la presencia y cantidad de
13 estos componentes se deberá emplear métodos para cuantificar, como la
14 cromatografía líquida de alta eficiencia, espectrofotometría, cromatografía de gases,
15 entre otros.

16

17 **1.6 Métodos de cuantificación de capsaicinoides.**

18 Existen distintos métodos que son empleados para la determinación de los
19 capsaicinoides en productos alimenticios ó extracciones del componente, los cuales
20 incluyen métodos sensoriales o físicos (organolépticos y calorimétricos)
21 instrumentales (colorimétricos, cromatografía en capa fina cromatografía líquida/
22 masas, espectrofotométricos UV, cromatografía de gases) y (Sinan et al., 2005). Uno
23 de los primeros métodos empleados para detectar la cantidad de CAP en los chiles
24 fue la escala Scoville de picor, desarrollada por el farmacéutico estadounidense
25 Wilbur Scoville, donde se toma extracto de un pimiento y determina cuánta agua
26 azucarada se requeriría para diluir su picante hasta que no pudiera ser detectado por
27 un panel voluntario de examinadores, y los resultados se presentan como unidades
28 de picor Scoville (Rohrig, 2014). Sin embargo este método depende de los sentidos
29 humanos y requiere de personal capacitado (Wang-kyun et al., 2017). Existen otras
30 técnicas que son capaces de determinar cantidades muy bajas de capsaicinoides, lo

1 que puede ser requerido al analizar algunas de las especies de Chile donde su
2 contenido de capsaicinoides es mínimo, para ello se emplea la espectrometría de
3 masas ya que este método tiene una alta selectividad y sensibilidad (Usman et al.,
4 2014; Garcés-Claver et al., 2006). Como unidades de medida para representar la
5 cantidad de capsaicina en los alimentos, se suelen emplear las partes por millón
6 (ppm) y las unidades scoville (uS) y la equivalencia de ellos son, una ppm igual a 15
7 uS. (Yañez et al., 2015).

8

9 Se conoce que la 2,6-dicloroquinona-4-cloroimida (DCQ) forma color por reacción
10 con fenoles y se puede emplear para detectar capsaicinoides, este procedimiento se
11 ha empleado para la detección de capsaicinoides (Wang-Kyun et al., 2017) sin
12 embargo si este método se emplea en alimentos o extracciones que contengan otros
13 componentes como carotenoides, clorofila, etc. Por lo que existe la desventaja de
14 que algún grupo funcional de estos compuestos puede reaccionar con DCQ, por lo
15 que se sugiere realizar previamente la separación de los extractos por medio de
16 cromatografía en capa fina o cromatografía en papel (Perucka y Oleszek, 2000). Uno
17 de los más utilizados es la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) ya que
18 ofrece exactitud y precisión suficiente (Usman et al., 2014), sin mencionar que ha
19 demostrado ser uno de los métodos de cuantificación más eficientes (Schweiggert et
20 al., 2006).

21

22 La cromatografía líquida de alta eficiencia es una técnica analítica de separación, la
23 cual en la actualidad es ampliamente utilizada debido a su sensibilidad y su
24 adecuación para realizar determinaciones cuantitativas exactas, sin mencionar su
25 amplia aplicabilidad a diferentes tipos de sustancias, este es un método de
26 separación analítico que se lleva a cabo gracias a la afinidad que tiene un compuesto
27 por una fase móvil o por la fase fija estacionaria (Méndez, 2008). El método analítico
28 estándar que establece la American Spice Trade Association para HPLC para
29 pimientos y sus oleorresinas, tiene como especificaciones una columna C-18 de 4.6
30 mm x 250 mm (empaquete de 10 μ m) con la fase móvil, que consiste en una mezcla de
31 acetonitrilo, dioxano, agua, metanol y ácido perclórico (Davis et al., 2007). Este

1 método ofrece una gran ventaja comparado con otros tipos de métodos ya que no
2 requiere de derivatización y como consecuencia es simple y directo (Poyrazoglu et
3 al., 2005). Este tipo de determinaciones se realizan con la finalidad de poder emplear
4 los compuestos bioactivos de los extractos con algún probable beneficio a la salud.
5

6 **1.7 Beneficios sobre la salud de la capsaicina.**

7 A la CAP se le han atribuido efectos benéficos desde tiempos antiguos, en los
8 últimos 20 años se ha desarrollado una amplia investigación para determinar
9 aplicaciones específicas, incluyendo acción sobre pérdida de peso, analgésico, tracto
10 gastrointestinal, cáncer, en sistema cardiovascular y diabetes (Reyes-Escogido et al.,
11 2011).
12

13 Se ha comprobado que la CAP se une al receptor de potencial transitorio V1
14 (TRPV1) (Pardo, 2016) y como consecuencia aumenta el glucagón como péptido-1
15 (GLP-1) a través de los niveles de proteína estimulando el sistema nervioso central y,
16 por consiguiente, reduce la grelina (hormona relacionada con el hambre y energía)
17 (Larsen, 2008; Smeets et al., 2013). Esto provoca una disminución en el apetito, lo
18 que conduce a una disminución de la ingesta de energía debido a una sensación de
19 saciedad. la correlación entre la sensación de plenitud y saciedad, o el apetito con la
20 ingesta de energía está bien establecido (McCarty et al., 2015; Varghese et al.,
21 2016).
22

23 Por otro lado, el consumo de chile afecta el gasto de energía al activar el tejido
24 adiposo marrón de la misma manera que lo hace la temperatura baja, lo que lleva a
25 un aumento del gasto de energía a través de la termogénesis no temblorosa
26 mediante la activación de los canales TRPV1 (Chen et al., 2015). La termogénesis se
27 logra a través de dos vías que aumentan la respiración mitocondrial desacoplada y la
28 secreción de catecolamina de la médula suprarrenal (Reyes-Escogido et al., 2011;
29 Smeets et al., 2013).
30

1 La suplementación con capsaicinoides aumenta la tasa metabólica basal en sujetos
2 humanos mediante el aumento de la β -oxidación de ácidos grasos (Lejeune et al.,
3 2003), sin embargo, no pueden consumirse generalmente en dosis altas debido a su
4 fuerte pungencia y estímulo nociceptivo (Rupasinghe et al., 2016).

5
6 Los capsaicinoides incrementan el metabolismo al aumentar la expresión de la
7 proteína de desacoplamiento (UCP) que conduce a una producción de calor
8 mejorada, al igual aumenta la expresión del receptor activado por proliferador de
9 peroxisoma (PPAR α) y PPAR γ coactivator-1 α (PGC-1 α), lo que conduce a un
10 aumento del metabolismo de las grasas, a una mayor saciedad y a la reducción de la
11 ingesta energética (Gannon et al., 2016; Janssesns et al., 2013).

12
13 Se han demostrado efectos terapéuticos en humanos con 0.25 mL de capsaicina al
14 día en un periodo de 28 días (Führer y Hammer en 2009). También se ha
15 implementado como terapia antiobesidad suministrando dosis de 2.53 mg de
16 capsaicina por comida, promoviendo la oxidación de grasas en un balance
17 energético negativo y no aumenta la presión sanguínea, por lo que se podría emplear
18 como coadyuvante en el tratamiento de la obesidad (Janssens et al., 2013).

19
20 Sin embargo, debido a la activación de este receptor (TPRV1) se han descrito otros
21 beneficios. Se ha demostrado su participación en la expresión del dolor, ya que la
22 activación de este receptor actúa como un inhibidor de amida hidrolasa de ácidos
23 grasos, y eso trae como consecuencia la normalización del desequilibrio entre las
24 respuestas excitatorias e inhibitorias en las neuronas mPFC, resultando en la
25 inhibición del dolor (Giordano et al., 2011; Novellis et al., 2011). Se ha utilizado el
26 parche de capsaicina al 8% en pacientes con dolor neuropático, mostrando una
27 buena tolerancia con escasos efectos sistémicos y casi exclusivamente locales,
28 siendo efectivo en este tratamiento (Gálvez, 2018).

29
30 Además, se ha comprobado que la CAP disminuye la producción basal gástrica,
31 mejora las respuestas secretoras gástricas, el vaciamiento gástrico y la liberación de
32 glucagón y previene el daño en la mucosa gástrica inducido por medicamentos,

1 etanol, aumenta en la mucosa gástrica el péptido relacionado con el gen de la
2 calcitonina (CGRP) en pacientes con gastritis crónica (Avesaat et al., 2016; Hudson
3 et al., 2016). Fajardo y Ángel (2005) reportan que el consumo habitual de ají, se
4 asocia estadísticamente con una menor prevalencia de dispepsia funcional tipo
5 dismotilidad y síndrome de intestino irritable. En pacientes con dispepsia funcional,
6 enfermedad por reflujo gastroesofágico y síndrome de intestino irritable se disminuye
7 en la intensidad de los síntomas dispépticos, en un periodo de 2 semanas en
8 pacientes suplementados 2.5 gramos de polvo de pimiento rojo al día (1.75 mg de
9 capsaicina) (Bortolotti et al., 2002).

10

11 Por otro lado, se ha demostrado que la CAP es un potencial supresor de la
12 tumorigénesis de varios tipos de cáncer. Según Weber et al., (2016), los canales del
13 TRPV1 contribuyen a la regulación de la actividad intracelular de calcio, que puede
14 promover marcas de cáncer en casos de desregulación de la transcripción de genes.
15 La CAP y sus derivados inducen a la apoptosis de células cancerígenas en el
16 humano en carcinoma renal (5 mg/kg) y glioma (tumor cerebral) (5 mg/kg) (Liu et al.,
17 2016; Xie et al., 2016).

18

19 Anteriormente se le han atribuido beneficios en el sistema cardiovascular, también se
20 le han atribuido beneficios ya que la activación de este receptor (TPRV1) ayuda a la
21 liberación del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) y la sustancia
22 P, ambos involucrados en la regulación arterial tanto en condiciones fisiológicas
23 como fisiopatológicas (Zhou et al., 1999; Harada y Okajima 2009; Peng y Li, 2010;
24 Zvara et al., 2006). Sin embargo, estos efectos no han sido descritos en los últimos
25 años.

26

27 Respecto a la diabetes tipo 2 y la resistencia a la insulina se han descrito efectos
28 benéficos, en un estudio se suplemento a ratones obesos modificados
29 genéticamente con capsaicina al 0.015%, con una dieta alta en grasas y se obtiene
30 la disminución de glucosa en ayunas y los niveles plasmáticos de triglicéridos (Kang
31 et al, 2011). Una de las terapias que se emplean para tratar la diabetes, es disminuir

1 la hiperglucemia posprandial. Existen inhibidores de carbohidrolasas (como la CAP),
2 que retrasan la digestión de los hidratos de carbono, generando como resultado la
3 disminución del aumento de la glucosa en el plasma posprandial (Meza y Loza, 2014;
4 Menichini et al., 2009). Se ha puesto a prueba el potencial hipoglucemiante de CAP
5 por medio de la inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa, utilizando extracto de
6 habanero maduro que inhibe la actividad de α -amilasa, contrario al extracto de
7 habanero inmaduro (ambos una concentración de 1 unidad/mL de inhibidor
8 capsaicina), el cual inhibe la α -glucosidasa (Menichini et al., 2009). Lo anterior podría
9 dar una nueva rama en la investigación para crear productos adicionados con la
10 molécula de capsaicina.

11

12 **1.8 Uso de las oleorresinas en la industria alimentaria.**

13 Se considera a las oleorresinas como extractos de naturaleza oleosa, de los cuales
14 se ha evaporado el disolvente de extracción, dejando como resultado la mezcla del
15 aceite volátil y el material resinoso, que se puede obtener a partir de especies o
16 plantas, las cuales les van a proporcionar el sabor y olor característico (Restrepo,
17 2006) y como se mencionó anteriormente, el chile forma parte de la dieta Mexicana,
18 las salsas por ejemplo son uno de los alimentos más populares en la población. Se
19 ha comprobado que las salsas elaboradas con chile habanero, presenta alto
20 contenido de capsaicinoides, mientras que en chile cascabel su contenido es bajo
21 (0.10-0-1.7 $\mu\text{g/g}$) (Peña-Alvarez et al., 2009). En oleorresinas de *Capsicum chinense*
22 Bhut Jolokia obtenidas con 12 diferentes disolventes (hexano, benceno, cloroformo,
23 acetato de etilo, acetonitrilo, éter dietílico, acetona, propanol, etanol, metanol, agua,
24 sulfóxido de dimetilo-DMSO) y mediante un análisis espectrofotométrico UV-Visible y
25 un método de reducción fosfomolibdica de la CAP total, los capsaicinoides resultan
26 más afines a los solventes polares como el acetonitrilo y acetona, seguidos del etanol
27 debido a la polaridad de sus enlaces (Amruthraj et al., 2014).

28

29 Las oleorresinas presentan ventajas como la economía, ya que su tasa de
30 rendimiento es alta, la uniformidad de sabor y propiedades parecidas a su origen
31 natural y libres de impurezas, y debido a su bajo crecimiento bacteriano, tienen

1 mayor vida de anaquel y posibilidad de disolución a fin de obtener las
2 concentraciones deseadas en los productos (Restrepo, 2006; Fernández-Trujillo,
3 2007). Las oleorresinas de *Capsicum* (pimentón), generalmente son adicionadas a
4 los alimentos como colorantes (E-160c), por su alto contenido en carotenoides como
5 la capsantina y la capsorrubina, principales responsables del color rojo (Arimboor et
6 al., 2015; Pöhl, 2016).

7

8 Con anterioridad se han incorporado las oleorresinas en la industria alimentaria, para
9 añadir principios aromatizantes, pigmentantes y saborizantes (Restrepo, 2006). Las
10 oleorresinas de pimientos picantes, ajo, jengibre y paprika, se pueden emplear como
11 saborizantes, aromas y colorantes para salchichas, mortadela, chorizo, caldos de
12 gallina, salsas, sopas, platos precocinados y queso (Fernández-Trujillo, 2007).

13

14 **1.9 Adición de oleorresinas en alimentos.**

15 Desde que el hombre comenzó a domesticar los cultivos, el chile fue uno de los
16 primeros en formar parte de la alimentación de los pobladores (Barreire, 1998), y en
17 la actualidad, es un ingrediente prácticamente obligado en la comida mexicana
18 (Borges-Gómez et al., 2010) que ha sido añadido principalmente en: salsas, moles,
19 guisados, etc. Sin embargo la adición de una oleorresina de chile en alimentos está
20 muy poco reportada, a pesar de las ventajas que esta presenta.

21

22 En la industria alimentaria, se emplea la oleorresina de capsaicina en el proceso de
23 elaboración de papas fritas, ya que la CAP, disminuye significativamente la
24 producción de acrilamida, a temperaturas de freído, por lo que la oleorresina de
25 *Capsicum* se puede usar como inhibidor de la formación de acrilamida en alimentos y
26 al mismo tiempo brindarle un sabor picante agradable (Salazar et al., 2012).

27

28 Además también se emplea la oleorresina de *Capsicum annum var Aviculare* en la
29 elaboración de aderezos a una concentración de 15 ppm (225 uS), los cuales
30 obtienen una buena aceptación en el panel de evaluadores sensoriales, y al

1 proporcionar un sabor picante atractivo con una baja cantidad representa una buena
2 opción para la industria de alimentos (Borges-Gómez et al., 2013).

3

4 Por otra parte, se desarrollan botanas saludables (papa y betabel) con adición de
5 *Capsicum annum* var. *glabriusculum*, por su principio bioactivo, debido a que la
6 capsaicina ejerce un efecto protector contra la oxidación térmica de los lípidos que se
7 lleva a cabo en el freído, y también esta adición contribuye a elevar la cantidad de
8 betalaínas, por la eliminación del agua en la papa y el betabel (Espinosa y Azuara,
9 2009).

10

11 Asimismo, se ha incorporado la oleorresina de *Capsicum pubescens* a un snack de
12 queso, y la adición de esta contribuye al porcentaje de cenizas y aumenta la
13 pegajosidad, y es mejor aceptado cuando la concentración de sal es mínima (Silva et
14 al., 2018). Por estos beneficios la oleorresina de *Capsicum* puede tener varias
15 aplicaciones además del beneficio a la salud que aporta.

16

17 **1.10 Acción de las caseínas sobre la pungencia de la capsacina.**

18 Dado que la CAP es soluble en moléculas no polares y no en agua, ninguna bebida a
19 base de agua reduce la sensación de ardor que deja el picante, la cual es mejor
20 aliviada con aceites y grasas, sin embargo, el queso y la leche contienen caseína
21 que es una proteína afín a las grasas que atraen y rodean las moléculas de CAP
22 (Rohrig, 2014). Esto explica por qué la leche puede aislar las moléculas de CAP de la
23 lengua. El atrapamiento de la CAP por las caseínas de los productos lácteos, se
24 relacionan con la polaridad de los enlaces, ya que por la cadena no polar de
25 hidrocarburo, lo que hace a la molécula afín a las proteínas y lípidos presentes en el
26 queso (Başar, 2013). Los capsaicinoides no puede consumirse generalmente en
27 dosis altas debido a su fuerte pungencia y estímulo nociceptivo (Rupasinghe et al.,
28 2016), por lo que al añadirlo al queso sería una buena alternativa para incrementar
29 su consumo.

30

1.11 Generalidades de los quesos frescos

El queso fresco es un alimento el cual es obtenido a partir de la leche, realizando varias operaciones en la materia prima como la coagulación, su contenido nutricional es muy similar al de la leche (Ramírez-López et al., 2012). Existen distintas formas de clasificar a los diferentes tipos de queso que son comercializados en México, sin embargo para este trabajo se toma como referencia la clasificación que establece la NOM-121-SSA1-1994 para quesos frescos, madurados y procesados, se muestra en la tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de quesos.

Tipo de queso	Subclasificación	Ejemplos
Frescos	Frescales	Panela, Canasto, Sierra, Ranchero, Fresco, Blanco, Enchilado, Adobado.
	De pasta cocida	Oaxaca, Asadero, Mozzarella, Del Morral, Adobera.
	Acidificados	Cottage, Crema, Doble crema, Petit Suisse, Nuefchatel.
Madurados	Prensados de pasta dura	Añejo, Parmesano, Cotija, Reggianito.
	Prensados	Cheddar, Chester, Chihuahua, Manchego, Brick, Edam, Gouda, Gruyere, Emmental, Cheshire, Holandés, Amsterdam, Butterkase, Coulomiers, Dambo, Erom, Friese, Fynbo, Havarti, Harzer-Kase, Herrgardsost, Huskallsost, Leidse, Maribo, Norvergia, Provolone, Port Salut, Romadur, Saint Paulin, Samsoe, Svecia, Tilsiter, Bola, Jack.
	De maduración con mohos	Azul, Cabrales, Camembert, Roquefort, Danablu, Limburgo, Brie.
Procesados	Fundidos	Quesos fundidos para untar
Otros quesos	Cualquier otro tipo de queso fresco, madurado y no procesado que no sea considerado en los anteriores se deberá ubicar en este ordenamiento	

1 Los quesos frescos son aquellos que después de su manufactura están listos para su
2 consumo, pueden ser grasos o magros, prensados o no, molidos y sin moler, una de
3 sus características principales es que su duración sanitaria no pasa de los treinta
4 días y necesitan de temperatura de refrigeración (SENA, 1987). El contenido de
5 humedad de los quesos frescos generalmente se encuentra entre un 50 y 60%
6 aproximadamente, y un pH inicial por arriba de 6, por estas razones es un producto
7 con una vida de anaquel limitada, incluso bajo temperatura de refrigeración. Estos
8 productos tienen un elevado porcentaje de humedad debido al suero que retienen las
9 caseínas durante la coagulación en la producción (Lobato-Calleros et al., 2008).

10

11 El alto contenido de humedad de estos productos le proporciona atributos
12 sensoriales y de textura, los quesos frescos presentan un sistema metaestable que
13 padece de cambios muy notables por el tiempo en su contenido de humedad, lo cual
14 afecta la textura, atributos sensoriales y rendimiento del producto (Ochoa-Flores et
15 al., 2013). En México la producción de queso es uno de los mercados más rentables,
16 que además generan riqueza gastronómica por la gran variedad de estos productos
17 (Cervantes y Villegas, 2014). Según la CANILEC (2019), la población mexicana en
18 2016 destina hasta un 11% del gasto, empleado para la alimentación, para el
19 consumo de leche y sus derivados. Algunos de sus componentes más estudiados
20 son las caseínas, ya que pueden crear enlaces con otros componentes de interés. Es
21 importante mencionar que los quesos frescos, debido a su valor nutricional (bajo
22 aporte graso y buen aporte de proteínas), son recomendados en pacientes con
23 obesidad ya sea niños o adultos, al igual que para pacientes con hipertensión y
24 mujeres embarazadas (Gutiérrez et al., 2018). A continuación se describen los
25 quesos frescos empleados para la elaboración de este proyecto.

26

27 **1.11.1 Queso panela**

28 El consumo de queso tipo panela es muy popular en México, se caracteriza por ser
29 un queso de forma tronco-cónica invertida y de coloración blanca que se puede
30 observar en la Figura 5a, cremoso, con sabor característico a leche fresca y sal. Su

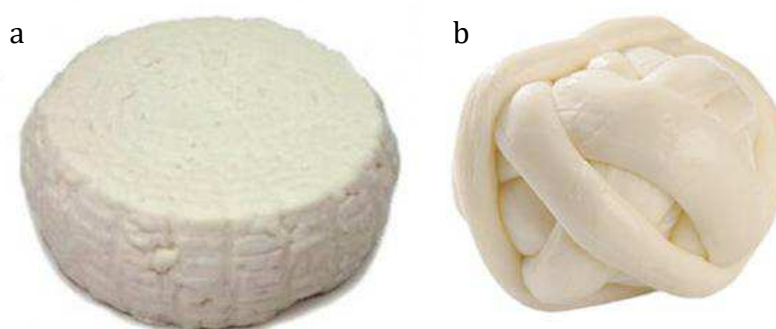
1 contenido de humedad oscila entre 50 y 60% y su pH por arriba de 6, sin embargo,
2 esto representa una desventaja, ya que su vida de anaquel es limitada, aunque, este
3 contenido de humedad es el que le da los atributos sensoriales y textura (Ochoa-
4 Flores et al., 2013).

5

6 **1.11.2 Queso Oaxaca**

7 En la actualidad, los quesos Oaxaca, son productos lácteos de gran demanda, ya
8 que sus aplicaciones en platillos mexicanos son muy amplias, este queso se clasifica
9 como fresco de pasta blanda o hilada, normalmente se presenta en forma de bolas o
10 madejas de distintos tamaños (Figura 5b). Su preferencia entre los consumidores se
11 debe a su excelente aptitud para fundir. El punto crítico de la elaboración del este
12 tipo de queso es la acidificación de la leche en un punto correcto, ya que si esto no
13 se logra, el queso no estirará al aplicarle calor en el proceso de hilado, y si la acidez
14 de la leche resulta más elevada de lo recomendado, los hilos se romperán y no se
15 obtendrá un producto que se pueda deshebrar. Su humedad es cercana al 50% o
16 mayor, su nombre es ligado al estado de Oaxaca, que es su lugar de origen, aunque
17 en ese lugar se le da el nombre de queso hebra, quesillo o queso bola (Villegas de
18 Gante, 2012). Además, los quesos frescos comúnmente son adicionados con
19 algunos complementos, brindándoles sabores diferentes debido a las interacciones
20 en sus componentes.

21



22
23

Figura 4. Quesos frescos. panela (a) y Oaxaca (b)

24

1 **2. Problema de investigación.**

2 A pesar de que en México el consumo de chile es alto, no es asociado con un
3 beneficio en la salud, y esto es explicado por la forma en la que se consume, ya que
4 en su mayoría, este fruto es combinado con otros productos como el vinagre y el
5 tomate, jitomate, grandes cantidades de sal, entre otros, que provocan cambios en
6 sus características, además para ingerir la dosis con la que se han reportado
7 beneficios, la cantidad de chile en fresco que se tendría que consumir sería alta y
8 poco recomendable por su característica pungencia; por otro lado, el consumo de
9 capsaicinoides encapsulados resulta ser de poca accesibilidad para la población
10 debido al costo.

11 Las moléculas de los capsaicinoides, con su cadena lateral hidrocarbonada, se
12 caracterizan por ser moléculas no polares que pueden unirse a otras moléculas de
13 naturaleza apolar, tal es el caso de las caseínas, proteínas que se encuentran
14 presentes en el queso, por ello, la adición de oleorresina de chile habanero (OCH) a
15 una matriz alimentaria como el queso ocasionará una reducción en la pungencia del
16 extracto debido a la interacción de estas moléculas. La obtención de capsaicinoides,
17 por medio de una extracción directa del fruto, resulta ser más económica comparada
18 con la adquisición del grado farmacéutico, además de que este tipo de extractos
19 contienen, además de los capsaicinoides, otros compuestos con actividad
20 antioxidantes que le atribuyen un beneficio extra. Por estas razones el presente
21 trabajo pretende caracterizar y adicionar la OCH a quesos frescos, con el fin de
22 disminuir la pungencia de los compuestos, medir estabilidad y capacidad de
23 conservación del alimento, asimismo el consumo de este producto podría ser
24 beneficioso para la población que padece obesidad y enfermedades crónicas no
25 transmisibles

1 **3. Justificación.**

2 Se debe tener en cuenta que para obtener los beneficios en la salud como la mejora
3 de la función gastrointestinal, efecto antitumoral y cardioprotector, el incremento en el
4 gasto energético basal, la mejora en la secreción de hormonas que regulan la
5 sensación de apetito y saciedad entre otros, por medio de la activación y expresión
6 del receptor TRVP1 que los capsaicinoides pueden aportar es necesario ingerir la
7 dosis adecuada. Por lo anterior, el adicionar la oleorresina de chile habanero a un
8 alimento, como quesos fresco, permitiría disminuir la pungencia y controlar la dosis
9 de capsaicinoides y que a la vez sea un producto inocuo y completo, podría ser una
10 opción para que los consumidores obtengan los beneficios, ya que además por su
11 valor nutrimental los quesos frescos son recomendados en pacientes con obesidad e
12 hipertensión.

13

1 **4 Objetivo General**

2 Desarrollar y caracterizar quesos frescos adicionados con oleorresina de chile
3 habanero con alto contenido en capsaicinoides para determinar características
4 sensoriales, microbiológicas, fisicoquímicas y antioxidantes durante su
5 almacenamiento.

6

7 **4.1 Objetivos específicos.**

- 8 • Extraer oleorresina de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con
9 contenido de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) mediante
10 disolvente orgánico para cuantificarlos por HPLC, así como evaluar su
11 capacidad antioxidante durante el almacenamiento.
- 12 • Elaborar quesos frescos (panela y Oaxaca) adicionados con diferentes
13 concentraciones de capsaicina para evaluar su composición químico proximal
14 así como la carga microbiana inicial (coliformes totales, bacterias ácido
15 lácticas y levaduras).
- 16 • Evaluar las características sensoriales (escala hedónica) y de pungencia en
17 los quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero en un grupo
18 de consumidores potenciales, así como una frecuencia de consumo de chile.
- 19 • Evaluar pH, acidez titulable, pérdida de peso por sinéresis y antioxidantes
20 (contenido de fenoles totales, ABTS y DPPH) de los quesos frescos
21 adicionados con oleorresina de chile habanero así como sus cambios durante
22 el almacenamiento.
- 23

1 **5. Metodología.**

2 La parte experimental se llevó a cabo en dos etapas, durante la primera se obtuvo
3 una oleorresina de chile habanero (OCH), los chiles fueron adquiridos durante los
4 meses de mayo y diciembre del 2018, en la central de abastos de Pachuca, Hidalgo
5 con un coloración anaranjado-rojizo, los cuales fueron lavados, mondados y
6 pesados, para posteriormente cortarlos en un espesor no mayor a 1 cm,
7 posteriormente fueron sometidos a un proceso de deshidratación (74-1001-W,
8 Weston, Carolina del Norte EE.UU.) a 47°C por 9 horas, después la muestra se molió
9 (A11, IKA, EUA) y tamizó a un tamaño de partícula de 500 µm.

10

11 Se procedió a realizar la extracción de capsaicinoides por medio de lixiviación en
12 etanol en una relación 1:10 durante 1 hora a 65 °C en agitación, después la mezcla
13 se centrifugó (Beckman Coulter, Allegra 25R, EUA) a 10,000 rpm durante 20 min, el
14 sobrenadante obtenido se purificó el extracto en un equipo de evaporación rotatorio
15 (Buchi, R-200, EUA), y hasta obtener consistencia de oleorresina, para obtener los
16 rendimientos de la oleorresina, se realizó el cálculo a partir del peso de la muestra
17 molida y el peso final de la oleorresina obtenida.

18

19 La OCH fue evaluada por medio de HPLC (660, Waters, EUA) para realizar análisis
20 cuali y cuantitativa de la CAP y DHC, además de la determinación de capacidad
21 antioxidante (contenido de fenoles totales, DPPH y ABTS), se almacenó a 4 °C, en
22 un envase cerrado color ambar, las pruebas mencionadas anteriormente se
23 repitieron los días 0, 15, 35 y 45 de la extracción (Figura 6).

24

25 Después para la segunda etapa, se elaboraron dos tipos de quesos frescos (Panela
26 y Oaxaca) con la receta convencional, y se añadió la OCH en el proceso de salado a
27 diferentes concentraciones, basado en la concentración con la que anteriormente se
28 han reportado efectos benéficos en la salud 0.84 (C3), 1.68 (C2) and 2.53 (C1) mg
29 CAP/30 g) (Janssens et al.,2013), a estos productos se les realizó un análisis

1 químico proximal (AQP) que incluyó porcentaje de humedad, grasa, proteína,
 2 carbohidratos y cenizas, al mismo tiempo que se aplicaron pruebas microbiológicas,
 3 en el día 7 se realizó la evaluación sensorial, mientras que las pruebas de acidez
 4 titulable y pH el contenido de fenólico total (CFT), actividad antioxidante por DPPH y
 5 ABTS (empleando extracciones acuosas y etanólicas), se realizaron en los días 0, 7
 6 y 15 para los dos tipos de queso, las dos variedades de queso se almacenaron en
 7 condiciones óptimas de conservación a 4°C (Figura 7).

8
 9
 10
 11
 12
 13
 14
 15
 16
 17
 18
 19
 20
 21
 22
 28
 29
 30
 31
 32
 33
 34
 35
 36
 37
 38
 39
 40
 41

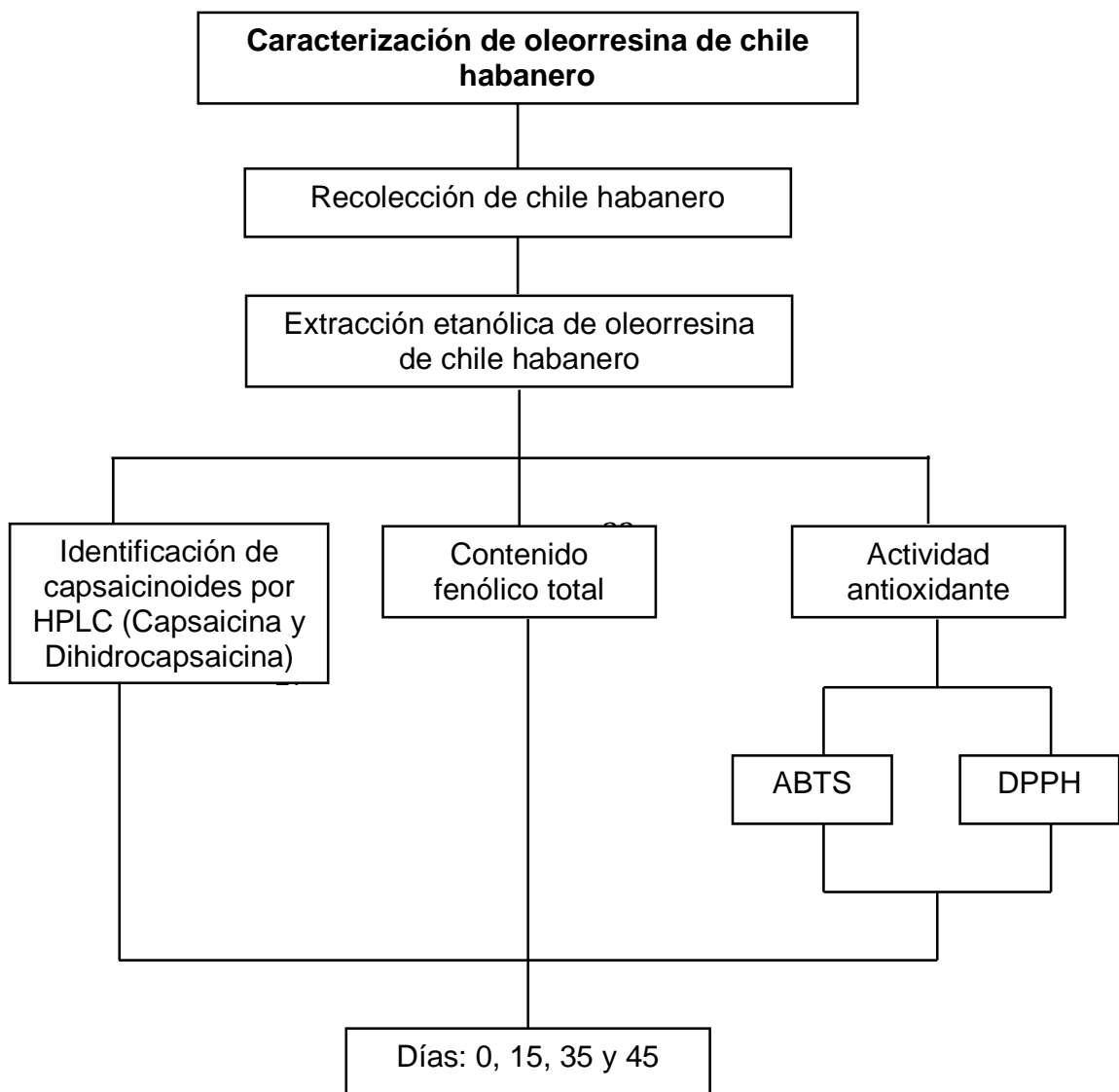


Figura 5. Diseño metodológico. Etapa 1.

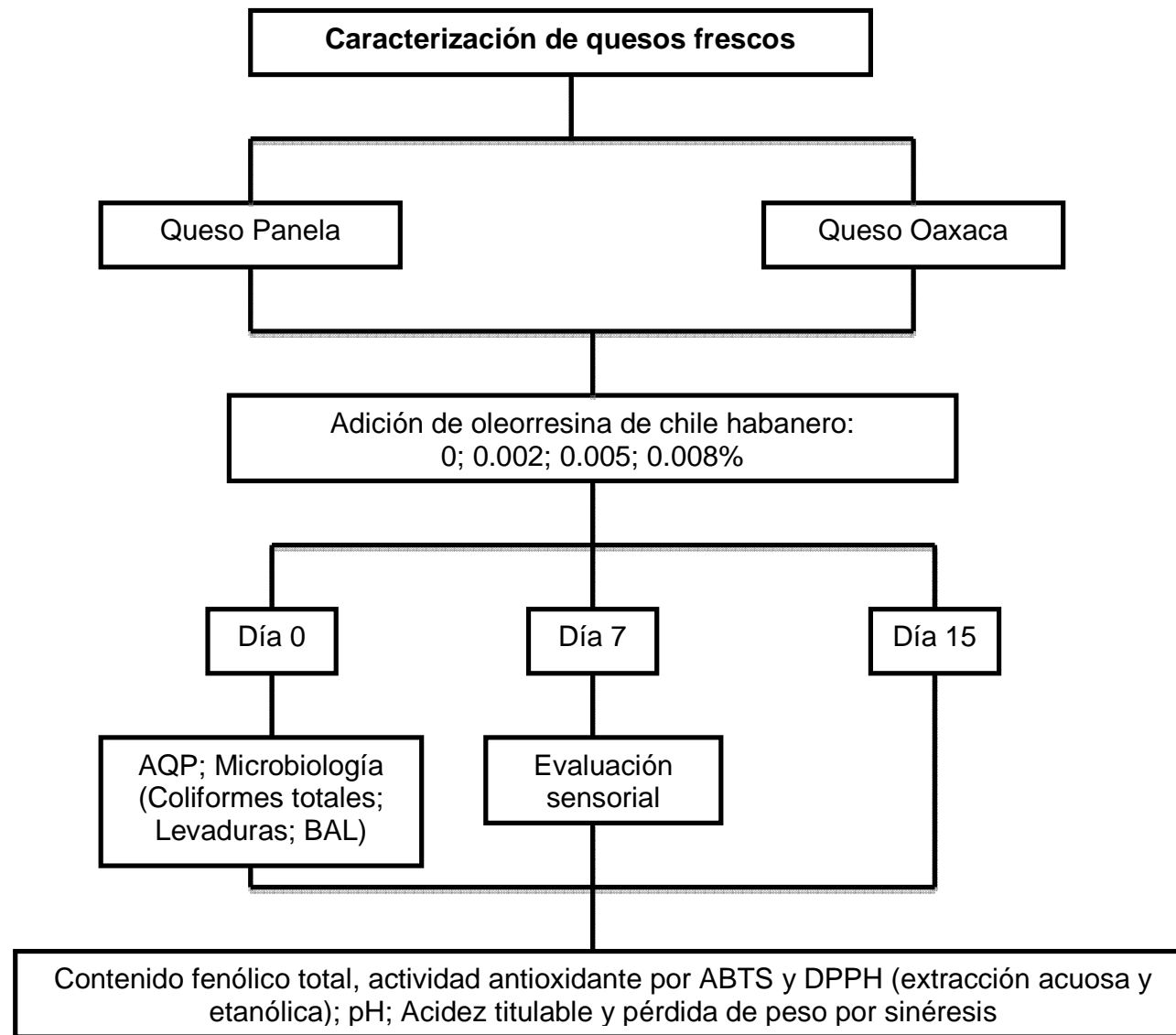


Figura 6. Diseño metodológico. Etapa 2.

1 **5.1 Obtención y análisis cualitativo y cuantitativo de capsaicina y**
2 **dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero**

3 **5.1.1 Obtención de la muestra de chile habanero**

4 Para este procedimiento se adquirió la muestra en la central de abastos de Pachuca,
5 Hidalgo, durante los meses de mayo a diciembre del 2018, posteriormente se realizó
6 la selección de los chiles, que se encontraban en buenas condiciones y estado de
7 maduración correcto (el cual fue definido por la coloración anaranjado-rojizo),
8 posteriormente fueron lavados, mondados y pesados, después se cortaron en trozos
9 pequeños a un espesor no mayor a 1 cm, se sometieron a un proceso de
10 deshidratación (74-1001-W, Weston, Carolina del Norte EE.UU.) a 47°C por 9 horas,
11 durante la cual se registró la pérdida de peso de las muestras, la deshidratación
12 concluyó hasta que el peso se mantuvo constante. Después la muestra, se molió
13 (A11, IKA, EUA) y tamizó a un tamaño de partícula de 500 µm.

14
15 **5.1.2 Curva de secado**

16 Para la construcción de la curva de secado, se procedió a realizar un registro del
17 peso de la muestra en intervalos después de permanecer una hora en el
18 deshidratador en las condiciones ya mencionadas, este proceso se repitió hasta que
19 no se detectaron variaciones en el peso de la muestra. Para peso remanente se
20 tomó como referencia (100%) el peso inicial de la muestra, y se realizó el cálculo de
21 acuerdo a los pesos que se registraron por las pérdidas de humedad.

22
23 **5.1.3 Obtención de oleorresina de chile habanero.**

24 Para la extracción de capsaicinoides se empleó disolventes orgánicos, utilizando el
25 método empleado por Nagoth et al., (2014). La muestra obtenida se puso en
26 contacto con etanol, en una relación 1:9 (muestra:solvente), y se mantuvo en baño
27 con agitación (LSB-015S, LabTech, Jalisco, México) a 60 rpm y 65 °C durante 15 min
28 y luego las muestras se dejaron enfriar a temperatura ambiente, después de

1 colocaron en tubos eppendorf y se centrifugaron (Beckman Coulter Mod. Allegra
2 25R, EUA) a 10,000 rpm por 20 min a 20°C, el sobrenadante se llevó a evaporación
3 en un rotaevaporador (R-200, Büchi, EUA) a 34 °C obteniendo una oleorresina, se
4 pesó para calcular rendimiento. Se almacenó en recipiente de vidrio color ámbar a 4
5 °C hasta su utilización.

6

7 **5.1.4 Rendimientos de la oleorresina**

8 Para obtener el rendimiento de la oleorresina de chile habanero, se calculó usando el
9 peso de la oleorresina sobre el peso del chile fresco de donde se realizó la
10 extracción.

11

12 **5.1.5 Cuantificación de capsacinoides por HPLC.**

13 La cuantificación de los capsacinoides se realizó por Cromatografía Líquida de Alta
14 Eficiencia (HPLC) (Davis et al., 2007), el cual es un método de separación analítico
15 basado en la afinidad que tienen los compuestos por una fase móvil y la estacionaria
16 (Méndez, 2008). Para la curva de calibración (Anexo 1 y 2), se prepararon los
17 estándares a partir de una solución madre de 1000 ppm, con diferentes puntos (12.5,
18 25, 50, 125, 250, 500 ppm) preparadas con el estándar Capsaicin Natural de Aldrich
19 (65% capsaicina y 35% dihidrocapsaicina) y etanol. La muestra de OCH fue
20 resuspendida y diluida en etanol anhidro (250 mg de OCH llevada al aforó a 10 mL) y
21 posteriormente se filtró en acrodiscos Millex de PVDF de 0.45 µm.

22

23 Para el análisis de muestras se empleó un HPLC compuesto por un controlador
24 (Waters, 600, EUA), un automuestrador (Waters, 717 plus, EUA), con un detector de
25 arreglo de fotodiodos (Waters, 2996, EUA) las inyecciones de muestra se realizaron
26 automáticamente utilizando un volumen de inyección de 10 µL. Se utilizó una
27 columna Symmetry C18 5 µm 4.6 x 250 mm y durante la corrida se mantuvo a 22 °C,
28 el detector de arreglo de diodos Waters 2996 se estableció para monitorizar a 284
29 nm. El sistema de elución en gradiente fue binario utilizando acetonitrilo (A) y ácido

1 fórmico (B) al 1% (v/v). La separación se logró usando un gradiente no lineal: 5 min
2 5% A -95 % B, 9 min 50 % A-50% B, 6 min 80% A-20 % B, 2 min 50 % A- 50 % B, y
3 3 min de 5% A- 95% de B (25 min en total) la velocidad de flujo fue de 1 mL/min. Los
4 datos se analizaron mediante el software de Empower Waters versión 2. Este
5 proceso se repitió en los días 0, 15, 35 y 45 de almacenamiento.

6

7 **5.2 Análisis cuantitativo de fenoles totales y actividad antioxidante en la** 8 **oleorresina de chile habanero.**

9 **5.2.1 Contenido fenólico total.**

10 El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar
11 con agentes oxidantes, este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que
12 reacciona con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-
13 fosfotúngstico, la transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos
14 formados en óxidos cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y
15 molibdeno (Mo_8O_{23}), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de
16 la molécula (Gutiérrez et al., 2008). Se empleó la metodología propuesta por
17 Stintzing et al., (2005). La curva estándar (Anexo 3) se preparó a partir de una
18 solución stock de ácido gálico de 300 mg/L, obteniendo las diferentes
19 concentraciones (0, 100, 200 y 300 mg/L). En cuanto a la muestra de OCH se
20 prepararon diferentes diluciones (1:10, 1:50, 1:100, 1:200, 1:250 y 1:300). Para la
21 determinación fueron colocados en tubos eppendorf 100 μ L de la muestra o solución
22 de la curva de referencia, 500 μ L de solución de Folin (100 mL Folin-Ciocalteu/L
23 agua destilada al 0.2 N) y 400 μ L de solución de carbonato de sodio (75 g carbonato
24 de sodio/L), las muestras se agitaron en vortex y se dejaron en reposo durante 30
25 minutos, para después realizar la lectura a 765 nm en el lector de microplacas
26 (Power Wave XS UV-Biotek, EUA). Los resultados se reportaron como miligramos
27 equivalentes de ácido gálico por litro (mg EAG/L).

1 **5.2.2 Determinación de actividad antioxidante por ABTS.**

2 Este procedimiento se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical
3 ABTS (2,2'-Azino-bis [3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]), debido a la interacción
4 con especies donantes de hidrógeno o de electrones. Esta prueba de actividad
5 antioxidante se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Kuskoski et al.,
6 (2005). Para realizar esta reacción, se preparó una solución de ABTS, al 7 mM (3.85
7 g ABTS/L agua destilada), posteriormente se agregó persulfato de potasio al 2.45
8 mM (660 mg persulfato de potasio/L de agua desionizada). Esta solución se dejó
9 reposar por 16 horas y se realizó una dilución en agua desionizada, para obtener una
10 absorbancia de 0.7 ± 0.1 a una longitud de onda de 754 nm. Para la curva estándar
11 (Anexo 5) se usó como molécula de referencia Trolox, preparando las siguientes
12 concentraciones de 0, 60, 120, 180, 240, 300 $\mu\text{mol/L}$. Posteriormente para la técnica
13 se tomaron 20 μL de muestra y 980 μL de la disolución de ABTS, y se dejaron pasar
14 7 min de reposo y a continuación realizar la lectura espectrofotométrica a 754 nm en
15 un lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, software KC Junior, EUA). Los
16 resultados se expresaron como μmol micromoles equivalentes de Trolox por mililitro
17 ($\mu\text{mol ET/mL}$).

18

19 **5.2.3 Determinación de actividad antioxidante por DPPH.**

20 La capacidad de captar radicales libres se determinó usando el método basado en la
21 reducción de una solución metanólica del radical libre coloreado DPPH• (difenil-1-
22 picrilhidrazilo) (Menichini et al., 2009). Como referencia se empleó el método
23 descrito por Morales et al, 2011. Para esta metodología se empleó, como molécula
24 de referencia, el antioxidante Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-
25 carboxílico) para la construcción de la curva estándar (Anexo 4). La cual fue diluida
26 con etanol para obtener las diferentes concentraciones (0, 50, 100, 200 y 300 μmol
27 ET/L). La técnica empleada para esta prueba se realizó de la siguiente forma, se
28 vertieron 100 μL de las muestras diluidas y 500 μL de la solución de DPPH, (74 mg
29 DPPH/L agua destilada), posteriormente se sometieron a agitación vortex y se

1 mantuvieron a temperatura ambiente durante 1 hora, por último se midió la
2 absorbancia a 520 nm en el lector de microplacas (Power Wave XS UV-Biotek, EUA).
3 Los resultados se reportaron como micromoles equivalentes de trolox por mililitro
4 ($\mu\text{mol ET/mL}$).

5

6 **5.3 Elaboración de quesos frescos y adición de capsaicinoides**

7 **5.3.1 Elaboración de queso panela**

8 En cuanto al queso panela, también se utilizó leche pasteurizada Santa Clara, y se
9 realizó de acuerdo al manual para la elaboración de productos derivados de la leche
10 con valor agregado (SAGARPA, 2011), se mantuvo la leche a una temperatura de
11 32-35 °C, y se agregó el cuajo comercial (HANSEN 3 muñecas) (0.020 g/L) y se dejó
12 reposar durante 60 minutos, posteriormente se realizó el corte de la cuajada,
13 formando cuadros de aproximadamente 2 cm, y se dejó reposar durante 5 minutos.
14 Después para la maduración del grano, se agitó suavemente los granos durante 10
15 minutos a 38 °C, para posteriormente retirar las dos terceras partes del suero con
16 ayuda de manta de cielo, a continuación se saló la cuajada al 3% y se le adicionó la
17 OCH en las cuatro concentraciones diferentes como se mencionó anteriormente en
18 el proceso de elaboración del queso Oaxaca, la diferencia para esa variedad de
19 queso, fue que la OCH se le adicionó directamente, se amasó y saló para
20 posteriormente dejar en reposo durante 12 horas a 5 °C, para después realizar el
21 prensado para su posterior análisis, envuelto en una manta de cielo cubierta del
22 exterior en un recipiente hermético, y posteriormente se empacó en bolsa de plástico
23 con cierre hermético a 4°C.

24

25 **5.3.2 Elaboración de queso Oaxaca**

26 Para la elaboración de queso Oaxaca se adquirió leche comercial Pasteurizada
27 (Santa Clara) en un supermercado de Pachuca, Hgo., la cual se acidificó utilizando
28 1.3 mL de ácido acético glacial por litro de leche, y se agitó para su dilución,

1 posteriormente se realizó un calentamiento en una parrilla (Cole Palmer, CPI03401,
2 EUA) llevando la leche a una temperatura de 32-35 °C, y se agregó el cuajo
3 comercial (HANSEN 3 muñecas) a una concentración de 0.020 g/L y se dejó reposar
4 durante 60 minutos, para después realizar el corte de la cuajada en líneas
5 horizontales y verticales, se dejó reposar la cuajada durante 5 minutos manteniendo
6 la temperatura de 32-35 °C, y se agitó suavemente el grano de la cuajada durante
7 aproximadamente 10 minutos, para después drenar totalmente el suero, utilizando
8 como apoyo manta de cielo, posteriormente se calentó agua a 72 °C en una parrilla
9 (Cole Palmer, CPI03401, EUA), se amasó y se realizó el estiramiento de las tiras, a
10 continuación se dejaron las tiras en agua hervida fría a 15 °C por 60 minutos. Para
11 este proceso, se prepararon 4 salmueras diferentes, donde en cada una se agregó
12 diferente cantidad de OCH, la concentración 1 (C1) aportó el 100 % de la
13 recomendación de acuerdo a Janssens et. al., (2013), la concentración 2 (C2) aportó
14 $\frac{2}{3}$ partes de la recomendación, la concentración 3 aportó $\frac{1}{3}$ parte de la
15 recomendación y por último la concentración 0, que fue el control (C0), a la cual no
16 se le adicionó OCH, todas las salmueras se llevaron a una concentración del 6 % de
17 sal. Para finalizar, las tiras se enredaron para formar una bola y posteriormente se
18 empaquetó en bolsa de plástico con cierre hermético y se almacenó a 4 °C para su
19 posterior análisis.

20

21 **5.3.3 Adición de oleoresina de chile habanero a quesos.**

22 En la tabla 3 se muestran las concentraciones de CAP que fueron adicionados a los
23 quesos frescos y se indica la clave con la cual se identificó cada queso. De acuerdo
24 a la recomendación establecida de 2.53 mg CAP/Día por Janssens et al., (2013), sin
25 embargo, únicamente la concentración 1 aporta la recomendación en 30 gramos de
26 queso, la concentración 2, dos terceras partes y la concentración 3 únicamente una
27 tercera parte.

28

29

30

1 **Tabla 3. Diferentes concentraciones adicionadas de capsaicina en los quesos**
 2 **frescos**

Clave	mg CAP/30 g	%
C0	0	0
C1	2.53	0.008
C2	1.68	0.005
C3	0.84	0.002

3

4 **5.4 Análisis químico proximal de quesos**

5 **5.4.1 Humedad.**

6 Esta evaluación se basa en la medición de la masa de agua en una masa conocida
 7 de muestra, el contenido de humedad se determina midiendo la masa del queso
 8 antes y después de eliminar el agua por evaporación (AOAC 926.08, 1999). Los
 9 crisoles se sometieron a peso constante y se pesó 1 gramo de muestra (quesos en
 10 sus diferentes concentraciones) y posteriormente se introdujeron al horno de secado
 11 (Scorpion Scientific, 168242, México), a 105 °C por 3 horas, ya que en este tiempo el
 12 peso se volvió constante. Para terminar se hizo nuevamente el pesaje de los crisoles
 13 con muestra y se realizó la diferencia, para determinar su contenido de agua se
 14 empleó la siguiente fórmula. Los resultados fueron reportados en porcentaje de
 15 humedad.

$$\%H = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100$$

16

17 Dónde:

18 %H= Porcentaje de humedad

19 Pi= Peso Inicial

20 Pf= Peso final

21

1 **5.4.2 Proteína.**

2 El porcentaje de proteína de los quesos fue evaluado por el método establecido por
3 la AOAC 920.123. (1999) basado en la digestión del queso por ácido sulfúrico,
4 usando sulfato de potasio como catalizador para elevar el punto de ebullición, para
5 liberar el nitrógeno de la proteína y retener el nitrógeno como sal de amonio. Se
6 utilizó 0.1 g de muestra (queso en sus diferentes concentraciones), a la cual se le
7 adicionó una tableta catalizadora kjeldahl, 2 mL de agua destilada y 15 mL de ácido
8 sulfúrico. Durante el proceso de digestión dio como resultado la formación de sulfato
9 de amonio, el cual en presencia de un excedente de hidróxido de sodio al 32% liberó
10 amoníaco, posteriormente fue sometido a destilación colectando en ácido bórico al
11 3% dando como resultado la formación de borato de amonio, el cual fue valorado con
12 HCL 0.1 N. Para la determinación se empleó el equipo de digestión (Gerhardt, Nood
13 K88, Alemania), destilación (Gerhardt, Vapodest 50, Alemania) y neutralización
14 (Gerhardt, Tur, Alemania). La concentración de nitrógeno presente en la muestra se
15 multiplicó por el factor de conversión (6.38) y los resultados se expresaron en
16 porcentaje de proteína.

$$17 \qquad \qquad \qquad \%P = (CN * FC)$$

18 Dónde:

19 %P= Porcentaje de proteína

20 CN= concentración de nitrógeno

21 FC= Factor de Conversión

22

23 **5.4.3 Grasa.**

24 El método que se empleará para realizar la medición de grasa será de acuerdo a lo
25 establecido en el AOAC 996.06, (1999) mediante el equipo soxhlet (Buchi, B-811,
26 Alemania), el cual utilizó éter para suavizar la caseína y romper la emulsión y la
27 combinación grasa-proteínas. De manera general, se pesó 1 g de muestra, la cual se
28 colocó en un cartucho de celulosa, posteriormente, se utilizó el sistema de extracción

1 de grasas, empleando el éter de petróleo como disolvente de extracción y se siguió
2 el método predeterminado por el equipo. Para reportar los resultados en porcentaje
3 de grasa, al final del proceso se calculó con la siguiente fórmula:

4

$$\% G = \frac{Pf}{Pi} * 100$$

5

6 Donde:

7 %G= Porcentaje de grasa

8 Pf= Peso final de la muestra

9 Pi= Peso inicial de la muestra

10

11 **5.4.4 Cenizas**

12 El método gravimétrico para la determinación de cenizas en queso se basa en la
13 destrucción de la materia orgánica presente en la muestra por calcinación y
14 determinación gravimétrica del residuo (AOAC 935.42, 1999). Se pesaron las
15 muestras (1 g), las cuales se sometieron a carbonización de forma manual a fuego
16 directo con mechero y en campana de extracción (Leex, CA4430, México). A
17 continuación se introdujeron en la mufla (Furnace, 1500, FD1535M, EUA) a 550 °C
18 durante 5 horas. Por último se enfriaron en desecador durante 15 minutos y se pesó
19 el residuo. Los resultados fueron reportados en porcentaje de cenizas utilizando la
20 siguiente fórmula:

21

22

$$\% C = \frac{Pi - Pf}{Pi} * 100$$

23 Donde:

24 %C= Porcentaje de cenizas

25 Pi= Peso Inicial

26 Pf= Peso final

27

1 **5.4.5 Carbohidratos.**

2 Para el contenido de carbohidratos se realizó por diferencia, respecto a los
3 porcentajes obtenidos por las determinaciones anteriores (humedad, grasa, proteína,
4 y cenizas).

5 **5.5 Análisis microbiológico de quesos**

6 **5.5.1 Preparación de las muestras para análisis microbiológico.**

7 Se preparó la muestra de acuerdo a la metodología establecida por la NOM-110-
8 SSA1 (1994). Se colocaron 10 gramos de muestra en 10 mL de agua peptonada, y
9 se homogeneizó con una licuadora (Oster, 869-16/410, EUA) durante un minuto a
10 velocidad media, para posteriormente preparar las diluciones pertinentes. Todo en
11 condiciones estériles.

12

13 **5.5.2 Coliformes totales**

14 La determinación de coliformes totales se realizó de acuerdo a la González-Montiel y
15 Franco-Fernández, (2014), utilizando como medio selectivo agar rojo violeta bilis, en
16 el que se desarrollan bacterias productoras de gas y ácidos orgánicos, generando un
17 cambio del pH y precipitación de sales biliares. Las cajas se incubaron (Labtech, LSI-
18 3016, Corea) a 37 °C por 48 horas, descrito por González-Montiel y Franco-
19 Fernández, (2014). Los resultados se reportaron como logaritmo de unidades
20 formadoras de colonias por mililitro (Log UFC/g).

21

22 **5.5.3 Bacterias ácido lácticas**

23 El conteo con respecto a las bacterias lácticas se realizó empleando el método
24 utilizado por González-Montiel y Franco-Fernández (2014). El cual se basa en que el
25 medio de cultivo genera un abundante desarrollo de las especies de lactobacilos, la
26 glucosa y peptona proporcionan la fuente de nitrógeno y otros de los elementos
27 necesarios para el crecimiento bacteriano, además de que el medio contiene

1 componentes como el citrato de amonio que actúa como agente inhibitorio para el
2 crecimiento de las bacterias gram negativas. Se empleó el agar MRS, y la incubación
3 (Labtech, LSI-3016, Corea) fue llevada a cabo a 45 °C por 48 horas, los resultados
4 se reportaron en logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo (Log
5 UFC/g).

6

7 **5.5.4 Levaduras**

8 En determinación de levaduras se empleó el método descrito por González-Montiel y
9 Franco-Fernández, (2014). La hidrólisis de los compuestos del agar específico para
10 este grupo microbiano (agar papa dextrosa) se efectúa por enzimas que poseen
11 estos microorganismos. La sobrevivencia de las levaduras a pH ácidos se pone de
12 manifiesto al inocularlos en el medio de cultivo acidificado a un pH de 3.5. Así mismo,
13 la acidificación permite la eliminación de la mayoría de las bacterias. La incubación
14 (Labtech, LSI-3016, Corea) se llevó a cabo durante 48 horas a 37 ° C, de acuerdo a
15 la norma NOM-111-SSA1-1994. Los resultados se reportaron en logaritmo de
16 unidades formadoras de colonias por gramo (Log UFC/g).

17

18 **5.6 Evaluación sensorial de quesos**

19 Se realizó una adaptación de la escala hedónica de 5 puntos, que van desde me
20 gusta mucho, hasta me disgusta mucho, utilizada por Naranjo (2007), donde se
21 incluyeron los atributos de apariencia, color, aroma, textura y sabor. A este formato
22 se le anexó un apartado donde se evaluó la pungencia del producto, categorizando al
23 producto desde muy suave, hasta muy picante (Anexo 6), esta encuesta se aplicó en
24 estudiantes de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo del Área Académica
25 de Nutrición. En esta etapa se aplicó una frecuencia de consumo, con la intención de
26 comparar la aceptación del producto con su consumo de chile (Anexo 7).

27

5.7 Contenido fenólico total y actividad antioxidante en quesos

5.7.1 Extracción de péptidos en quesos para medición de antioxidantes en quesos.

La proteólisis que ocurre en el queso en el tiempo de maduración da como resultado péptidos, los cuales pueden ser considerados “péptidos bioactivos”, para evaluar su actividad antioxidante, se realizó una extracción acuosa la cual posteriormente se sometió a las pruebas de actividad antioxidante anteriormente descritas. Esta extracción se realizó por el método descrito por Öztürk y Akin (2017), donde se colocaron 10 g de muestra y se homogeneizaron con 20 mL de agua durante 10 min, los resultantes se mantuvieron a 4° C durante una hora, los materiales que no fueron solubles se separaron por centrifugación (Beckman Coulter, Allegra 25R, Italia) a 10,000 rpm por 30 min a 4 °C, y se separó el sobrenadante, se mantuvo en congelación a -20°C, posteriormente se sometió a las pruebas de antioxidantes, este proceso se repitió los días 1, 7 y 15 de almacenamiento.

5.7.2 Extracción etanólica para medición de antioxidantes en quesos.

Debido a la adición de la OCH de chile habanero a los quesos, se puede encontrar en esta matriz alimentaria componentes que son más afines al etanol. Por lo que se realizó una segunda extracción etanólica para obtener la mayoría de sus componentes con actividad antioxidante. Se empleó el método utilizado por Gonçalves et al., (2017), se tomaron 10 g de queso, con 20 mL de etanol y se mantuvo en agitación durante 60 minutos, en un baño de agua (LSB-015S, LabTech, Jalisco, México). Posteriormente se centrifugó (Beckman Coulter, Allegra 25R, Italia) a 10,000 rpm 10 min a 4°C y se separó el sobrenadante, se almacenó a -20°C para su posterior análisis, este proceso se repitió los días 1, 7 y 15 de almacenamiento.

Para ambas extracciones se aplicó el procedimiento mencionado anteriormente para contenido fenólico total y actividad antioxidante por ABTS y DPPH.

5. 8 Calidad de quesos

5.8.1 Determinación de pH y acidez titulable.

Para esta determinación se utilizó el método de Kirk et al., (2002), se maceró 5 gramos de muestra (queso panela y Oaxaca en sus diferentes concentraciones) con 50 mL de agua tibia a 40 °C, a partir de esta mezcla se le midió el pH con un potenciómetro (Hanna, 210, Portugal). De esta mezcla se titularon 10 mL, con hidróxido de sodio al 0.1 N, hasta que el color viró a un rosa claro, se empleó fenolftaleína como indicador. Se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de acidez titulable:

$$\% AT = \frac{(V * N * 0.09)}{M} * 100$$

Donde:

%AT = Porcentaje de acidez titulable

V= Volumen de hidróxido de sodio

N= Normalidad de hidróxido de sodio

M= Mililitros de muestra utilizada

0.09= miliequivalentes de ácido láctico

5.8.2 Determinación de sinéresis

Esta determinación se basa en la pérdida de peso por el suero liberado durante el almacenamiento. La determinación de sinéresis se llevó a cabo mediante el procedimiento descrito por Antezana (2015). La determinación se realizó durante los días de almacenamiento establecidos (1, 7 y 15), basándose únicamente en el peso de la masa y el suero drenado durante el almacenamiento. Los resultados se reportaron en porcentaje de pérdida por sinéresis. La fórmula para reportar el porcentaje de suero liberado, como indicador de sinéresis fue la siguiente:

$$\%Sinéresis = \frac{\text{Suero liberado (g)}}{\text{Masa de queso (g)}} * 100$$

1

2 **5.9 Análisis estadístico.**

3 Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Los resultados se expresaron como
4 media \pm desviación estándar (DE), y se realizó un análisis de varianza (ANOVA)
5 mediante el modelo lineal general multivariante, con la prueba de Duncan, esta
6 prueba se empleó para comparar todas las muestras en los días en que se realizaron
7 las pruebas (1, 7 y 15) y también se utilizó para identificar las diferencias estadísticas
8 de una misma muestra durante su almacenamiento, con un nivel de significancia de
9 $p < 0.05$, usando el software IBM SPSS Advanced statistics para Windows, versión
10 15.0 (SPSS Inc, EUA).

11

1 6. Resultados y discusión.

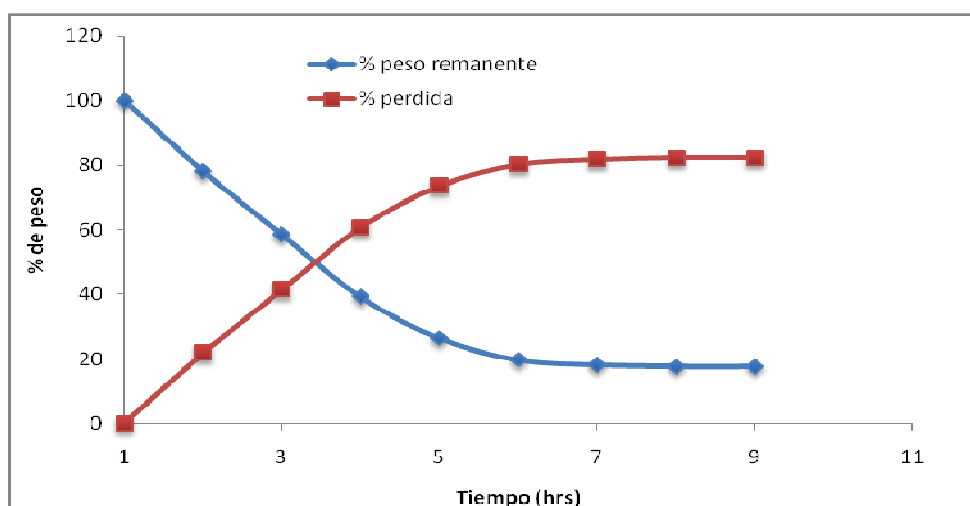
2 6.1 Obtención y análisis cuanti y cualitativo de capsaicina y 3 dihidrocapsaicina en oleorresina de chile habanero

4 6.1.1 Curva de secado para a deshidratación del chile habanero.

5 Para una extracción eficiente de CAP, se ha evidenciado que en los chiles
6 deshidratados se destruye la pared celular, lo que permite al disolvente estar en
7 contacto directo con la molécula que se desea extraer (Casanova-Ortiz et al., 2015).
8 Para la deshidratación de este estudio, las condiciones se establecieron mediante
9 ensayos previos y referencia (Hernández et al., 2010).

10

11 En la Figura 8 se observa el comportamiento de deshidratación de *Capsicum*
12 *chinense* Jacq. para la extracción de CAP del presente trabajo, se aprecia que a
13 partir de las seis horas la curva se mantiene lineal recta, que es donde el fruto llegó a
14 su tiempo máximo de pérdida de peso. Resultados similares fueron mostrados por
15 Hernández et al., (2010), donde a una temperatura de 50 °C, el chile deja de perder
16 peso a las 7 horas, la temperatura alcanzada fue similar a esta investigación (47° C),
17 utilizando el mismo tamaño de espesor del fruto de 0.5 a 1 cm.



18

19 Figura 7. Curva de secado para deshidratación por convección de chile habanero.

1 **6.1.2 Rendimientos de la extracción**

2 El porcentaje de rendimiento de extracción de OCH obtenida fue de 3.66%. En un
3 estudio realizado por Cardona et al., (2006), en oleorresinas de *Capsicum annuum*
4 L., quienes utilizaron acetato de etilo y hexano para su extracción, reportaron un
5 rendimiento similar de 4.2% cuando realizaron la extracción con acetato de etilo,
6 mientras que con hexano obtuvieron 2.9%. Se indica que la eficiencia de la
7 extracción de capsaicinoides está directamente relacionada con la polaridad y
8 afinidad del solvente empleado para la extracción (Nagoth, 2014).

9

10 **6.1.3 Análisis cuali y cuantitativo de capsaicina y dihidrocapsaicina por**
11 **HPLC.**

12 La cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), es un método de separación
13 analítico que se lleva a cabo mediante la afinidad que tiene un compuesto por una
14 fase móvil (Méndez, 2008), y ha sido previamente usado para emplearlo en la
15 cuantificación de capsaicinoides (Davis et al., 2007, Hoyos et al., 2007, Restrepo et
16 al., 2007, Ozdemir y Topuz, 2014). En la figura 9a, se muestran los cromatogramas
17 obtenidos por HPLC de los dos capsaicinoides principales CAP (1) y DHC (2), de las
18 muestras estándar (Figura 9a), y en la Figura 9b se observa el cromatograma de la
19 muestra de OCH, donde se logró identificar estos dos capsaicinoides. Los tiempos de
20 retención de las muestras en promedio para CAP fueron de 19.23 min (1) y 20.47
21 min para DHC (2), además aparecen otros picos (3, 4 y 5), los cuales no se
22 identificaron y que posiblemente pudieran ser otros capsaicinoides
23 (Nordihidrocapsaicina, y homocapsaicina) que previamente han sido observados
24 (Giuffrida et al., 2014), sin embargo la capsaicina es el capsaicinoide de mayor
25 interés ya que ha sido ampliamente estudiado por su actividad biológica, como
26 antiinflamatoria, antidiabetes, anticáncer, antiobesidad etc(Avesaat et al., 2016;
27 Hudson et al.,2016; Xie et al., 2016; Vendrelyet al., 2017; Janssens et al., 2013).

28

29 En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos de la cuantificación de CAP y
30 DHC provenientes de OCH durante el primer día de la extracción hasta el día 45 de

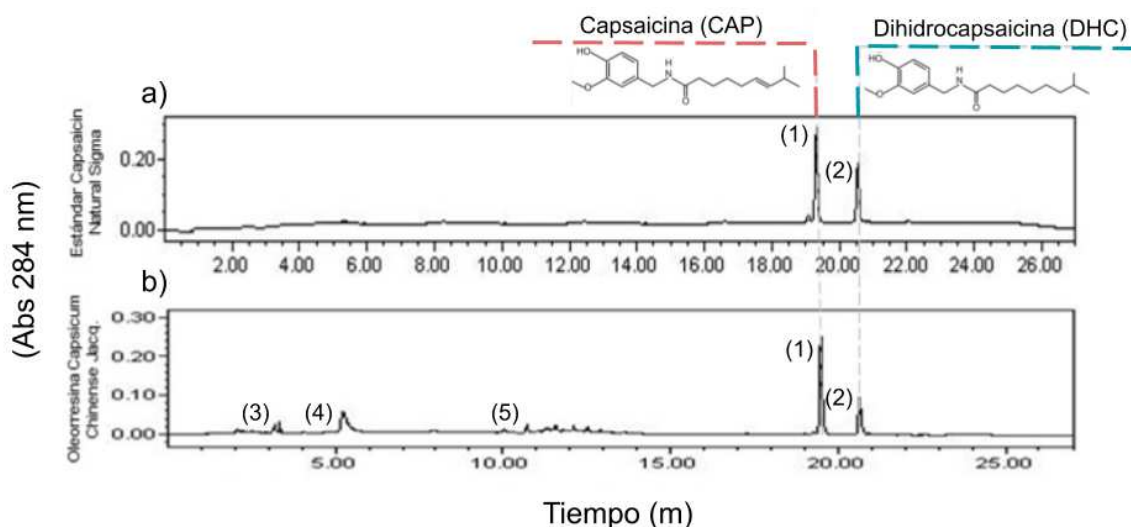
1 almacenamiento, la cuantificación de los capsaicinoides en el día 0 fue de 14.37 mg
2 CAP/g y 10.49 mg DHC/g. Davis et al., (2007), analizaron 31 extractos etanólicos de
3 oleorresina de chile habanero y en promedio obtuvieron una concentración de 0.12
4 mg/g de capsaicina y dihidrocapsaicina en conjunto, en otro estudio reportaron en
5 oleorresina de *Capsicum spp* concentraciones de 4.9 mg CAP/g y 1.7 mg DHC/g
6 (Hoyos et al., 2007) ambos estudios presentan concentraciones menores a las
7 obtenidas en el presente trabajo.

8

9 Restrepo et al. (2007), cuantificaron en oleorresinas de chile habanero extraídas con
10 acetato de etilo y hexano, y cuantificaron 94.7 mg CAP/g, 49.4 mg DHC/g, y 53.1 mg
11 CAP/g y 28.7 mg DHC/g, respectivamente, concentraciones más altas comparadas
12 con esta investigación. Por su parte Yáñez et al. (2015), obtuvieron una oleorresina
13 etanólica con una concentración de capsaicina de 11.33 mg CAP/g, similares a las
14 obtenidas en este estudio. Las diferencias en las concentraciones de los estudios
15 mencionados, se pueden atribuir a la composición genética de la planta, el ambiente
16 donde se cultiva y la maduración del fruto (Zewdie y Bosland, 2000), así como a la
17 capacidad para acumular los capsaicinoides, la cual se asocia estrechamente con la
18 especie del chile (Vázquez-Flota et al., 2007), por ejemplo, *Capsicum chinense* Jacq.
19 se considera como una de las especies que más contenido de estos componentes
20 presenta (Cázares-Sánchez et al., 2005).

21

22 Una concentración más alta de capsaicinoides en las oleorresinas puede estar
23 relacionada con el uso del disolvente empleado para su extracción, así el acetato de
24 etilo y el hexano se destacan por ser disolventes con mayor afinidad por estos
25 (Restrepo et al., 2007). Sin embargo, en la presente investigación se realizó la
26 extracción de la oleorresina con etanol, ya que se recomienda el uso de disolventes
27 orgánicos de menor toxicidad para uso en tecnología alimentaria, entre ellos el etanol
28 (Nagoth et al., 2014), por lo que se justifica su adición a los diferentes quesos.



1

2 Figura 8. Cromatogramas de capsacina y dihidrocapsaicina por HPLC: a) Estándar y
 3 b) OCH (oleorresina de chile habanero)

4

5 **6.1.4 Cuantificación de capsacina y dihidrocapsaicina en oleorresina de** 6 **chile habanero durante almacenamiento.**

7 Durante el almacenamiento, las concentraciones fueron estables ($p > 0.05$) desde el
 8 día en que fue realizada la extracción hasta el día 35 (4°C), para el día 45 se observó
 9 una disminución significativa para CAP, mientras que para DHC los valores se
 10 mantuvieron similares (tabla 4). Existen pocos estudios que reporten el
 11 comportamiento de los capsaicinoides durante el almacenamiento en oleorresinas.
 12 Domínguez-Cañedo et al. (2015), evaluaron el comportamiento de capsaicinoides en
 13 el complejo de inclusión molecular de oleorresina de chile habanero con β -
 14 ciclodextrina, a diferentes temperaturas (25, 35 y 45 °C durante 51 días) y con
 15 diferentes valores de actividad de agua (0.103–0.765), y encontraron que las
 16 oleorresinas almacenadas a 35 y 45 °C, presentaron mayor pérdida de capsacina a
 17 partir de las 4.7 semanas, detectaron que la actividad de agua no tuvo efectos sobre
 18 capsacina, por lo que sugieren que el deterioro de capsacina no es oxidativo, más
 19 bien es dependiente de la temperatura.

20

1 Otros estudios en polvo de chile sugieren lo mismo, Ozdemir y Topuz (2014),
2 analizaron chile (*Capsicum annum*) deshidratado almacenado a temperatura
3 ambiente, y evaluaron los cambios de los capsaicinoides durante 10 meses de
4 almacenamiento, observando una disminución a los 2 meses en el contenido de DHC
5 y CAP, similar a lo reportado por Giuffrida et al., (2014), en polvos de chile
6 deshidratado de *Capsicum annuum* spp. a temperatura ambiente y a -18 °C durante
7 12 meses, las muestras que fueron sometidas a congelación tuvieron una
8 disminución de capsaicina y dihidrocapsaicina a los 9 meses de almacenamiento,
9 mientras que en la muestra que se almacenó a temperatura ambiente, iniciaron las
10 pérdidas de estos componentes a los 6 meses de almacenamiento, ambos estudios
11 encontraron una transformación isomérica de DHC a isodihidrocapsaicina.

12

13 La disminución de capsaicina se debe a que ocurre una fragmentación de los grupos
14 alquilo de la molécula por acción de la temperatura, provocando una oxidación,
15 formando vainillina seguida de la presencia de un segundo rompimiento para
16 constituir otros compuestos fenólicos y por último la conversión a alquilamina
17 (Henderson, 1992). Wang et al., (2009) en muestras de chile en polvo *Capsicum*
18 *annuum* L., almacenado a diferentes temperaturas (2-5 °C en refrigeración y 5-35 °C
19 temperatura ambiente) mostraron una mayor disminución de CAP y DHC en los
20 almacenados a temperatura ambiente a los dos meses, y lo atribuyen a una posible
21 oxidación enzimática residual, por la liberación de las enzimas peroxidasas durante
22 la molienda (Titze et al., 2002).

23

24 Cabe recordar que estos estudios antes mencionados se realizaron en muestras en
25 polvo, y hacen referencia de condiciones de almacenamiento con temperaturas
26 mayores a 25 °C, sin embargo, este proceso de degradación, en el presente trabajo,
27 debe ser estudiado a fondo, ya que la matriz fue diferente y se observó la
28 degradación de capsaicinoides a los 45 días a pesar de mantener la temperatura
29 controlada (4 °C), es importante tomar en cuenta que un compuesto de alta pureza
30 es menos estable dado que está más expuesto a factores alterantes que cuando se
31 encuentra en una matriz intacta o compleja.

1 Tabla 4. Concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina en oleorresina de chile
 2 habanero.

3

Almacenamiento (días)	mg CAP/g OCH*	mg DHC/g OCH**
0	14.37 ± 1.08 ^a	10.49 ± 0.33 ^{ab}
15	14.35 ± 0.04 ^a	10.56 ± 0.18 ^{ab}
35	15.72 ± 0.16 ^a	11.45 ± 0.25 ^a
45	12.28 ± 0.53 ^b	9.61 ± 0.69 ^b

4 ^{a-b} Las letras superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre
 5 los días de almacenamiento. * miligramos de capsaicina por gramo de oleorresina de
 6 chile habanero: ** miligramos de dihidrocapsaicina por gramo de oleorresina de chile
 7 habanero.

8

9 **6.2 Análisis cuantitativo de fenoles totales y actividad antioxidante en la**
 10 **oleorresina de chile habanero.**

11 **6.2.1 Determinación de contenido fenólico total en oleorresina de chile**
 12 **habanero.**

13 El grupo de los fenoles se refiere a un amplio número de sustancias (más de 8,000),
 14 los cuales tienen distintas estructuras y actividades en los tejidos vegetales, el
 15 contenido puede presentar variaciones en relación al compuesto y su ubicación en
 16 las células vegetales (Martínez-Valverde et al., 2000). Por su importante actividad
 17 biológica se han atribuido actividades en la mejora de la salud, resaltan sus efectos
 18 vasodilatadores, anticáncer, antiinflamación, antialergias, entre otros (Cao et al.,
 19 1997). En la tabla 5 se observa el comportamiento respecto al CFT durante el
 20 almacenamiento de OCC, arrojando una concentración inicial de 29.13 ± 0.61 mg
 21 EAG/mL. Cerón et al., (2016), encontraron en chile habanero 2.32 mg EAG/g, en

1 este trabajo se obtuvo una concentración aproximadamente 10 veces mayor en la
2 oleorresina. Por otro lado Souza et al. (2015) evaluaron distintos pimientos del
3 género *Capsicum* en extractos etanólicos acuosos, para *Capsicum chinense* Jacq.
4 hallaron un contenido de 26.6 mg EAG/g, resultados que son muy similares a los
5 obtenidos en esta investigación, debido a que la extracción realizada en este último
6 estudio, fue realizada con el mismo disolvente que fue empleado en el presente
7 proyecto.

8
9 Respecto al almacenamiento, no se identificaron diferencias significativas hasta el
10 día 45. Un comportamiento similar fue reportado por Domínguez-Cañedo y Beristain-
11 Guevara (2011), en oleorresina de chile habanero microencapsulada, almacenada a
12 25 35 y 45 °C durante 8 semanas, los valores se mantuvieron estables en la mayoría
13 de sus muestras excepto por la almacenada a 45 °C, este comportamiento se puede
14 atribuir a las modificaciones que ocurren en los compuestos como consecuencia de
15 procesos y almacenamiento, probablemente se presentó la síntesis de nuevos
16 compuestos, los cuales ayudan conservar la actividad antioxidante o incluso
17 mejorarla durante el tiempo (Manzocco et al., 1998).

18
19 Cabe resaltar que la disminución del CFT fue similar al comportamiento en la
20 concentración de capsaicina durante el almacenamiento (disminución en el día 45),
21 ya que como se ha demostrado la capsaicina tiene un grupo fenol en su estructura el
22 cual provoca una coloración con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Reyes-Escogido et
23 al., 2011; Dawan et al., 2017), por tal razón al modificarse este compuesto, se
24 modificaría la concentración de CFT.

25
26 No se han hallado estudios de CFT en oleorresinas de chile habanero durante el
27 almacenamiento, sin embargo Santander et al. (2017) estudiaron una bebida de
28 leche descremada con pulpa natural de tomate de árbol almacenada a temperatura
29 de refrigeración (4°C) y observaron una disminución significativa a los 28 días de
30 almacenamiento, suponen que la causa de la disminución en CFT, fue el tratamiento
31 térmico que recibió la bebida en su elaboración (90 °C por un minuto), aunado a esto,

1 Cao et al., (2012) reportaron que la temperatura tiene repercusiones en la
2 degradación de los compuestos fenólicos durante el almacenamiento, como
3 resultado del aumento en la oxidación y la polimerización de compuestos fenólicos
4 con proteínas. Esto pudo haber sucedido en este estudio, ya que para la obtención
5 de la OCH se aplicó un tratamiento térmico de 65 °C por una hora, lo cual pudo
6 afectar la estabilidad de los compuestos fenólicos.

7

8 **6.2.2 Capacidad antioxidante por ABTS en oleorresina de chile habanero** 9 **durante su almacenamiento**

10 Otra de las metodologías que frecuentemente se emplean para medir la capacidad
11 antioxidante en alimentos, de compuestos con naturaleza hidrofílica, es por medio de
12 ABTS. En la tabla 5 se observa al día uno, una concentración de $7.78 \pm 0.029 \mu\text{mol}$
13 ET/mL OCC. Varios estudios han reportado la actividad antioxidante por ABTS, tanto
14 en chile seco como extractos, Meckelman et al. (2013) estudiaron *Capsicum*
15 *chinense* Jacq. seco, reportaron un promedio de $92 \mu\text{mol ET/g}$, por otro lado, en un
16 estudio realizado por Hervert-Hernández et al.(2010), en extractos etanólicos de
17 *Capsicum annum* obtuvieron $38.5 \pm 0.4 \mu\text{mol ET/mL}$, estos se encontraron en mayor
18 proporción al compararlos con los obtenidos en la presente investigación,
19 probablemente debido a la eliminación de algunos componentes en la concentración
20 para llegar a la consistencia de oleorresina.

21

22 Los valores obtenidos por ABTS fueron menores a los del análisis por DPPH, y
23 puede ser debido a que la oleorresina tiene en su mayoría componentes de
24 naturaleza lipofílica, los cuales son identificados por DPPH, mientras que por ABTS
25 identifica compuestos hidrofílicos (Gaviria et al., 2009).

26

27 Durante el almacenamiento, se observó una disminución significativa para el día 15
28 manteniéndose estable hasta el día 35, y mostrando un aumento significativo al
29 último día de almacenamiento. El trabajo de Cerecedo-Cruz et al. (2018), presentó
30 un comportamiento similar durante el almacenamiento de oleorresinas de aguacate

1 adicionadas con oleorresinas de *Capsicum annuum* L, donde estudiaron el día 1 y 28
2 de almacenamiento, encontrando una disminución en el día 28, y lo atribuyen al
3 estado de oxidación de sus componentes. Por otro lado el aumento en el día 45,
4 podría ser debido a la aparición de nuevos componentes en el almacenamiento que
5 mejorar la actividad antioxidante, como compuestos fenólicos (Manzocco et al.,
6 1998).

7

8 **6.2.3 Capacidad antioxidante por DPPH en oleorresina de chile habanero** 9 **durante su almacenamiento.**

10 Se ha prestado especial atención a la actividad antioxidante de los compuestos, por
11 el papel que desempeñan tanto en el organismo como en los alimentos (prevención
12 en la degradación oxidativa de polímeros y grasas), y para estimar esta actividad el
13 método de DPPH es uno de los más utilizados (Szabo et al., 2007).

14

15 El contenido y comportamiento de la capacidad antioxidante por DPPH durante el
16 almacenamiento de la oleorresina se muestra en la tabla 5, los resultados en el día 0
17 de la extracción reportan un contenido de $11.30 \pm 1.73 \mu\text{mol ET/mL}$ de OCH.
18 Riquelme y Matiacevich (2016), encontraron en la oleorresina de *Capsicum annuum*
19 var. valores de $1.4 \times 10^{-3} \mu\text{mol ET/mL}$, en contraste con este estudio, la oleorresina
20 de chile habanero arroja valores mayores. Estas diferencias son dependientes de la
21 cantidad de capsaicina que la oleorresina contenga, ya que Maskimova et al., (2014),
22 en un estudio donde analizaron oleorresinas extraídas con etanol de diferentes
23 cultivares y especies de chiles (Genotipos: Vezena, Feferona y Bombona),
24 observaron una relación directa entre la actividad antioxidante y la cantidad de
25 capsaicina.

26

27 En la OCH del presente trabajo, la actividad antioxidante se vio disminuida a partir
28 del día 35 ($p < 0.05$), esta disminución de la capacidad antioxidante por DPPH, puede
29 deberse a la disminución de compuestos bioactivos como: vitaminas, fenoles,
30 carotenoides y en este caso capsaicinoides (Santander et al., 2017). Este

1 comportamiento podría estar relacionado con los resultados obtenidos en la
 2 concentración de capsaicina (tabla 4), en donde se aprecia una disminución en el día
 3 35.

4

5 Tabla 5. Contenido fenólico y actividad antioxidante en oleorresina de chile habanero
 6 durante su almacenamiento.

Almacenamiento (días)	CFT mg EAG/mL OCH	ABTS $\mu\text{mol ET/mL OCH}^A$	DPPH $\mu\text{mol ET/mL OCH}$
0	29.13 ± 0.61^a	7.78 ± 0.03^a	11.30 ± 1.73^a
15	28.31 ± 0.17^a	6.08 ± 0.07^c	11.19 ± 0.51^a
35	28.31 ± 0.17^a	6.08 ± 0.07^c	10.18 ± 0.67^b
45	25.46 ± 0.92^b	7.40 ± 0.01^b	7.49 ± 1.28^c

7

8 ^{a-c} Letras superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los días de
 9 almacenamiento. ^{CFT} miligramos equivalentes de ácido gálico por mililitro de oleorresina de
 10 chile habanero (OCH) ^{ABTS, DPPH} micromoles equivalentes de trolox por mililitro de oleorresina
 11 de chile habanero.

12

13 **6.3 Análisis químico proximal y microbiológico en quesos adicionados** 14 **con oleorresina de chile habanero**

15 Posterior al análisis de la oleorresina del chile habanero analizada anteriormente, fue
 16 adicionada a quesos frescos (panela y Oaxaca) en diferentes concentraciones,
 17 posteriormente se realizaron pruebas con la finalidad de caracterizar a las muestras
 18 adicionadas y compararlas con un control. Estos resultados se observan a
 19 continuación.

20

1 **6.3.1 Análisis químico proximal de quesos adicionados con oleorresina**
2 **de chile habanero.**

3 El análisis químico proximal es empleado con la finalidad de describir los alimentos y
4 dar a conocer los componentes químicos que son mayoritarios en las diferentes
5 matrices alimentarias (Matissek *et al.* 1998). En la tabla 6 se muestra la composición
6 química proximal de las muestras de queso panela y Oaxaca adicionados con
7 oleorresina de chile habanero. En primer lugar se encuentra el porcentaje de
8 humedad donde las muestras de Oaxaca C2 y C3 tienen valores menores
9 significativamente respecto al resto de las muestras excepto por las muestras de
10 Oaxaca C0 y C1, en cuanto a proteína el queso C2 Oaxaca mostró el valor más alto
11 ($p < 0.05$) salvo por C0, C1 y C3 de queso Oaxaca. En el porcentaje de grasa, los
12 quesos Oaxaca obtuvieron los valores más altos ($p < 0.05$), mientras que, en
13 carbohidratos y cenizas, todas las muestras presentaron valores similares ($p > 0.05$).

14
15 Díaz-Galindo *et al.* (2017), analizaron muestras de queso fresco comercializado en
16 mercados de Toluca, los cuales fueron elaborados a partir de leche bronca, los
17 quesos en promedio tuvieron un porcentaje de humedad de 49.5%, de grasa 19.7%,
18 de proteína 20.5% y cenizas de 3.3%, comparados con las muestras de la presente
19 investigación, estos mostraron un porcentaje mayor de proteína, menor de grasa y
20 fueron similares en humedad y cenizas. Ramírez-López *et al.* (2012), encontraron
21 porcentajes de humedad de 53.2 - 49.3%, cenizas de 2.7 - 3.7%, grasa de 18.8 –
22 20.6% y proteína de 20.5 - 22.4% en queso panela y Oaxaca respectivamente, estos
23 valores fueron similares a los realizados en el presente trabajo en ceniza y humedad,
24 menores en grasa y mayores en proteína. Las diferencias en estos parámetros
25 dependen de la calidad y composición de la materia prima, la leche, e incluso la
26 composición del producto final, puede cambiar debido al proceso por el cual el queso
27 fue elaborado ya que por las condiciones de elaboración como el pH, temperatura y
28 maduración puede influir en su composición, y también, los aditivos que se emplean
29 en su preparación (Sánchez *et al.*, 2012; Manjarrez *et al.*, 2012).

1
2
3**Tabla 6. Composición química proximal de quesos frescos adicionados con oleoresina de chile habanero**

Porcentaje (%)	Panela				Oaxaca			
	C0	C1	C2	C3	C0	C1	C2	C3
Humedad	51.93±0.30 ^{ab}	52.18±0.98 ^{ab}	52.24±0.36 ^{ab}	52.33±0.57 ^a	50.40±0.73 ^{abc}	50.18±0.66 ^{bc}	48.67±0.80 ^c	49.71±1.20 ^c
Proteína	37.51±0.67 ^{cb}	36.07±0.45 ^c	37.39±1.64 ^{cb}	37.28±1.05 ^{cb}	38.63±0.92 ^{abc}	39.39±0.25 ^{ab}	40.55±1.09 ^a	39.29±1.49 ^{ab}
Grasa	4.87±0.30 ^b	4.50±0.24 ^b	4.63±0.35 ^b	4.60±0.31 ^b	6.52±0.17 ^a	5.84±0.52 ^a	6.58±0.13 ^a	6.25±0.42 ^a
Carbohidratos *	1.36±0.58 ^a	2.63±1.10 ^a	1.67±1.4 ^a	1.24±0.90 ^a	0.61±0.30 ^a	0.75±0.72 ^a	0.83±0.12 ^a	0.83±1.02 ^a
Ceniza	4.32±0.10 ^a	4.61±0.25 ^a	4.05±0.06 ^a	4.54±0.23 ^a	3.83±0.17 ^a	3.83±0.69 ^a	3.85±0.30 ^a	3.9±0.14 ^a

4 ^{a-c} Las letras superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre muestras. * Los carbohidratos se calcularon como
5 la diferencia de los valores de humedad, proteínas, grasa y ceniza.

1 Es importante mencionar que en esta investigación se utilizó una leche comercial de
2 marca Santa Clara entera pasteurizada, y debido a esto, su composición se
3 encuentra estandarizada, a diferencia de la leche bronca que puede tener
4 variabilidad en componentes químicos mayoritarios (grasa y proteínas)

6 **6.3.2 Coliformes totales**

7 Existen algunas enfermedades que pueden ser transmitidas por alimentos, las cuales
8 en su mayoría son de origen bacteriano, generalmente se cuantifican
9 microorganismos indicadores que determinen la inocuidad en los alimentos, entre los
10 que se encuentran los coliformes totales (Félix-Fuentes et al., 2005). En la figura 10,
11 se muestra el recuento de estos microorganismos, el C2 de panela, C2 y C3 de
12 Oaxaca fueron son aquellas que arrojaron los valores menores significativamente
13 (3.42 logUFC/g; 3.36 log UFC/g; 3.44 log UFC/g, respectivamente), en comparación
14 al resto de las muestras. El queso panela C2 disminuyó 0.6 log UFC/g con respecto a
15 la muestra control, mientras que los quesos Oaxaca adicionados, en promedio
16 bajaron 0.30 log UFC/g en relación al control.

17
18 No existe una norma que establezca los valores de recuento de coliformes totales
19 para quesos, sin embargo, en algunos estudios (Palacios-Vargas en 2006; González-
20 Montiel y Franco-Fernández, 2015) toman en cuenta la NOM-243-SSA1-2010
21 correspondiente a productos derivados lácteos, leches y quesos de suero, en donde
22 el límite máximo permitido es ≤ 100 log UFC/g, de acuerdo a esto, todas las
23 muestras cumplieron con lo establecido en esta norma.

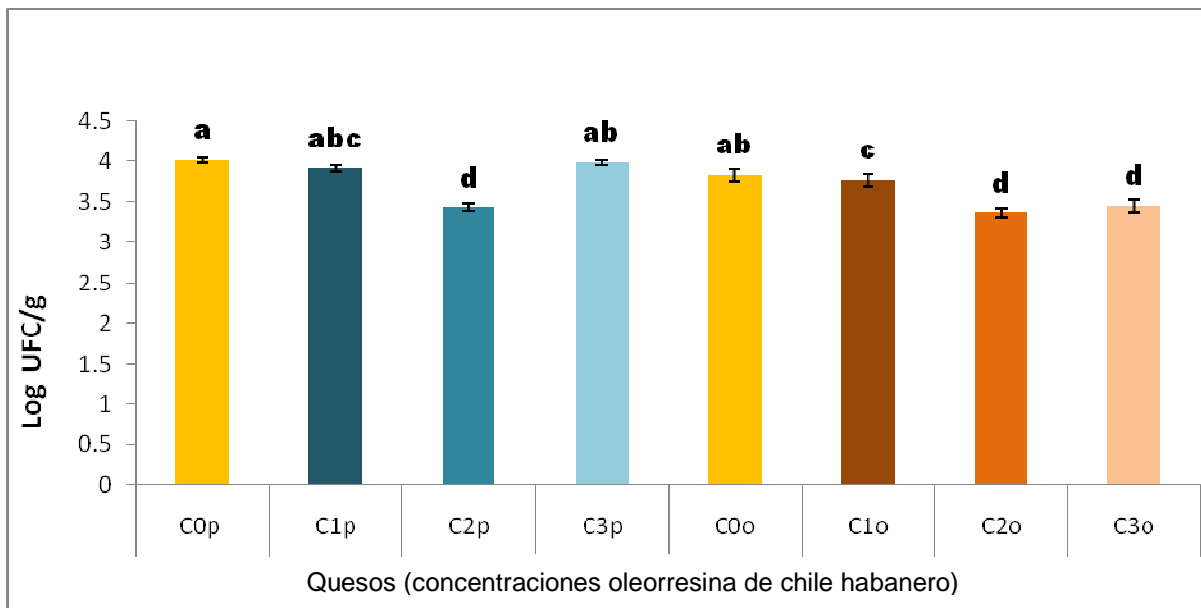
24
25 Los valores obtenidos en esta investigación, fueron menores comparados con un
26 queso panela (6.35 log UFC/g) y de Oaxaca (4.08 log UFC/g) elaborados en el
27 estado de Hidalgo (Palacios-Vargas, 2006) y otro fresco de aro comercializado en la
28 Cañada Oaxaqueña (6.44 log UFC/g) (González-Montiel y Franco-Fernández, 2015).
29 En otra investigación en queso fresco procedente de Hermosillo, Sonora, elaborado a
30 partir de leche cruda y pasteurizada, observaron que estos microorganismos tuvieron

1 menores valores significativamente, en aquellas muestras que fueron elaboradas con
2 leche pasteurizada (4.78 – 4.42 log UFC/g) (Reyne et al., 2008), comportamiento
3 similar a los quesos control del presente trabajo. La diferencia entre quesos
4 elaborados a partir de leche bronca y pasteurizada, se atribuyen a la procedencia de
5 la materia prima, considerando que el tratamiento térmico reduce la cantidad de
6 coliformes totales en la leche, teniendo un efecto benéfico en los quesos, ya que la
7 presencia de estas bacterias contribuye al desarrollo de aromas y sabores
8 indeseables (Menendez et al., 2001).

9
10 Por otra parte, Escobar-López et al., (2017), analizaron muestras de queso botanero
11 control, uno adicionado con chile chipotle enlatado, y otro adicionado con epazote y
12 chile cuaresmeño, muestran una disminución en los adicionados comparados con el
13 control, y sugieren que es causado por la diferencia de pH, ya que el queso botanero
14 control tiene valores de pH más altos (4.9) en contraste con los quesos adicionados
15 (4.3 y 4.5 respectivamente), lo que favorece el crecimiento de estos
16 microorganismos.

17
18 No obstante, en relación a este estudio, las muestras en esta investigación tuvieron
19 un pH de 5.3-6.8, y se presentó el mismo comportamiento de reducción en los
20 quesos adicionados con oleorresina de chile habanero. Esto se podría atribuir al
21 efecto antimicrobiano que podrían tener las oleorresinas de chile, ya que en un
22 estudio se encontró que los extractos etanólicos de chile habanero, ejercen un efecto
23 inhibitorio contra microorganismos como *Escherichia coli*, debido a los componentes
24 específicos como el péptido hallado en las semillas (G10P1.7.57) y los
25 capsaicinoides (Cerón-Carrillo et al., 2014).

1
2
3
4
5



6
7
8
9
10
11
12
13
14

Figura 9. Presencia de Coliformes totales en muestras de queso panela y Oaxaca ^{a-d} Letras superíndices diferentes arriba de las barras indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las muestras. (C0p) concentración 0 panela, (C1p) Concentración 1 panela, (C2p) Concentración 2 panela, (C3p) Concentración 3 panela, (C0o) concentración 0 Oaxaca, (C1o) Concentración 1 Oaxaca, (C2o) Concentración 2 Oaxaca, (C3o) Concentración 3 Oaxaca.

1 **6.3.3 Bacterias ácido lácticas.**

2 Las bacterias ácido lácticas (BAL) se han estudiado ampliamente por su importancia
3 como microorganismos benéficos para la salud, por su actividad de mejora en el
4 tracto gastrointestinal e incluso evitan el crecimiento de algunos microorganismos
5 patógenos (Del campo et al., 2008). El recuento de BAL, está representado en la
6 figura 11, todas las muestras de queso Oaxaca arrojaron valores menores con
7 respecto a los quesos panela, estos mostraron valores similares (4.68 - 4.71 Log
8 UFC/g) ($p > .05$). Los bajos valores en los quesos Oaxaca es debido al proceso de
9 acidificación directa de la leche empleado en la elaboración de este queso.

10

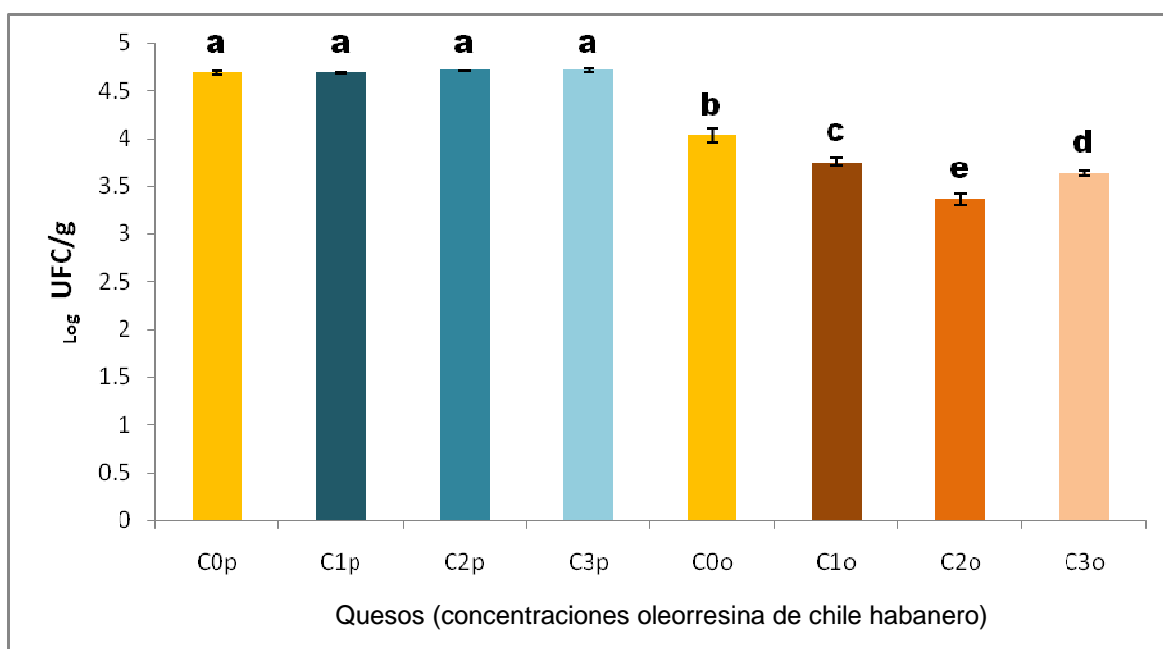
11 González-Montiel y Franco Fernández (2015), reportan 7.47 log UFC/g en queso
12 fresco de aro, mientras en quesos producidos en Hidalgo en promedio 5.65 log
13 UFC/g para quesos panela y 6.52 log UFC/g para quesos Oaxaca (Palacios-Vargas,
14 2006). En general, las muestras del presente trabajo mostraron menores valores
15 comparados con los estudios antes mencionados. Esto puede ser atribuido a que la
16 leche que fue utilizada para su elaboración fue pasteurizada, y la disminución de
17 estas bacterias se debe a que muchos de los microorganismos de este grupo, no
18 resisten el proceso térmico y esto afecta directamente la concentración final de las
19 BAL en los quesos (Salmerón et al., 2002).

20

21 Además, es importante remarcar que en la industria de los quesos, cuando son
22 elaborados a partir de leche pasteurizada se emplean cultivos lácticos iniciadores,
23 que son inoculados con la finalidad de lograr una elevada calidad sensorial (Villegas
24 de Gante, 2004), y en el proceso de las muestras en este trabajo no se añadió algún
25 tipo de cultivo iniciador, lo que se relaciona con los niveles bajos en este grupo de
26 bacterias. Por otro lado, Ceron-Carrilo et al. (2014) mostraron que extractos
27 etanólicos de chile habanero maduro inhiben el crecimiento de *Lactobacillus casei*, y
28 lo atribuyen al ácido ascórbico y compuestos fenólicos, que afectan de manera
29 importante la síntesis de proteínas de las células (Brul y Coote, 1999), así como a la

1 naturaleza del *Lactobacillus casei*, que es una bacteria gram positiva, la cual tiene
 2 mayor sensibilidad a los compuestos no polares, característicos de estos extractos
 3 del chile habanero (Davinson, 1993), por lo que los recuentos se pudieron ver
 4 afectados por esta causa. Sin embargo, se recomienda para trabajos futuros, realizar
 5 pruebas que comprueben si la OCH afecta o no a las colonias de las BAL, aunado a
 6 esto, sería importante cuantificar las BAL en la leche pasteurizada con la que se
 7 realizaran los quesos, para observar la diferencia.

8
 9



10

11 Figura 10. Presencia de las BAL en muestras de queso panela y Oaxaca. ^{a-e} Las
 12 letras superíndices diferentes arriba de las barras indican diferencias significativas
 13 ($p < 0.05$) entre las muestras. (C0p) concentración 0 panela, (C1p) Concentración 1
 14 panela, (C2p) Concentración 2 panela, (C3p) Concentración 3 panela, (C0o)
 15 concentración 0 Oaxaca, (C1o) Concentración 1 Oaxaca, (C2o) Concentración 2
 16 Oaxaca, (C3o) Concentración 3 Oaxaca.

17

6.3.4 Levaduras

18 Las levaduras producen el deterioro en quesos, causando sabor mohoso,
 19 transformaciones en la textura, cambios en el color e hinchazón en los quesos,
 20 debido a la elevada formación de gas (Castro-Castillo et al., 2013). En la prueba

1 microbiológica para levaduras de este estudio, no se detectó la presencia de estos
2 microorganismos, en todas las muestras, incluyendo el queso control, lo que resulta
3 beneficioso para el producto y el consumidor. A diferencia de otros estudios,
4 González-Montiel y Franco Fernández, (2015), encontraron en queso fresco de aro
5 un promedio de 4.21 log UFC/g, y en quesos panela y Oaxaca comercializados en el
6 valle de Tulancingo rangos de 3.6-5.5 log UFC/g (Palacios-Vargas, 2006).

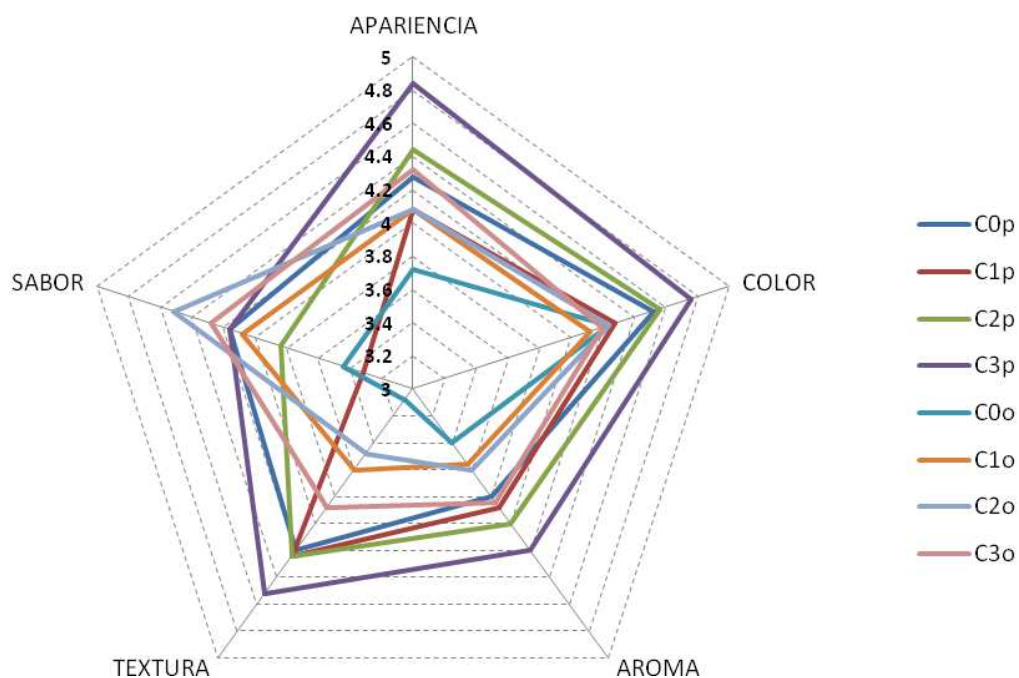
7

8 **6.4 Evaluación sensorial de quesos**

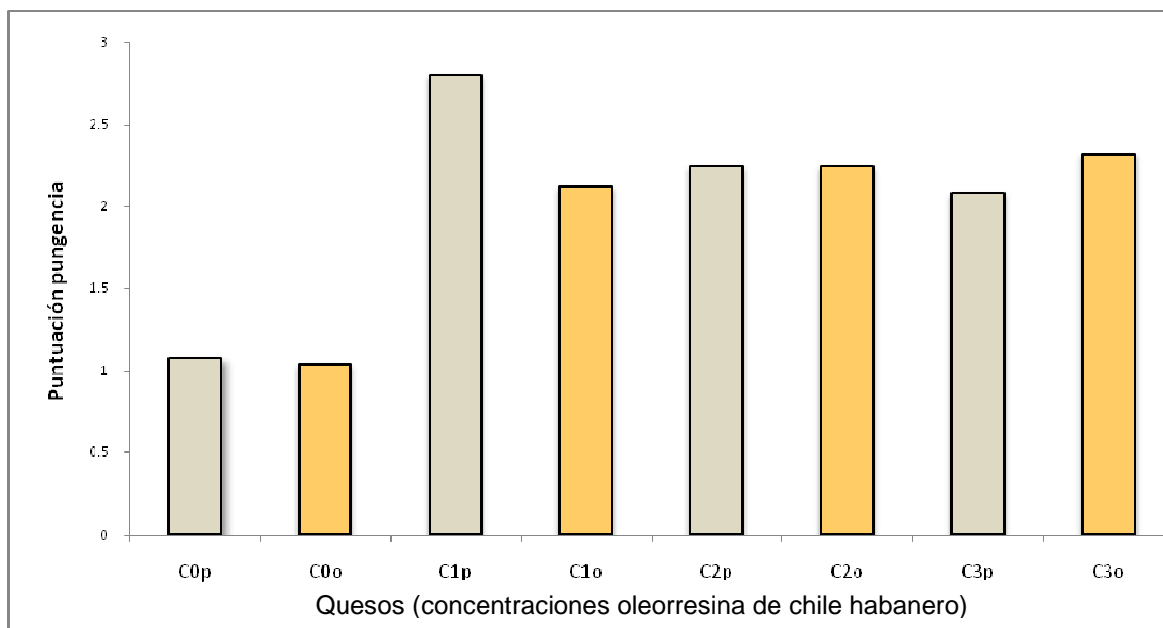
9 **6.4.1 Evaluación sensorial de los quesos frescos adicionados con** 10 **oleorresina de chile habanero.**

11 El análisis sensorial es un método empleado para evaluar la aceptación de los
12 alimentos, y es muy importante ya que le permite al encargado de producción y
13 estandarización de procesos, realizar cambios pertinentes para hacer al alimento
14 competitivo en el mercado (Hernández, 2005). En la figura 11 se muestran los
15 resultados de la evaluación sensorial de los quesos frescos control y los adicionados
16 con OCH. En todos los quesos, de acuerdo a los atributos evaluados, la apariencia y
17 el color fueron las dos características que obtuvieron puntuaciones más altas,
18 mientras, que el aroma, fue el atributo con menor puntuación. En general las
19 muestras de queso panela tuvieron una mejor calificación en comparación con los
20 quesos Oaxaca. La muestra C3 de queso panela presentó los mayores valores en
21 todos los parámetros, excepto por sabor, donde el C2 de queso Oaxaca, mostró el
22 puntaje más alto. En la figura 12, se muestran los resultados de la evaluación de
23 pungencia, donde se aprecia que la muestra C1 de queso panela fue la que obtuvo el
24 mayor puntaje (2.8), seguida de C3 de Oaxaca (2.32), ubicando a ambos quesos
25 como ligeramente picante, cabe resaltar que la C3 de Oaxaca, fue la que contenía la
26 menor concentración de CAP, esta percepción obtenida en el queso podría estar
27 relacionado con la concentración de la salmuera, ya que la que tenía la mayor
28 concentración de CAP no tuvo una buena disolución de la OCH obteniendo una

1 precipitación en el fondo, por lo que la absorción de CAP fue menor, un
 2 comportamiento parecido se reportó en un queso Ragusano realizado en Italia, en
 3 donde observaron una precipitación cuando la concentración de sal aumentó en sus
 4 salmueras, no permitiendo su absorción en la matriz del queso (Melilli et al., 2003).
 5 Los quesos contenían 420 uS, 840 uS y 1260 uS (C1, C2 y C3 respectivamente) que
 6 al compararlos con la escala scoville son menos pungentes que el chile jalapeño
 7 (Restrepo, 2006)



8
 9 Figura 11. Evaluación sensorial de quesos frescos adicionados con oleorresina de
 10 chile habanero. (C0p) concentración 0 panela, (C1p) Concentración 1 panela, (C2p)
 11 Concentración 2 panela, (C3p) Concentración 3 panela, (C0o) concentración 0
 12 Oaxaca, (C1o) Concentración 1 Oaxaca, (C2o) Concentración 2 Oaxaca, (C3o)
 13 Concentración 3 Oaxaca
 14 .



1
2
3
4
5
6
7
8
9

Figura 12. Pungencia de quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero. (C0P) concentración 0 panela, (C0p) concentración 0 panela, (C1p) Concentración 1 panela, (C2p) Concentración 2 panela, (C3p) Concentración 3 panela, (C0o) concentración 0 Oaxaca, (C1o) Concentración 1 Oaxaca, (C2o) Concentración 2 Oaxaca, (C3o) Concentración 3 Oaxaca.

10

6.4.2 Frecuencia de consumo de chile.

11 Además de la evaluación sensorial, también se aplicó un cuestionario de frecuencia
12 de consumo de chile, con la finalidad de conocer la aceptación que podría llegar a
13 tener el queso con el sabor pungente característico de los capsaicinoides en el
14 mercado. En general el consumo de chile es frecuente como se puede apreciar en la
15 tabla 7, ya que el 82% de la población evaluada respondió que lo consumen de 1 a 3
16 veces al día, el 38% consideran que ingieren una cantidad moderada de chile;
17 aunado a esto, la población contestó mayoritariamente que consumen más de dos
18 cucharaditas de chile (42%), lo hacen fuera de casa (40%), optan por chile de
19 procedencia comercial (64%) y prefieren el chile moderadamente picante (42%).
20 Estos resultados coinciden con los obtenidos con la evaluación de la pungencia, ya
21 que, debido al frecuente consumo de chile, la concentración más alta de CAP en los

1 quesos fue considerada como ligeramente picante. En un estudio realizado por Ángel
 2 y Fajardo (2005) con el mismo cuestionario aplicado en población colombiana,
 3 obtuvieron como resultados que la población prefiere una preparación casera y
 4 moderadamente picante. Las características de los potenciales consumidores antes
 5 descritas, sugieren que los productos con nota pungente, son bien aceptados y
 6 competitivos en el mercado, considerando que el producto también tendrá un valor
 7 agregado como el control de la dosis con la que se han reportado efectos benéficos
 8 como la oxidación de grasas en un balance energético negativo, sin aumentar la
 9 presión sanguínea en pacientes con obesidad (Janssens et al., 2013).

10 Tabla 7. Frecuencia de consumo de chile en población evaluada

PREGUNTA/OPCIONES	Nº	%
¿Cuántas veces consume chile?		
1-3 veces en el día	41	82
4-6 veces en el día	9	18
¿Cómo considera la cantidad de chile que consume?		
Poca	16	32
Moderada	19	38
Bastante	15	30
Describa la cantidad de chile que consume:		
Gotas	14	28
1 cucharadita	8	16
2 cucharaditas	7	14
Más de dos cucharaditas	21	42
¿Dónde consume el chile que usted come?		
Restaurante	11	22
Cafetería	10	20
Casa	9	18
Otra	20	40

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29

6.5 Contenido fenólico total y actividad antioxidante en quesos

6.5.1 Contenido fenólico total en queso frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.

Para el análisis del CFT se obtuvieron dos extracciones, etanólica y acuosa (Tabla 8), con la finalidad de evaluar los fenoles contenidos en la oleorresina de chile habanero, así como los fenoles en los péptidos del queso. Comparando las muestras por día de almacenamiento en la extracción acuosa, en el día 1 todos los quesos Oaxaca no tuvieron diferencias significativas entre ellos, presentando valores entre 153.2-161.05 mgEAG/100g, y fueron mayores ($p<0.05$) en comparación con los panela, mientras que en el día 7, los quesos Oaxaca adicionados con oleorresina de chile habanero, mostraron alto contenido de fenoles respecto al resto de las muestras, y en el último día de almacenamiento, las muestras de Oaxaca C2 y C3, fueron los más altos ($p<0.05$).

En cuanto a la extracción etanólica, en el día 1 las muestras C2 de Oaxaca y C3 de panela tuvieron los valores significativamente mayores, excepto por el queso C1 de panela, mientras que para el día 7 y 15, la muestra C2 de panela arrojó los valores más altos ($p<0.05$). Se puede apreciar que la muestra control de Oaxaca, en el día 1, presentó valores ligeramente mayores a los adicionados con la oleorresina de chile habanero, excepto por C2. Esto podría estar relacionado al mayor contenido de BAL que mostró la muestra control como se ilustra en la figura 11 ya que se ha demostrado que las BAL en el queso pueden provocar la liberación de compuestos fenólicos de la red proteica del queso (Ha y Lindsay, 1991; Singh et al. 1997), por otro lado, el ligero incremento en los quesos adicionados con la oleorresina, como se mencionó anteriormente a la CAP se le confiere actividad antimicrobiana. En queso yemení, reportaron concentraciones iniciales de 20.97 - 59.86 mgEAG/100g, en una extracción acuosa (Shaiban et al., 2006) muy similares a los obtenidos en queso

1 panela en la presente investigación en el día 1. Mientras que Hala et al., (2010) en
2 queso bajo en grasa adicionado con extracto de romero, mostrando concentraciones
3 de 200 - 229 mg EAG/100g en extracciones acuosas cercanos a las arrojadas por el
4 queso Oaxaca, en el día 1. Resultados diferentes fueron encontrados en un estudio
5 realizado por Gonçalves et al., (2017), donde realizaron extracción acuosa y
6 extracción metanólica en quesos adicionados con frutos rojos, informaron valores
7 mayores en las extracciones metanólicas, e indican que la eficacia de la extracción
8 depende de la afinidad de sus componentes con el disolvente. En el presente
9 proyecto se puede observar que los componentes en los quesos adicionados con
10 oleorresina de chile habanero fueron más afines en la extracción acuosa.

11

12 Durante el almacenamiento, comparando la misma muestra a través de sus días, en
13 la extracción acuosa los quesos panela adicionados fueron aumentando
14 significativamente durante sus días de almacenamiento, y las muestras de queso
15 Oaxaca adicionados se caracterizaron por mantener sus valores estables los días 1 y
16 7 de almacenamiento ($p>0.05$) y significativamente mayores al día 15.

17

18 Por otro lado, para la extracción etanólica todas las muestras presentaron una
19 disminución en el día 15, excepto por el C0 de panela y C1 de Oaxaca. Rashidinejad
20 et al. (2015) estudiaron quesos adicionados con catequina, mostraron durante el
21 almacenamiento resultados muy similares a esta investigación. La disminución del
22 CFT en el almacenamiento de los quesos, se atribuye a la actividad enzimática y
23 química, donde se puede provocar oxidación de los compuestos fenólicos y que tiene
24 lugar durante el almacenamiento de los alimentos (Poncet-Legendre et al., 2006).

1

2

3

Tabla 8. Contenido de fenoles totales en quesos frescos adicionados con oleorresina de chile habanero durante su almacenamiento.

Día		Muestras							
		Panela				Oaxaca			
		C0	C1	C2	C3	C0	C1	C2	C3
CFT Agua	1	23.05±0.14 ^{cz}	42.76±1.61 ^{cy}	26.85±0.50 ^{cz}	25.54±1.52 ^{cz}	157.13±1.74 ^{ax}	158.19±3.02 ^{ax}	161.05±5.03 ^{ax}	153.62±4.30 ^{ax}
	7	40.76±1.92 ^{az}	51.29±1.42 ^{bz}	43.21±0.65 ^{bz}	51.29±1.42 ^{bz}	128.27±2.43 ^{by}	159.21±7.93 ^{ax}	159.91±6.26 ^{ax}	164.89±7.97 ^{ax}
	15	36.07±0.78 ^{bz}	63.21±0.55 ^{ax}	52.60±0.51 ^{ay}	67.70±2.76 ^{ax}	94.03±0.35 ^{cw}	94.35±2.09 ^{bw}	126.72±8.39 ^{bv}	125.17±1.03 ^{bv}
CFT Etanol	1	24.93±1.00 ^{aby}	29.46±0.5 ^{cwv}	26.76±1.10 ^{cyx}	30.03±0.38 ^{cv}	22.28 ± 0.32 ^{bz}	27.42±0.56 ^{bxw}	31.34 ± 1.39 ^{cv}	26.07±0.44 ^{cyx}
	7	23.66±0.87 ^{bz}	47.01±2.23 ^{av}	59.46±1.41 ^{at}	54.72±1.28 ^{au}	36.44 ± 0.92 ^{ax}	32.11±0.51 ^{aby}	44.19±0.86 ^{awv}	43.09±0.64 ^{aw}
	15	26.03±0.19 ^{az}	39.95±1.07 ^{bx}	51.09±1.77 ^{bv}	45.25±1.14 ^{bw}	22.71 ± 0.43 ^{bz}	33.74±3.33 ^{ay}	35.5±0.14 ^{by}	35.25±0.01 ^{by}

4

Las letras superíndices diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$): ^{a-c} en una misma muestra durante los días de almacenamiento; ^{v-z} entre las muestras por día. CFT: contenido de fenoles totales. Los resultados se presentan en miligramos equivalentes de ácido gálico por cada 100 g.

7

1 **6.5.2 Actividad antioxidante medida por ABTS en quesos frescos**
2 **adicionados con oleoresina de chile habanero**

3 Los resultados de ABTS se observan en la tabla 9, comparando todas las muestras
4 por cada día de almacenamiento en relación a la extracción acuosa, en el día 1 y 15,
5 la muestra C0 de Oaxaca fue la que tuvo el valor más alto significativamente con
6 respecto al resto de las muestras, sin embargo, para el día 7, la muestras C0 y C3 de
7 Oaxaca arrojaron los valores mayores ($p<0.05$). Por otra parte, en la extracción
8 etanólica, en el día 1, la muestra C0 y C1 de panela presentaron los valores
9 significativamente mayores en comparación con el resto de las muestras, mientras
10 que el día 7 y 15 el C3 de panela tuvieron cantidades más altas ($p<0.05$) al
11 relacionarlo con el resto de las muestras.

12
13 En un estudio se analizó un queso tipo Oaxaca adicionado con un microencapsulado
14 de xoconostle, realizaron una extracción acuosa en la cual muestran valores de 15 -
15 29 mg ET/100g queso (Cenobio-Galindo et al., 2017), parecidos a los encontrados en
16 esta investigación en los quesos panela.

17
18 Durante el almacenamiento, analizando cada muestra a través de sus días de
19 almacenamiento, en la extracción acuosa todas las muestras de queso panela y
20 Oaxaca C0 se comportaron de la misma forma, observándose un aumento
21 significativo para el día 15 de almacenamiento, por el contrario, las muestras de
22 queso Oaxaca adicionadas, obtuvieron valores mayores significativamente en el día
23 1 respecto al resto de sus días de almacenamiento. En los extractos etanólicos, el C2
24 y C3 de panela y el C0 y C2 de Oaxaca aumentaron significativamente para el día 7,
25 por otro lado las muestras de Oaxaca C1 y C3 no presentaron cambios en durante su
26 almacenamiento.

27
28 Se han encontrado que en estudios durante el almacenamiento en quesos crema de
29 Chiapas (Aguilar, 2014), queso Cerrillano (Meira et al., 2012), y Cheddar (Gupta et
30 al., 2009), se ve incrementada la actividad antioxidante medida por ABTS, este

1 fenómeno puede ser atribuido a la formación de péptidos y aminoácidos
2 antioxidantes en los quesos durante su periodo de almacenamiento, provocados por
3 hidrólisis de proteinasas y peptidasas bacterianas o propias de la matriz alimentaria
4 (Gupta et al., 2009; Aguilar, 2014), como se observó en algunas de las muestras del
5 presente trabajo.

6
7 Además, en quesos adicionados con microencapsulado de xoconostle, observaron
8 disminución en su actividad antioxidante con el paso del tiempo (Cenobio-Galindo et
9 al., 2017), en contraste con las muestras de este estudio que se mantuvieron, e
10 incluso, mejoraron su actividad antioxidante, por lo que se podría decir que además
11 de la formación de péptidos antes mencionados, también la oleoresina de chile
12 habanero pudo contribuir a este comportamiento.

13
14 Por último comparando las dos extracciones, las extracciones acuosas obtuvieron
15 valores mayores, es decir, que para medir actividad antioxidante por ABTS, resulta
16 ser más efectiva la extracción acuosa en estas muestras.

1

2

3 Tabla 9. Capacidad antioxidante por ABTS en quesos adicionados con oleoresina de chile habanero durante su
4 almacenamiento.

		Muestras							
		Panela				Oaxaca			
Día		C0	C1	C2	C3	C0	C1	C2	C3
ABTS Agua	1	8.96±0.17 ^{by}	14.29±0.8 ^{cx}	6.51±0.31 ^{cz}	9.02±0.21 ^{cy}	45.56 ± 0.22 ^{bv}	40.16±0.14 ^{aw}	41.27±0.03 ^{aw}	40.22 ± 0.74 ^{aw}
	7	7.49±0.27 ^{cz}	16.11±0.18 ^{bx}	19.58±0.12 ^{bw}	15.36±0.20 ^{by}	39.05 ± 0.29 ^{ct}	37.16±0.28 ^{cu}	36.12±0.46 ^{bv}	39.07 ± 0.17 ^{at}
	15	11.20±0.68 ^{az}	19.85±0.48 ^{ax}	27.27±0.14 ^{aw}	17.51±0.07 ^{ay}	47.25 ± 0.09 ^{at}	38.29± 0.10 ^{bu}	35.16±0.65 ^{bv}	34.80 ± 0.50 ^{bv}
ABTS Etanol	1	23.60±0.6 ^{au}	25.58 ± 1.4 ^{au}	16.07±0.41 ^{bwv}	17.58±0.31 ^{cv}	11.78 ± 0.28 ^{bxw}	9.89 ± 0.6 ^{ayx}	8.14 ± 0.6 ^{bzy}	5.58 ± 1.71 ^{az}
	7	16.02±0.34 ^{bxw}	19.54±0.25 ^{bwv}	21.96±0.38 ^{av}	29.72 ± 0.5 ^{au}	15.00 ± .31 ^{ayx}	9.49 ±1.34 ^{azy}	14.71 ± 0.57 ^{ax}	5.47 ± 0.14 ^{az}
	15	14.25±1.31 ^{bx}	17.40±0.22 ^{cw}	9.09±1.06 ^{cy}	22.33±0.17 ^{bv}	7.55 ± 0.05 ^{czy}	8.02 ± 1.17 ^{ay}	7.00 ± 0.14 ^{bzy}	5.78 ± 0.77 ^{az}

5 Las letras superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$): ^{a-c} en una misma concentración durante los días de almacenamiento; ^{t-z} entre
6 las concentraciones durante un mismo día. ABTS: prueba de capacidad antioxidante por ABTS. Los resultados se presentan en microgramos
7 equivalentes de trolox por cada 100 g de queso.

8

9

1 **6.5.3 Capacidad antioxidante por DPPH en quesos adicionados con**
2 **oleorresina de chile habanero**

3 La tabla 10 muestra los resultados obtenidos de la actividad antioxidante por DPPH
4 en las extracciones acuosa y etanólica de los quesos control y adicionados.
5 Comparando todas las muestras por día de almacenamiento, en el día 1 y 7, en la
6 extracción etanólica, no se encontraron diferencias entre todas las muestra, mientras
7 que en el día 15 todas las muestras fueron similares e excepción de C0 de panela
8 que fue mayor ($p<0.05$). Para la extracción acuosa, en el día 1 y 7 todas las muestras
9 de panela y C3 de Oaxaca fueron mayores significativamente y sin diferencias entre
10 ellas, para el día 15, en panela C1, C2 y C3 no se observaron diferencias
11 significativas entre ellos y fueron mayores ($p<0.05$), excepto por Panela C0 y C0 , C1
12 de Oaxaca.

13
14 Es importante resaltar que dentro de las mediciones para actividad antioxidante, esta
15 fue la que arrojó valores más altos. Durante el almacenamiento en la extracción
16 acuosa, la mayoría de las muestras se comportaron de manera distinta, Oaxaca C2,
17 fue la única muestra que permaneció sin cambios, el C0 de panela y el C3 de
18 Oaxaca disminuyeron su actividad antioxidante al día 15, y el resto de las muestras
19 tuvo un aumento en este día.

20
21 Por otro lado, en la extracción etanólica la mayoría de los quesos adicionados
22 mantuvieron su actividad antioxidante sin cambios durante el almacenamiento
23 (Panela C1, C2, Oaxaca C0, C2 y C3), y el resto de las muestras (Panela C0, C3 y
24 Oaxaca C1) presentaron valores mayores significativamente en el día 1 durante su
25 almacenamiento. Respecto a las muestras que aumentaron su concentración en el
26 almacenamiento Gupta et al., 2009 y Rashidinejad et al., (2013) reportan resultados
27 similares, mostrando un aumento en su capacidad antioxidante para el día 15
28 durante el almacenamiento y lo relacionan directamente con la proteólisis de los
29 quesos, que da como resultado los aminoácidos responsables de este aumento.

1 Mushtaq et al., (2015) estudiaron la actividad antioxidante de queso Kalari durante
2 su almacenamiento a temperaturas diferentes, ambiente, refrigeración y congelación,
3 no presentando cambios en la actividad antioxidante durante el almacenamiento en
4 las muestras almacenadas en refrigeración, manifestando que las enzimas se
5 mantienen con menor actividad a temperaturas de refrigeración, lo que podría
6 explicar la estabilidad de las muestra.

1

2

3 Tabla 10. Capacidad antioxidante por DPPH en quesos adicionados con oleoresina de chile habanero durante su
4 almacenamiento.

Día	Muestras								
	Panela				Oaxaca				
	C0	C1	C2	C3	C0	C1	C2	C3	
DPPH Agua	1	1564.57±30.78 ^{ax}	1517.57±33.25 ^{ax}	1415.14±32.00 ^{bx}	1512.14±26.69 ^{ax}	923.57±28.13 ^{by}	887.43±67.53 ^{by}	1001.72±210.08 ^{ay}	1602.00±127.81 ^{ax}
	7	1346.43±29.73 ^{bx}	1325.28±49.67 ^{byx}	1527.43±14.62 ^{ax}	1388.29±44.05 ^{bx}	1013.57±29.69 ^{abzy}	833.86±91.69 ^{bz}	966.43±287.64 ^{az}	1621.57±83.08 ^{ax}
	15	1404.71±34.89 ^{byx}	1446.00±22.53 ^{ax}	1526.86±24.14 ^{ax}	1482.14±23.63 ^{az}	1193.79±106.98 ^{ayx}	1278.43±85.37 ^{ayx}	1178.86±30.14 ^{ay}	814.28±127.90 ^{bx}
DPPH Etanol	1	1639.72±26.08 ^{abx}	1604.00±34.36 ^{ax}	1624.15 ± 5.44 ^{ax}	1602.43±21.24 ^{ax}	1639.72±26.08 ^{ax}	1656.14±15.62 ^{ax}	1650.29±59.98 ^{ax}	1634.43±50.30 ^{ax}
	7	1614.28±46.02 ^{bx}	1626.71±30.05 ^{ax}	1611.43±41.67 ^{ax}	1532.14±11.24 ^{bx}	1614.28±46.02 ^{ax}	1626.71±30.05 ^{ax}	1616.86±7.04 ^{ax}	1624.43±27.45 ^{ax}
	15	1712.28±14.36 ^{ax}	1599.86±14.51 ^{ayx}	1627.86±75.77 ^{ayx}	1571.00±40.18 ^{aby}	1570.72±11.52 ^{ay}	1621.72±44.93 ^{ayx}	1628.00±37.77 ^{ayx}	1629.29±34.69 ^{ayx}

5 Las letras superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$):^{a-c} en una misma concentración durante los días de almacenamiento. ^{t-z} entre las
6 concentraciones durante un mismo día. DPPH: Prueba de capacidad antioxidante por DPPH. Los resultados se presentan en microgramos
7 equivalentes de trolox por cada 100 g de queso.

1

2 **6.6 Calidad de quesos**

3

4 **6.6.1 pH y acidez titulable en quesos frescos adicionados con oleorresina** 5 **de chile habanero durante su almacenamiento.**

6 El pH en los alimentos es un predictor del sabor ácido, y la acidez titulable mide la
7 concentración total de ácido en los alimentos (Sadler y Murphy, 2010). Los
8 resultados obtenidos de estos dos parámetros están representados en la tabla 11. El
9 rango de pH fue de 5.13 a 6.80, comparando todas las muestras por día, los quesos
10 panelas no se observaron diferencias significativas entre ellos y se caracterizaron por
11 ser los mayores significativamente en relación a los quesos Oaxaca en el día 1. En
12 los días 7 y 15, el control de panela (C0) tuvo los valores más altos ($p < 0.05$),
13 respecto al resto de las muestras, excepto por C2 y C3 de panela en el día 15.

14

15 Para AT, los valores fueron de 0.02 a 0.1%, en el día 1, panela C1 mostró los valores
16 menores ($p < 0.05$), excepto por panela C2 y C3, caso contrario a pH, todas las
17 muestras de Oaxaca presentaron valores mayores ($p < 0.05$) en este día, mientras
18 que en el día 7, los quesos Oaxaca no se encuentran diferencias significativas entre
19 ellos, y fueron mayores ($p < 0.05$) comparados con los quesos panela. Por último en el
20 día 15, C2 de Oaxaca mostró el valor superior ($p < 0.05$), comparándolo con las
21 demás muestras, excepto por Oaxaca C0, C1 y C3. Los valores de acidez titulable
22 bajos en los quesos Oaxaca, se esperaban ya que para el proceso de elaboración de
23 este queso se acidifica la leche y por ende ocurren estos cambios. Ramírez-López et
24 al., (2012), reportaron resultados similares en pH de 5.0 y 6.4, en quesos Oaxaca y
25 panela respectivamente en el día 1, también analizaron un queso adicionado con
26 chile chipotle enlatado arrojaron valores de 4.5 en el día 1 y 4.7 en el día 7 de
27 almacenamiento y otro con chile cuaresmeño y epazote mostrando en el día 1, 4.3 y
28 para el día 7, 4.5 (Escobar-López et al., 2017), valores que fueron más bajos en
29 relación con las muestras de esta investigación, las diferencias se deben a los

1 componentes adicionados. Cabe resaltar que a pesar de la adición de OCH a los
2 quesos en este estudio, los valores de pH en los quesos no se modificaron. Por otra
3 parte Romero-Castillo et al., (2009), reportaron porcentajes de acidez titulable (0.2 -
4 0.6%) en queso fresco comercializado en Chiapas parecidos a los realizados en este
5 estudio, las diferencias en este parámetro son causadas por la variabilidad en la
6 materia prima de las muestras diferentes (Benedetti et al., 2005).

7
8 Al analizar el comportamiento en pH de cada muestra durante sus días de
9 almacenamiento, en el queso panela C0, C3 y Oaxaca C2 y C3 mantuvieron sus
10 valores estables ($p < 0.05$), en el día 7 se observó una disminución en panela C1 y C2,
11 mientras que en el Oaxaca C0 aumentó. Para AT los quesos Oaxaca C0, C2, C3 y
12 panela C2, no mostraron cambios durante su almacenamiento, y en las muestras de
13 Oaxaca C1 y panela C0 disminuyeron los valores a partir del día 7. La estabilidad en
14 pH durante el almacenamiento en queso ya ha sido previamente analizada, ya que
15 en un estudio de queso mozzarella bajo en grasa, mencionan que la estabilidad de
16 las muestras se debe al nivel de calcio, ya que presenta capacidad amortiguadora
17 (Metzger et al., 2001), así como también la estabilidad puede estar atribuida por la
18 temperatura de almacenamiento en refrigeración, lo que causa un lento crecimiento
19 de los microorganismos presentes en el queso (Kindstedt et al., 1995). Con respecto
20 a la estabilidad de AT también se ha reportado que se atribuye a la temperatura de
21 refrigeración, ya que estudios realizados por Benedetti et al., (2005) y Roy et al.,
22 (1997) observaron este comportamiento en queso maduro almacenado durante 20
23 días y queso fresco durante 45 días, respectivamente, ambos almacenados a 4°C.
24 Sin embargo la estabilidad de los quesos estudiados en el presente trabajo, también
25 se pudieran atribuir a la adición de OCH, por lo que se sugiere que en futuros
26 proyectos se realicen pruebas que verifiquen si la OCH contribuye a la estabilidad de
27 estos parámetros.

28

1

2 Tabla 11. pH y acidez titulable en quesos frescos adicionados con oleorresina de
 3 chile habanero durante su almacenamiento.

Muestra		Día	pH	AT %
Panela	C0	1	6.77±0.0 ^{ax}	0.06±0.02 ^{ayxw}
		7	6.81±0.0 ^{av}	0.03±0.01 ^{by}
		15	6.80±0.0 ^{aw}	0.02±0.01 ^{bz}
	C1	1	6.75±0.0 ^{ax}	0.03±0.01 ^{bz}
		7	6.49±0.0 ^{bx}	0.02±0.01 ^{by}
		15	6.49±0.0 ^{bx}	0.06±0.01 ^{ax}
	C2	1	6.72±0.0 ^{bx}	0.04±0.01 ^{azy}
		7	6.67±0.0 ^{bw}	0.02±0.01 ^{ay}
		15	6.67±0.0 ^{axw}	0.04±0.01 ^{ay}
	C3	1	6.68±0.0 ^{ax}	0.05±0.01 ^{azyx}
		7	6.69±0.0 ^{aw}	0.02±0.00 ^{cy}
		15	6.69±0.0 ^{axw}	0.03±0.00 ^{bzy}
Oaxaca	C0	1	5.13±0.1 ^{by}	0.08±0.01 ^{axw}
		7	5.40±0.0 ^{ay}	0.08±0.01 ^{ax}
		15	5.40±0.0 ^{ay}	0.08±0.01 ^{aw}
	C1	1	5.27±0.1 ^{aby}	0.1±0.01 ^{aww}
		7	5.33±0.1 ^{ay}	0.10±0.01 ^{ax}
		15	5.17±0.1 ^{bz}	0.07±0.01 ^{bxw}
	C2	1	5.20±0.1 ^{ay}	0.10±0.01 ^{av}
		7	5.20±0.0 ^{az}	0.10±0.01 ^{ax}
		15	5.23±0.1 ^{azy}	0.08±0.01 ^{aw}
	C3	1	5.13±0.1 ^{ay}	0.08±0.01 ^{aww}
		7	5.33±0.0 ^{ay}	0.08±0.01 ^{ax}
		15	5.30±0.2 ^{azy}	0.07±0.01 ^{azy}

4 Las letras superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$). ^{a-c} en una misma concentración
 5 durante los días de almacenamiento, ^{y-z} entre las concentraciones durante un mismo día. AT: Acidez
 6 titulable

1 **6.6.2 Sinéresis.**

2 La cantidad de agua que sale de la red proteica de los quesos, ya sea en el proceso
3 de elaboración o por almacenamiento, se le llama sinéresis, la cual se ve aumentada
4 en los quesos frescos debido a su alto contenido de humedad (Pearse y Mackinlay,
5 1989) y este análisis es un parámetro de calidad en el almacenamiento de los
6 quesos. En la tabla 12 se pueden observar las pérdidas de peso en los quesos por la
7 sinéresis, comparando las muestras por día de almacenamiento, en el día 1, el queso
8 C3 panela tuvo una menor sinéresis significativamente respecto al resto de los
9 quesos, excepto por las muestras de panela C1 y C2. En el día 7, el C0, C2 y C3 de
10 panela, el C0 y C3 de Oaxaca presentaron los valores menores ($p<0.05$), mientras
11 que en el día 15, el C1 de Oaxaca, arrojó los valores más bajos, excepto por el C2 de
12 Oaxaca.

13

14 En este trabajo, estos valores estuvieron por debajo de lo reportado por Antezana,
15 (2015) en un queso fresco semigraso, obteniendo en el día 7 el rango fue de 3-1% y
16 para el día 14 4.7-12%. En otro estudio, al final de los 15 días de almacenamiento,
17 obtuvieron 9.28-16.04% en un queso panela adicionado con estabilizantes (Ochoa-
18 Flores et al., 2013), valores altos con respecto a lo obtenido en el presente estudio.
19 Estos altos valores de sinéresis pueden ser atribuidos al alto contenido graso de los
20 quesos, ya que se ha observado que un bajo porcentaje, se generan quesos duros y
21 rígidos con menor sinéresis (Chacón y Pineda, 2009) y en los estudios mencionados
22 anteriormente los porcentajes de grasa se encontraron entre el 30 y 36%, mientras
23 que en las presentes muestras el contenido graso fue menor (4.50-6.52%). Durante
24 el periodo de almacenamiento de cada muestra, todos los quesos tuvieron aumento
25 en la sinéresis conforme avanzaban los días, mostrando una pérdida progresiva
26 mayor en el día 15, excepto por C1 y C2 de Oaxaca. Ochoa-Flores et al., (2013) y
27 Kaitanli et al. (1994) encontraron resultados muy similares ya que observaron que a
28 medida que el tiempo avanza la cantidad de suero liberada es mayor, indicando que
29 su comportamiento es lineal.

30

1
2
3

4 Tabla 12. Pérdida de peso por sinéresis en quesos adicionados con oleorresina de chile habanero.

Día	Muestras							
	Panela				Oaxaca			
	C0	C1	C2	C3	C0	C1	C2	C3
1	0.31±0.06 ^{by}	0.27±0.05 ^{bzy}	0.26±0.02 ^{bzy}	0.17±0.03 ^{cz}	0.47±0.02 ^{bxw}	0.44±0.01 ^{bx}	0.57±0.03 ^{ayw}	0.44±0.05 ^{bx}
7	0.31±0.03 ^{by}	0.33±0.05 ^{byx}	0.38±0.07 ^{by}	0.27±0.03 ^{by}	0.34±0.02 ^{cy}	0.58±0.03 ^{ax}	0.53±0.04 ^{ax}	0.34±0.01 ^{by}
15	0.60±0.06 ^{auv}	0.94±0.04 ^{avu}	1.15±0.17 ^{au}	0.50±0.04 ^{ayx}	0.65±0.03 ^{axw}	0.24±0.01 ^{cz}	0.41±0.06 ^{bzy}	0.84±0.05 ^{awv}

5

6 Las letras superíndices indican diferencias significativas ($p < 0.05$). ^{a-c} en una misma concentración durante los días de almacenamiento, ^{w-z} entre
7 las concentraciones durante un mismo día. Los resultados se muestran en porcentaje.

1 7. Conclusiones

- 2 • La oleoresina de chile habanero presenta alto contenido de capsaicina (14.37
3 mg/g OCH) y dihidrocapsaicina (10.49 mg/g OCH), durante su
4 almacenamiento ambos capsaicinoides son estables a 4°C hasta el día 35, sin
5 embargo para el día 45 CAP disminuye significativamente. El contenido
6 fenólico total en la oleoresina de chila habanero, se mantiene estable hasta el
7 día 45, su actividad antioxidante por DPPH se mantiene estable hasta el día
8 35, y para DPPH únicamente hasta el día 15.
9
- 10 • Los quesos Oaxaca presentan los valores menores de humedad y los
11 mayores en proteína y grasa, mientras que en carbohidratos y cenizas no
12 existe diferencias significativas entre las muestras, respecto a la carga
13 microbiana inicial, las muestras de queso Oaxaca arrojan menores valores de
14 coliformes totales (3.36 – 3.44 Log UFC/g) por debajo de los límites
15 normativos, en lo que respecta a BAL, las muestras de queso panela tienen
16 los valores más altos (4.68 - 4.71 Log UFC/g)
17
- 18 • Durante la evaluación sensorial, las muestras de queso panela reciben mejor
19 puntuación comparadas con los quesos Oaxaca, de acuerdo a la frecuencia
20 de consumo, sugiere que los productos con nota pungente son bien aceptados
21 y competitivos en el mercado
- 22 • El rango de pH en las muestras fue de 5.13 a 6.80, y de acidez titulable de
23 0.02 a 0.1% y en la mayoría se observa estabilidad, en los 15 días que se
24 almacenó, en cuanto a la pérdida de peso por sinéresis se encuentra una
25 relación lineal entre el tiempo y la pérdida de suero, sin embargo la pérdida es
26 baja, lo que ayuda a mantener el queso en buenas condiciones durante el
27 almacenamiento.
28 •

- 1 • Respecto al contenido fenólico total, la extracción acuosa presenta los
2 mayores valores, aumentando en el almacenamiento en las muestras,
3 mientras que en la extracción etanólica disminuyen al paso del tiempo. En la
4 actividad antioxidante por ABTS, las muestras de panela aumentan su
5 actividad durante los días de almacenamiento en ambas extracciones, por otro
6 lado algunos de los quesos Oaxaca se mantienen estables. Para la actividad
7 antioxidante por DPPH, las muestras se comportan de manera distinta en el
8 almacenamiento, predominando la estabilidad en la mayoría de las muestras
9 en la extracción etanólica.
- 10 • Por lo anterior la adición de la oleoresina a los quesos frescos, sugiere ser
11 una buena opción para el consumidor en general, ya que su contenido de
12 grasa es bajo y además tiene otros compuestos de interés como lo son los
13 compuestos fenólicos, así como también podría ser una alternativa para
14 emplearlo como coadyuvante en el tratamiento de la obesidad.
15

1 **8. Recomendaciones**

2

3

- Para la continuación de este proyecto, es recomendable realizar una adecuada selección de chile habanero, que incluya coloración anaranjada para asegurar que la cantidad de capsaicinoides sea elevada.

5

6

7

- Desarrollar la técnica de extracción para medir la cantidad de capsaicinoides en los quesos por HPLC, además de realizar esta misma medición en las salmueras antes y después de la inmersión en el queso para verificar la absorción de capsaicinoides en los quesos.

10

11

12

- Realizar análisis microbiológico durante el almacenamiento de los quesos, para ver la interacción que tiene la adición de la OCH en los microorganismos.

13

14

15

- Evaluación de la biodisponibilidad de la CAP.

16

9. Referencias.

- 1 Acofarma. (2006) Molécula de capsaicina. Ficha de datos de seguridad: 1907.
- 2 Amruthraj, N. J. Preetam Raj, J. P. y Antoine Lebel, L. (2014). Impact of organic
3 solvents in the extraction efficiency of therapeutic analogue capsaicin from
4 *Capsicum chinense* Bhut jolokia fruits. *International Journal of Pharmaceutical and*
5 *Clinical Research*, 6: 159-164.
- 6 Andrews, H. García, E. y Gastélum, E. (2016) Los compuestos bioactivos y
7 tecnologías de extracción. P. e. México: *CIATEJ*.
- 8 Antezana C. (2015) Efecto de la hidrólisis enzimática de la lactosa en el perfil de
9 textura de queso fresco normal y bajo en grasa. Tesis. Lima, Perú: Universidad
10 Nacional Agraria, La Molina. Facultad de Industrias Alimentarias.
- 11 AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International; 926.08 Moisture in
12 Cheese; 935.42 Ash of Cheese; 933.05 Fat in Cheese; 920.123 Nitrogen in
13 Cheese. 16 ed. 1999
- 14 Attuquatefio, V. Bluckle, K. (1997) Rapid sample preparation methods for HPLC
15 analysis of capsaicinoids in *Capsicum* Fruits and Oleoresins. *Journal and food*
16 *chemistry*, 35(5):777-779.
- 17 Avesaat, M. Troost, F. Westerterp-Plantenga, M. Helyes, Z. Rou, C. Dekker, J. et al.
18 *al.* (2016) Capsaicin-induced satiety is associated with gastrointestinal distress but
19 not with the release of satiety hormones. *The American Journal of Clinical*
20 *Nutrition*, 103(1):305-513.
- 21 Azwanida, N.N. (2015) A review on the use of extraction methods in medicinal plants,
22 principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3):2-6.
- 23 Barreiro, P. M. (1998). Una hortaliza de México para el mundo. Claridades
24 Agropecuarias No.56. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural,
25 Pesca y Alimentación. México, D.F.
- 26 Başar, A. (2013) Cayenne, Capsaicin and Substance-P. *Restriction of Hazardous*
27 *Substances*, 2(3):11-14.
- 28 Benedetti, S. Sinelli, N. Buratti, S. y Riva, M. (2005). Shelf life of Crescenza cheese
29 as measured by electronic nose. *Journal of Dairy Science*, 88(9): 3044-305.
- 30

- 1 Borges-Gómez, L. Cervantes Cárdenas, L. Ruiz Novelo, J. Soria Fregoso, M. Reyes
2 Oregel, V. y Villanueva, E. (2010). Capsaicinoides en chile habanero (*Capsicum*
3 *chinense* Jacq.) bajo diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Terra*
4 *latinoamericana*, 28(1):35-41.
- 5 Borges-Gómez, L. Cervantes, L Ruiz. J. Soria, M. Reyes, V. Villanueva, E. (2001)
6 Capsaicinoides en chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) bajo diferentes
7 condiciones de humedad y nutrición. *Terra Latinoam*, 28(1):35-41.
- 8 Bortolotti, M. Coccia, G. Grossi, G. Miglioli, M. (2002) The treatment of functional
9 dispepsia with red pepper. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 16(6):1075-
10 1082.
- 11 Brul, S. y Coote, P. (1999). Preservative agents in foods. Mode of action and
12 microbial resistance mechanisms. *International Journal of Food Microbiology*, 50:
13 1-17
- 14 CANILEC. 2019. Estadísticas del sector lácteo2010-2018. Recuperado en:
15 <https://www.canilec.org.mx/estadisticas%20lacteos%202019.pdf>. 16/10/2019.
- 16 Cao, G. Sofic, E. Prior, R. (1997). Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids:
17 Structure-Activity relationships. *Free Radical Biology & Medicine*, 22(5):749-760.
- 18 Cardona, J. Lopera, G. Montoya, A. Benavides, J. Caicedo, M. y Restrepo, G. (2006).
19 Obtención de oleoresina de pimentón (*Capsicum annum* L.). *Vitae, Revista de la*
20 *Facultad de Química Farmacéutica*, 13(1):5-9.
- 21 Casanova-Ortiz, J. Yah-Nahuat, P. Bacab-Cocom, R. Briceño-Domínguez, D. Cruz-
22 Santander, I. (2015). Extracción de capsaicina asistida por ultrasonidos en chile
23 habanero fresco. En: Aportaciones al estudio de las ciencias biotecnologías y
24 alimentarias. Villahermosa, Tabasco: Eduardo Caballero y Caballero, pp. 298-305
- 25 Castellón-Martínez, É., Chávez-Servia, J. L., Carrillo-Rodríguez, J. C., y Vera-
26 Guzman, A. M. (2012). Preferencias de consumo de chiles (*Capsicum annum* L.)
27 nativos en los valles centrales de Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*,
28 35(SPE5): 27-35.
- 29 Castro-Castillo, G. Martínez-Castañeda, F. Martínez-Campos, A. Espinoza-Ortega, A.
30 (2013) Caracterización del microbiota nativo del queso Oaxaca tradicional en tres

- 1 fases de elaboración. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología,*
2 *Caracas*, 33:105-109.
- 3 Cázares-Sánchez, E. Ramírez-Vallejo, P. Castillo-González, F. Soto-Hernández, M.
4 Rodríguez-González, T. (2005) Chávez-Servia J L. Capsaicinoides y preferencia
5 de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annum* L.) del centro-oriente
6 de Yucatán. *Agrociencia*, 39:627-638.
- 7 Cerecedo-Cruz, L. Azuara-Nieto, E. Hernández-Álvarez, A. González-González, C.
8 Melgar-Lalanne, G. (2018) Evaluation of the oxidative stability of Chipotle chili
9 (*Capsicum annum* L.) oleoresins in avocado oil. *Grasas y Aceites*, 69(1): 1-12.
- 10 Cerón, T. Santiesteban-López, N. Acle, R. (2016) Composition and antimicrobial
11 activity in two *Capsicum* extracts. *Revista Iberoamericana de las Ciencias*
12 *Biológicas y Agropecuarias*, 5(10):107-117.
- 13 Cerón-Carrillo, T. Munguía-Pérez, R. García, S. Santiesteban-López, N. (2014)
14 Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (*Capsicum*).
15 *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(2):213-221.
- 16 Cervantes, F. y Villegas, A. (2014) La leche y los quesos artesanales en México.
17 *Agricultura Sociedad y Desarrollo*, 11(2):243-248.
- 18 Chen, J. Li, L. Li, Y. Liang, X. Sun, Q. Yu, H. et al. 2015 () Activation of TRPV1
19 channel by dietary capsaicin improves visceral fat remodeling through connexin43-
20 mediated Ca²⁺ Influx. *Cardio Vascular Diabetology*, 14(22):1-14.
- 21 Davidson P.M. (1993) "Parabens and phenolics compounds". In: Davidson P.M and
22 A.L Branen. (Eds.). *Antimicrobial in Foods*. *Marcel Dekker*, Nueva York: 263-306.
- 23 Davis, C. Markey, C. Busch, M. Busch, K. (2007) Determination of capsaicinoids un
24 habanero peppers by chemometric analysis of UV spectral data. *Journal og*
25 *Agricultural and Food Chemistry*, 55(15):5925-5933.
- 26 Dawan, P. Satarpai, T. Tuchinda, P. Shiowatana, J. Siripuanond, A. (2017) A simple
27 analytical platform based on thin-layer chromatography coupled with paper-based
28 analytical device for determination of total capsaicinoids in chilli sample. *Talanta*,
29 162: 460-465
- 30 De la Cruz, A. (2011) Evaluación del porcentaje de rendimiento y caracterización
31 fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum* A.) proveniente

- 1 de tres estratos altitudinales utilizando como solvente de extracción soluciones de
2 alcohol etílico-agua. Tesis. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de
3 Ingeniera; Guatemala.
- 4 Del Campo, C. y Gómez, H. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad
5 antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *e-Gnosis*,
6 6(5):7-17.
- 7 Deng, P.Y. Li, Y.J. (2005) Calcitonin gene-related peptide and hypertension.
8 *Peptides*, 26:1676-1785.
- 9 Domínguez-Cañedo, I. Beristain-Guevara, C. Díaz-Sobac, R. y Vázquez-Luna, A.
10 (2015). Degradación de carotenoides y capsaicina en el complejo de inclusión
11 molecular de oleorresina de chile habanero (*Capsicum chinense*) con β -
12 ciclodextrina. *CyTA-Journal of Food*, 13(1): 151-158.
- 13 Domínguez-Cañedo, I. y Beristain-Guevara, C. (2011). Microencapsulation of
14 habanero chilli (*Capsicum chinense*) oleoresin in β -ciclodextrin and antioxidant
15 activity during storage. In *European Drying Conference-EuroDrying 2011. Palma.*
16 *Balearic Island, Spain, 26-28 October.*
- 17 Elizalde, O. (2008) Solubilidades de la capsaicina y pigmentos liposolubles
18 (carotenoides) del chile poblano en CO₂ supercrítico. Tesis doctoral. Instituto
19 Politécnico Nacional, Facultad de Química e Industrias Extractivas México.
- 20 Espinosa, D. Azuara, E. (2009) Efecto protector de la capsaicina contra la oxidación
21 térmica de lípidos en la elaboración de botanas con un valor funcional agregado
22 (betalaínas). Tesis de Maestría: Xalapa, Veracruz. México.
- 23 Fajardo, L. y Ángel, L. (2005). Efecto protector del consumo del ají en la frecuencia
24 de trastornos funcionales del tubo digestivo. *Revista Colombiana*
25 *Gastroenterología*, 20(4):5.24.
- 26 Félix-Fuentes, A. Campas-Baypoli, O. y Meza-Montenegro, M. (2005). Calidad
27 sanitaria de alimentos disponibles al público de Ciudad Obregón, Sonora, México.
28 *RESPYN Revista de Salud Pública y Nutrición*, 6(3): 22-32.
- 29 Fernández, G. (2007) Extracción, análisis, estabilidad y síntesis de capsaicinoides.
30 Tesis doctoral. Universidad de Cádiz. Facultad de ciencias, España, Cádiz.

- 1 Fernández-Trujillo, J. (2008) Extracción convencional de oleorresina de pimentón
2 dulce y picante I. Generalidades, composición, proceso e innovaciones y
3 aplicaciones. *Grasas y Aceites*, 58(3):252-263.
- 4 Führer, M. Hammer, J. (2009). Effect of repeated, long term capsaicin ingestion on
5 intestinal chemo- and mechanosensation in healthy volunteers.
6 *Neurogastroenterology and Motility*, 21:521-527.
- 7 Galindo, D. Pamela, E. Valladares Carranza, B. Gutiérrez Castillo, A. D. Arriaga
8 Jordan, C. M. Quintero-Salazar, B. y Velázquez, V. (2017). Caracterización de
9 queso fresco comercializado en mercados fijos y populares de Toluca, Estado de
10 México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(2):139-146.
- 11 Gálvez, R. (2018) Parche de capsaicina: Un clásico frente al dolor neuropático.
12 *Revista de la Sociedad Española del Dolor*, 25(4), 195-196.
- 13 Gallego, M. (2006). Oleorresinas de pimienta en la industria alimentaria. *Revista*
14 *Lasallista de Investigación*, 3(2): 43-47.
- 15 Gamarra, N. Bontemps, I. Coronoel, E. Velázquez, S. Granza, S. (2014) Extracción
16 por fluido supercrítico de CO₂ y cuantificación de capsaicinoides de Rocoto
17 (*Capiscum pubescen*). *Prospectiva Universitaria*, 8:11-17.
- 18 Gannon, N.P. Lambalot, E.L. Vaughan, R.A. (2016). The effects of capsaicin and
19 capsaicinoid analogs on metabolic tissues and cell types. *BioFactors*, 43(3): 229-
20 246.
- 21 Garcés-Claver, A. Arnedo-Andrés, M.S. Abadía, J. Gil-Ortega, R. Álvarez-Fernández,
22 A. (2006). Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* Fruits by
23 liquid Chromatography-Electrospray/time-of-flight mass spectrometry. *Journal of*
24 *Agricultural Food Chemistry*, 54(25):9303-9311.
- 25 Gaviria, C. Ochoa, C. Sánchez, N. Medina, C. Lobo, M. Galeano, P. Mosquera, A.
26 Tamayo, A. Lopera, Y. Rojano, B. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la
27 peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium*
28 *meridionale*SW). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y
29 Aromáticas, 8: 519 – 528.
- 30 Giordano, C. Cristino, L. Luongo, L. Siniscalco, D. Petrosino, S. Piscitelli, F. et al.
31 (2011) TRPV1-Dependent and -Independent Alterations in the limbic Cortex of

- 1 Neuropathic Mice: Impact on Glial Caspases and Pain Perception. *Cerebral*
2 *Cortex*, 22:2495-2518.
- 3 Giuffrida, D. Dugo, P. Torre, G. Bidnardi, C. Cavazza, A. Corradini, C. Dugo, G.
4 (2014) Evaluation of carotenoid and capsaicinoid contents in powder of red chili
5 peppers during one year of storage. *Food Research International*, 65 (Part B); 167-
6 170.
- 7 Gonçalves, F. Leitão, S. Correia, P. y Guiné, R. (2017). Study of total phenolic
8 composition and antioxidant activity of fresh cheese with red fruits. In *ICEUBI:*
9 *International Congress on Engineering* 1-9.
- 10 González-Montiel, L. Franco-Fernández, M. (2014) Perfil microbiológico del queso de
11 aro consumido en la Cañada Oaxaqueña. *Brazilian Journal of Food Technology*,
12 18(3):250-257.
- 13 Gutiérrez, D. Ortiz, C. Mendoza, A. (2008) Medición de fenoles y actividad
14 antioxidante en malezas usadas para alimentación animal En: Simposio de
15 Metrología. Querétaro, México. Universidad Autónoma de Querétaro, 1-5.
- 16 Gutiérrez, J. C. Codina, P. A. y Almansa, M. D. (2018). Avances en nutrición en la
17 obesidad infantil desde la restauración hospitalaria. En: *Avances de Investigación*
18 *en Salud a lo largo del Ciclo Vital: Volumen II* (pp. 97-106). ASUNIVEP.
- 19 Ha, J. K. y Lindsay, R. C. (1991). Volatile alkylphenols and thiophenol in
20 species-related characterizing flavors of red meats. *Journal of Food Science*,
21 56(5): 1197-1202.
- 22 Hala, M.F. Ebtisam, E.D. Sanaa, I. Badran, M.A. Marwa, A.S. y Said, M.E.
23 (2010). Manufacture of low fat UF-soft cheese supplemented with rosemary extract
24 (as natural antioxidant). *Journal of American Science*, 6: 570-579.
- 25 Harada, N. Okajima, K. (2009) Effects of capsaicin and isoflavone on blood pressure
26 and serum levels on insulin-like growth factor-I in normotensive and hypertensive
27 volunteers with alopecia. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 73(6):456-
28 1459.
- 29 Henderson, D. y Henderson, S. (1992) Thermal decomposition of capsaicin. 1.
30 Interactions with Oleic Acid at High Temperatures. *Journal of Agricultural and Food*
31 *Chemistry*, 49(11):2263-2268.

- 1 Hernández, E. (2005). Evaluación sensorial. *Bogotá, DC. Centro Nacional de Medios*
2 *para el Aprendizaje.*
- 3 Hernández, J. Martínez, O. Quinto, D. Cuevas, D. Acosta, O. Aguilar, J. (2010)
4 Secado de chile habanero con energía solar. *Revista Iberoamericana Tecnología*
5 *Postcosecha*, 10(2):120-127.
- 6 Hernández, J.A. Ochoa, A.A. López. E. y García, H.S. (2009) Extracción de
7 capsaicoides durante la deshidratación osmótica de chile habanero en salmuera.
8 *CyTA-Journal of Food*, 7(2):127-134.
- 9 Hervert-Hernández, D. Sáyago-Ayerdi, S. G. y GONi, I. (2010). Bioactive compounds
10 of four hot pepper varieties (*Capsicum annuum* L.), antioxidant capacity, and
11 intestinal bioaccessibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6): 3399-
12 3406.
- 13 Hoyos, O. Martín, J. Solarte, C. Orozco, M. (2007) Extracción y cuantificación de
14 capsaicina a partir de fruto del Ají (*Capsicum spp*). *Scientia et technical*, 33:33-35.
- 15 Hudson, A. Kunstetter, A. Damasceno, W. Wanner, S. (2016) Involvement the TRPV1
16 channel in the modulation of spontaneous locomotor activity, physical performance
17 and physical exercise-induced physiological responses. *Brazilian Journal of*
18 *Medical and Biological Research*, 49(6):1414-431.
- 19 Janssesns, P. Hursel, R. Martens, E. Westerterp-Plantega, M. (2013) Acute effects of
20 capsaicin on energy expenditure and fat oxidation in negative energy balance.
21 *Public Library of Science One*, 8(7):1-7.
- 22 Kang, J. Tsuyoshi, G. Ngon, H. Kim, H. Tu, T. Noj, H. et al. (2011) Dietary Capsaicin
23 Attenuates Metabolic Dysregulation in Genetically Obese Diabetic Mice. *Journal of*
24 *Medicinal Food*, 14(3):310-315.
- 25 Kaytanli, M. Erdem, Y. Tamer, M. (1994) Factors affecting whey drainage rate of
26 renneted skim milk gels: A kinetic approach. *Milchwissenschaft* 49(4): 197-200
- 27 Kindstedt, P. S. M. R. Guo, W. H. Vitto, J. J. Yun, y D. M. Barbano. (1995) Effect of
28 screw speed and residence time at high temperature on composition, proteolysis,
29 functional properties, and the water phase of Mozzarella cheese, In Proc. 32nd
30 Annual Marshall Italian and Specialty Cheese Seminar. Rhone Poulenc Dairy
31 Ingredients, Madison, WI. Pp. 56–72

- 1 Kirk, R. Sawyer, R. Egan, H. (2002) Análisis de lácteos. En: Composición de análisis
2 de alimentos de Pearson. 9ª Edición. México. CECSA. Pp: 80-85.
- 3 Kirschbaum-Titze, P. Hiepler, C. Mueller-Seitz, E. Petz, M. (2002) Pungency in
4 paprika (*Capsicum annuum*). Decrease capsaicinoid content followin celular
5 disruption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(5):1260-1263.
- 6 Koleva, G. Viktorija, M. Marija, S. Rubin, G. Emilija, I. (2013) The effect of different
7 methods of extractions of capsaicin on its content in the capsicum oleoresins.
8 *Journal of food sciencie and technology*, 18(19):917-922.
- 9 Kopec, S. DeBellis, R. Irwin, R. (2002) Chemical Analysis of Freshly Prepared and
10 Stored Capsaicin Solutions: Implications for Tussigenic Challenges. *Pulmonary
11 and Pharmacology & Therapeutics*, 15:529-534.
- 12 Kuskoski, E. M. Asuero, A. G. Troncoso, A. M. Mancini-Filho, J. Fett, R. (2005)
13 Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante
14 de pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, 25 (4): 726-732)
- 15 Larsen, P. (2008) Mechanisms behind GLP-1 induced weight loss. *British Journal of
16 Diabetes and Vascular Disease*, Supl 2: S34-S4.
- 17 León, S. López, P. y Frutos Ros, R. (2004). Síndrome de boca ardiente: Eficacia de
18 la aplicación tópica de capsaicina. Estudio piloto. *Avances en
19 Odontoestomatología*, 20(6): 297-304.
- 20 Li, Y.J. Peng, J. (2002) The cardioprotection of calcitonin gene-related peptide-
21 mediated Preconditioning. *European Journal of Pharmacology*, 442(3):173-177.
- 22 Liu, T. Wang, G. Huangheng, T. Yang, Z. Wang, Y. Meng, Z. et. al. (2016) Capsaicin
23 mediates capases activation and induces apoptosis through P38 and JNK MAPK
24 pathways in human real carcinoma. *BioMed Central Cancer*, 16(790):1-13.
- 25 Lobato-Calleros, C. Ramos-Solís, L. Santos-Moreno, A. Rodriguez-Huezo M. (2008)
26 Structural and textural characteristics of reduced-fat cheese-like products made
27 from W1/0/W2 emulsions and skim milk. *Journal of Food Science and Technology*,
28 41(10):1847-1856.
- 29 Luna, G. García, H. Beristain, C. (1996) Capsaicinoids losses during osmotic
30 dehydration of jalapeño peppers in: IFT Annual Meeting and Food Expo: New
31 Orleans-Louisiana. *IFT*, 1:143.

- 1 Maksimova, V. Koleva Gudeva, L. Ruskovska, T. Gulaboski, R. y Cvetanovska, A.
2 (2014). Efecto antioxidante de las oleorresinas de *Capsicum* en comparación con
3 la capsaicina pura. *IOSR Journal of Pharmacy*, 4 (11), 44-48.
- 4 Manjarrez, L. Díaz, Z. Salazar, G. Valladares, C. Gutiérrez, C. Barbabosa, P. (2012)
5 Identificación de biotipos de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras de
6 producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-oeste del Estado de
7 México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, (2):265-274.
- 8 Manzocco, L. Anese, M. y Nicoli, M. (1998). Antioxidant properties of tea extracts as
9 affected by processing. *Levensmittel Wiss. Technol*, 31:694-698.
- 10 Martínez-Valverde, I. Periago, M. Ros, G. (2000) Significado nutricional de los
11 compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1):5-
12 18.
- 13 Matissek, R. Schnepel, F. y Steiner, G. (1998) Análisis químico proximal de los
14 alimentos. Análisis de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España., 1 y 229-232.
- 15 McCarty, M.F. DiNicolantonio, J.J. O'keefe, K.H. (2015) Capsaicin may have
16 important potential for promoting vascular and metabolic health. *Open Heart*, 2:1-7.
- 17 Meckelmann, S. Riegel, D. Zonneveld, M. Ríos, L. Peña, K. Ugas, R. Quinonez, L.
18 Mueller-Seitz, E. y Petz, M. (2013) Compositional Characterization of Native
19 Peruvian Chili Peppers (*Capsicum* spp.). *Journal of Agricultural and Food*
20 *Chemistry*, 61:2530–253.
- 21 Melilli, C. Barbano, D. M. Licitra, G. Tumino, G., Farina, G. y Carpino, S. (2003)
22 Influence of presalting and brine concentration on salt uptake by Ragusano
23 cheese. *Journal of Dairy Science*, 86(4): 1083-1100.
- 24 Méndez, C. (2008) Desarrollo de métodos para el aislamiento y la detección de
25 toxinas marinas en productos de la pesca y la acuicultura. P. e. España:
26 Universidad de Santiago de Compostela. Pp: 56-60
- 27 Mendoza, L. (2013) Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño
28 (*Capsicum annuum* var. *annuum*) fresco y seco. Tesis.: Universidad veracruzana,
29 Facultad de ciencias básicas, Xalapa Veracruz. Pp: 52-60.
- 30 Mendoza-López, L. Mendoza-López, M. García-Barradas, O. Azuara-Nieto, E.
31 Pascual-Pineda, L. Jiménez-Gernández, M. (2015) Physicochemical and

- 1 antioxidant properties of jalapeño pepper (*Capsicum annuum* val. *annuum*) during
2 storage. *Revista Chapingo: serie Horticultura*, 21(3):229-241.
- 3 Menendez, S. Godinez, R., Centeno, J. y Rodriguez- Otero, J. (2001) Microbiological,
4 chemical and biochemical characteristics of 'tetilla' raw cows-milk cheese.
5 *International Journal of Food Microbiology*, 18: 151– 158.
- 6 Menichini, F. Tundis, R. Bonesi, M. Loizzo, MR. Conforti, F. Statti, G. et al. (2009)
7 The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity
8 of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. *Food Chemistry*, 114(2): 553-560.
- 9 Metzger, L. Barbano, D. M. Kindstedt, P. S. y Guo, M. R. (2001). Effect of milk
10 preacidification on low fat Mozzarella cheese: II. Chemical and functional
11 properties during storage. *Journal of Dairy Science*, 84(6): 1348-1356.
- 12 Meza, D. Loza, S. 2014 () Actividad inhibitoria alfa-amilasa y fenoles totales en
13 extractos etanólicos de hojas de *Smallanthus Sonchifolius* (Yacón). *Revista*
14 *Cubana de Plantas Medicinales*, 19(1):310-318.
- 15 Mistrova, E. Kruzliak, P. Chottova, D. (2016) Role of substance P in the
16 cardiovascular system. *Neuropeptides*, 58(1):41-51.
- 17 Morales F. (2011) Jiménez-Pérez S. Free radical scavenging capacity of Maillard
18 reaction products as related to colour and fluorescence. *Food Chemistry*, 44 (5):
19 1244-1253
- 20 Menichini, F. Tundis, R. Bonesi, M. Loizzo, MR. Conforti, F. Statti, G. et al. (2009)
21 The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity
22 of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. *Food Chemistry*, 114(2): 553-560.
- 23 Moreno-Limón, S. Salcedo-Martínez, S. Cárdenas-Ávila, M. Hernández-Piñero, J.
24 Núñez-González, M. (2012) Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile
25 piquín (*Capsicum annuum* l. var *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de
26 *Aspergillus flavus*. *Polibotánica*, 34:191-204.
- 27 Mushtaq, M. Gani, A. Shetty, P. H. Masoodi, F. A. y Ahmad, M. (2015). Himalayan
28 cheese (Kalari/kradi): Effect of different storage temperatures on its
29 physicochemical, microbiological and antioxidant properties. *LWT-Food Science*
30 *and Technology*, 63(2): 837-845.

- 1 Nagoth, J. Preetam, R. Antoine, L. (2014) Impact of organic solvents in the extraction
2 efficiency of therapeutic analogue capsaicin from *Capsicum Chinense* bhut Jolokia
3 Fruits. *International Journal of Pharmacology and Clinical Research*, 6(2):159-164.
- 4 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-111-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS.
5 MÉTODO PARA LA CUENTA DE MOHOS Y LEVADURAS EN ALIMENTOS.
- 6 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-121-SSA1-1994, BIENES Y SERVICIOS.
7 QUESOS: FRESCOS, MADURADOS Y PROCESADOS. ESPECIFICACIONES
8 SANITARIAS.
- 9 NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-243-SSA1-2010. PRODUCTOS Y SERVICIOS.
10 LECHE, FORMULALACTEA, PRODUCTO LACTEO COMBINADO Y
11 DERIVADOS LACTEOS. DISPOSICIONES Y ESPECIFICACIONES
12 SANITARIAS. METODOS DE PRUEBA
- 13 Naranjo P. (2007) How Evaluación de las características físicas y sensoriales del
14 queso crema con albahaca (*Ocimum basilicum*), comino (*Cuminum Cyminum*) y
15 tomates secos (*Solanum Lycopersicum*). Tesis licenciatura. Universidad
16 Zamorano, Facultad de Agroindustria Alimentaria Zamorano, Honduras.
- 17 Novellis, V. Vita, D. Gatta, L. Luongo, L. Bellini, G. Chiaro, M. et al. (2011) The
18 blockade of the transient receptor potential vanilloid type 1 and fatty acid amide
19 hydrolase decreases symptoms and central sequelae in the medial prefrontal
20 cortex of neuropathic rats. *Molecular pain*, 7(7):1-19.
- 21 Ochoa-Flores, A. Hernández-Becerra, J. López-Hernández, E. García-Galindo, H.
22 (2016) Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado
23 con estabilizantes. *Universidad y Ciencia*, 20(3): 277-286.
- 24 Ochoa-Martínez, C. Ayala-Aponte, A. (2005) Modelos matemáticos de transferencia
25 de masa en deshidratación osmótica. *Ciencia y Tecnología Alimentaria* 4(5):330-
26 342.
- 27 Orellana-Escobedo, L. García Amezcuita, L. Olivas, G. Ornelas-Paz, J. Sepulveda,
28 D. (2013) Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili
29 peppers (*Capsicum* spp.) cultivates in the state of Chihuahua. *CyTA- Journal of*
30 *food*, 11(2):179-184.

- 1 Ozdemir, F. Topuz, C. (2014) Influences of gamma irradiation and storage on the
2 capsaicinoids of sun-dried and dehydrated paprika. *Food Chemistry*, 86(4): 509-
3 515.
- 4 Öztürk, H. Akin, N. (2017) Comparison of some functionalities of water soluble
5 peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening.
6 *Journal of Food Science and Technology*, 21:1557-1678
- 7 Palacios Vargas, S. (2006). Caracterización microbiológica de diversos tipos de
8 quesos elaborados en el Valle de Tulancingo Hidalgo. Tesis. Universidad
9 Autónoma del Estado de Hidalgo. Academia agroindustrial79-82.
- 10 Pardo, M. (2016) La capsaicina como agente terapéutico contra la obesidad y la
11 diabetes. Tesis doctoral.: Universidad de Alcalá. Facultad de Farmacia; Madrid,
12 España.Pp:56-78.
- 13 Pearse, M. Mackinlay, A. (1989). Biochemical aspects of syneresis: A review. *Journal*
14 *of Dairy Science*. 72(6):1401- 1407.
- 15 Pen, J. Li, Y. (2010) The vanilloid receptor TRPV1: Role in cardiovascular and
16 gastrointestinal protection. *European Journal of Pharmacology*, 627(1-3):1-7.
- 17 Peña-Alvarez, A. Ramírez-Maya, E. Alvarado-Suárez, L. (2009) Analysis of capsaicin
18 and dihydrocapsaicin in peppers and peppers sauces by solid phase
19 microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of*
20 *Chromatography A*, 1216(14):2843-2847.
- 21 Perucka, I. Oleszek, W. (2000) Extraction and determination of capsaicinoids in fruit
22 of hot pepper *Capsicum annum* L. By spectrophotometry and high-performance
23 liquid chromatography. *Food Chemistry*, 71(2):287-291.
- 24 Pino, J. González, M. Ceballos, L. Centurión-Yah, AR. Trujillo-Aguirre, J. Latournerie-
25 Moreno, L. et. al., (2007) Characterization of total capsaicinoids, colour and volatile
26 compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack.) cultivars grown
27 in Yucatan. *Food Chemistry*, 104:1682-1686.
- 28 Poyrazoglu, E. S. Yemis, O. Kadakal, Ç. y Artik, N. (2005). Determination of
29 capsaicinoid profile of different chilli peppers grown in Turkey. *Journal of the*
30 *Science of Food and Agriculture*, 85:1435–1438.

- 1 Ramírez-López, C. Vélez-Ruiz, J. (2012) Quesos frescos: Propiedades, métodos de
2 determinación y factores que alteran su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de*
3 *Alimentos*, 6(2):131-148.
- 4 Rashidinejad, A. Birch, E. J. Sun-Waterhouse, D. y Everett, D. W. (2015). Total
5 phenolic content and antioxidant properties of hard low-fat cheese fortified with
6 catechin as affected by in vitro gastrointestinal digestion. *LWT-Food Science and*
7 *Technology*, 62(1): 393-399.
- 8 Renye, J. Somkuti, G. Vallejo - Córdoba, B. Van Hekken, D. y González - Córdoba, A.
9 (2008). Caracterización de la microflora aislada de queso fresco elaborado con
10 leche cruda y pasteurizada. *Journal of Food Safety*, 28 (1): 59-75.
- 11 Restrepo, M. (2006) Oleorresinas de *Capsicum* en la industria alimentaria. Revista
12 Lasallista de investigación, 2(3):43-4.
- 13 Restrepo, M. Llanos, N. Fonseca, C. (2007) Composición de las oleorresinas de dos
14 variedades de ají picante (habanero y tabasco) obtenidas mediante lixiviación con
15 solventes orgánicos. *Revista Lasallista Investigación*, 4(1):1749:1794.
- 16 Reyes-Escogido ML, Gonzalez-Mondragon EG, Vazquez-Tzompantzi E. (2011)
17 Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules*, 16:1253-1270.
- 18 Reyes-Escogido, M. Gonzalez-Mondragon, E. Vazquez-Tzompantzi, E. (2011)
19 Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules*, 16:1270.
- 20 Riquelme, N. y Matiacevich, S. (2016) Characterization and evaluation of some
21 properties of oleoresin from *Capsicum annum* var. cacho de cabra. *Ciencia y*
22 *Técnica Administrativa*, 15(3):344-351.
- 23 Rodríguez, K. (2012) Importancia del chile *Capsicum annum*. L como un recurso
24 alimentario en México. Tesis. Universidad Veracruzana, Facultad de Biología.
25 Xalapa Veracruz.
- 26 Rohrig, B. (2014) Chili picante: Muy picante. ChemMatters. Disponible en:
27 [https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/](https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/spanishtranslations/chemmatters-dec2013.pdf?_ga=2.260359629.1366638773.1493841118-914285005.1493841066)
28 [spanishtranslations/chemmatters-dec2013.pdf?_ga=2.260359629.1366](https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/spanishtranslations/chemmatters-dec2013.pdf?_ga=2.260359629.1366638773.1493841118-914285005.1493841066)
29 [638773.1493841118-914285005.1493841066](https://www.acs.org/content/dam/acsorg/education/resources/highschool/chemmatters/spanishtranslations/chemmatters-dec2013.pdf?_ga=2.260359629.1366638773.1493841118-914285005.1493841066). [consulta 7 de septiembre del 2018]
- 30 Romero-Castillo L, López, S. Y. Espinoza-Ortega, A. Salazar-García, F. y Martínez-
31 Campos, Á. (2017). Análisis del efecto antibacteriano del chile (*Capsicum annum*

- 1 spp) y el epazote (*Chenopodium ambrosioides*) utilizados en la elaboración del
2 queso botanero. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*. 8(2): 211-217.
- 3 Romero-Castillo, P. A. Leyva-Ruelas, G. Cruz-Castillo, J. G. y Santos-Moreno, A.
4 (2009). Evaluation of health quality of mexican tropical cream cheeses in the
5 region of Tonalá, Chiapas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(1): 111-
6 119.
- 7 Roth. (2017) Ficha de datos de seguridad, 884 (23-01-2017).
- 8 Roy, D. Mainville, I. y Mondou, F. (1997) Enumeración selectiva y supervivencia de
9 bifidobacterias en queso fresco. *International Dairy Journal*, 7(12): 785-793.
- 10 Ruíz-Lau, N. Medina-Lara, F. Minero-García, Y. Torres-Tapia, L. Peraza-Sánchez, S.
11 Martínez-Estévez, M. (2010) Capsaicinoid are absent in Habanero Pepper
12 Vegetative Organs (*Capsicum Chinense* Jacq.). *HortScience*, 45(2):323-236.
- 13 Rupasinghe, V. Sekhon-Loodu, S. Mantso, T. Panayiotidis, M. (2016) Phytochemicals
14 in regulation fatty acid B-oxidation: Potential underlying mechanisms and their
15 involvement in obesity and weight loss. *Pharmacology & Therapeutics*, 165:153-
16 163.
- 17 Sadler, G. y Murphy, P. (2010) pH y acidez titulable. En *Análisis de alimentos*,
18 Springer, Boston, MA. Pp: 219-238
- 19 SAGARPA. (2011) Manual de elaboración de productos derivados de la leche con
20 valor agregado. P.e. México: SAGARPA- Fundación produce Sinaloa, A. C.
- 21 SAGARPA. (2015) Margen de comercialización: Chile habanero. México: SIAP –
22 SAGARPA.
- 23 SAGARPA. Un panorama del cultivo del chile. P. e. México: SIAP - SAGARPA; 2010.
- 24 Salazar, R. Arámbula-Villa, G. Hidalgo, F. y Zamora, R. (2012). Efecto mitigante de la
25 oleorresina de piquin pepper (*Capsicum annum* L. var. Aviculare) en la formación
26 de acrilamida en papas y chips de tortilla. *LWT-Food Science and Technology*, 1:
27 261-267
- 28 Salmerón, J. De Vega, C. Pérez-Elortondo, F. Albisu, M. y Barron, L. (2002). Efecto
29 de la pasteurización y variaciones estacionales en la microflora de la leche de
30 oveja para la elaboración de queso. *Microbiología de los alimentos*, 19(2-3):167-
31 174.

- 1 Sánchez, J.L. Moreno, S.G. (2014) Manual de procedimiento para la extracción de
2 capsaicina de chile habanero. P. e. Quintana Roo: SOLIHAGUA.8-15.
- 3 Sánchez, L. Gutiérrez, F. (2016) El picor del chile, biosíntesis de la capsaicina y
4 diferenciación morfológica. *Ciencias*, 118:34-37.
- 5 Sánchez, V. Colín, N. López, G. Avilés, N. Castelán, O. Estrada, F. (2012)
6 Caracterización del queso madurado Zacazonapan producido en el Estado de
7 México [resumen]. Congreso Nacional de Investigación Socioeconómica y
8 Ambiental de la Producción Pecuaria. Colegio de Posgraduados. Puebla, Pue,
9 183.
- 10 Santander, M. Osorio, O. y Mejía, D. (2017). Evaluación de propiedades
11 antioxidantes y fisicoquímicas de una bebida mixta durante almacenamiento
12 refrigerado. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 34(1): 84-97.
- 13 Schweiggert, U. Carle, R. Schieber, A. (2006) Characterization of major and minor
14 capsaicinoids and related compounds in chilipods (*Capsicum frutescens* L.) by
15 highperformance liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization
16 mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 557(1):236-244.
- 17 SENA. (1987) Generalidades del queso. P.e. Bogotá: SENA.
- 18 Shaiban, M. Al-Mamary, M. y Al-Habori, M. (2006). Actividad antioxidante total y
19 contenido fenólico total en queso ahumado yemení. *Revista Malaya de Nutrición*,
20 12 (1):87-92.
- 21 Silva, E. Rebaza, R., Tumbajulca, M., Vargas, Y., Gutierrez, A., Valera, F., & Miñano,
22 H. A. (2018). Desarrollo de snack de queso incorporado con microcápsulas de
23 oleoresina de rocoto (*Capsicum pubescens*) en deshidratación osmótica.
24 *Agroindustrial Science*, 8(1):49-56.
- 25 Sinan, P.E. Yemis, O. Kadakal, C. Artik, N. (2005) Deterination of capsaicinoid profile
26 of different chilli peppers grown in Turkey. *Journal Science Food Agriculture*
27 85:1435-1438.
- 28 Singh, T. K. Fox, P. F. y Healy, Á. (1997) Isolation and identification of further
29 peptides in the diafiltration retentate of the water-soluble fraction of Cheddar
30 cheese. *Journal of Dairy Research*, 64(3):433-443.

- 1 Smeets, A. Pilou, L. Janssesns, R. Westerterp-Plantega, S. (2013) Addition of
2 capsaicin an exchange of carbohydrate with protein counteract energy intake
3 restriction effects on fullness and energy expenditure. *Journal of Nutrition*,
4 143:442-447.
- 5 Soertano, S. Sukrasno, E. Yulinah, E. Sylvia, T. (1997) Antimicrobial Activities of the
6 Ethanol Extracts of Capsicum Fruits with Different Levels of pungency. *Journal*
7 *Matematika Dan Sains*, 2(2):57-63.
- 8 Souza, S. Windson, C. Vieira, M. Ferreira, A. Almeida, G. Bracht, A. Marina, R.
9 (2015) A comparative study of the capsaicinoid and phenolic contents and in vitro
10 antioxidant activities of the peppers of the genus *Capsicum*: an application of
11 chemometrics. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12):8086-8094.
- 12 Stintzing, F. Herbach, K. Mosshammer, M. Carle, R. Yi, W. Sellappan, S. y Felker, P.
13 (2005). Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia*
14 spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2):442-451.
- 15 Szabo, M. Iditoiu, A. Chambre, D. Lupea, A. (2007) Improved DPPH determination for
16 Antioxidant Activity Spectrophotometric Assay. *Chemical Papers*, 61(3):214-216.
- 17 Tapia-Vargas, M. Larios-Guzmán, A. Díaz-Sánchez, D. Ramírez-Ojeda, G.
18 Hernández-Pérez, A. y Vidales-Fernández I . (2016) Producción hidropónica de
19 chile hananero negro (*Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Fitotecnia Mexicana*,
20 39(3): 241-245.
- 21 Titze, P. Hiepler, C. Seitz, E. y Petz, M. (2002). Pungency in paprika (*Capsicum*
22 *annuum* L.). 1. Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption.
23 *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 1260-1263
- 24 Tundis, R. Loizzo, M. Satti, G. Menichini, F. (2007) Inhibitory effects on the digestive
25 enzyme α -amylase of three *Salsola* species (*Chenopodiaceae*) *in vitro*. *Pharmazie*,
26 62(6):473-475.
- 27 Usman, M. Rafli, M. Ismail, M. Malek, M. Latif, M. (2014) Capsaicin and
28 dihydrocapsaicin determination in chili pepper genotypes using Ultra-Fast liquid
29 chromatography. *Molecules*, 19:6474-6488.

- 1 Varghese, S. Kubatka, P. Gazdikova, K. Caprnda, M. Fedotova, J. Zulli, A. et al.
2 (2016) Chili pepper as a body weight-loss food. *International Journal of Food*
3 *Sciences and Nutrition*, 23(18):1-10.
- 4 Vásquez-Flota F, Miranda-Ham ML, Monforte-González M, Gutiérrez-Carbajal G,
5 Velázquez-García C, Nieto-Pelayo Y. Biosynthesis of capsaicinoids, the pungent
6 principle of peppers. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 2007; 30(4):353-360.
- 7 Vendrely, V. Peuchant, E. Buscali, E. Moranvillier, I. Rourreau, B. Bedel, A. et al.
8 (2017) Resveratrol and capsaicin used together as food complements reduce
9 tumor growth and rescue full efficiency of low dose gemcitabine in a pancreatic
10 cancer model. *Cancer Letters*, 390:91-102.
- 11 Villegas de Gante. (2012) Tecnología quesera. Editoriales trillas. México
- 12 Wang, J. Yang, X. H. Mujumdar, A. S. Wang, D. Zhao, J. H. Fang, X. M. y Xiao, H. W.
13 (2017). Effects of various blanching methods on weight loss, enzymes inactivation,
14 phytochemical contents, antioxidant capacity, ultrastructure and drying kinetics of
15 red bell pepper (*Capsicum annuum* L.). *LWT Food Science and Technology*, 77:
16 337-347.
- 17 Wang-kyun, R, Hee-Woong, K. Geun-Dong, K. Hae-Ik, R. (2017) Rapid determination
18 of capsaicinoids by colorimetric method. *Journal of Food and Drug Analysis*,
19 25:798-803.
- 20 Weber, L.V. Al-Refae, K. Wölk, G. Bonatz, G. Altüller, J. Becker C, et al. (2016)
21 Expressions and functionality of TRPV1 in breast cancer cells. *Breast cancer*,
22 8:243- 252.
- 23 Xie, L. Xiang, G. Tang, T. Tang, Y. Zhao, L. Loi, D. et al. (2016) Capsaicin and
24 dihydrocapsaicin induce apoptosis in human glioma cells via ROS and Ca²⁺-
25 mediated mitochondrial pathway. *Molecular Medicine Reports*, 14:4198-4208.
- 26 Yáñez, P. Balseca, D. Rivadeneira, L. Larenas, C. (2015) Características
27 morfológicas de capsaicina en cinco especies nativas del género *Capsicum*
28 cultivadas en Ecuador. La Granja: *Revista de ciencias de la vida*, 22(2):12-32
- 29 Zewdie, Y. Bosland, W. (2001) Capsaicinoid profiles are no good chemotaxonomic
30 indicators for *Capsicum* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(2):161-
31 169.

- 1 Zhou, F.W. Li, Y.J. Deng, H.W. (1999) Early and delayed protection by capsaicin
2 against reperfusion injury in rat hearts. *Acta Pharmacologica Sinica*, 20(10):912-
3 916.
- 4 Zvara, A. Bencsik, P. Fodor, G. Csont, T. Haclker, L.J. Dux, M. et. al. (2006)
5 Capsaicin-sensitive sensory neurons regulate myocardial function and gene
6 expression pattern of rat hearts: A DNA microarray study. *The FASEB Journal*,
7 20(1):1
8

14. Anexos

Anexo 1. Curva patrón de capsaicina para HPLC.

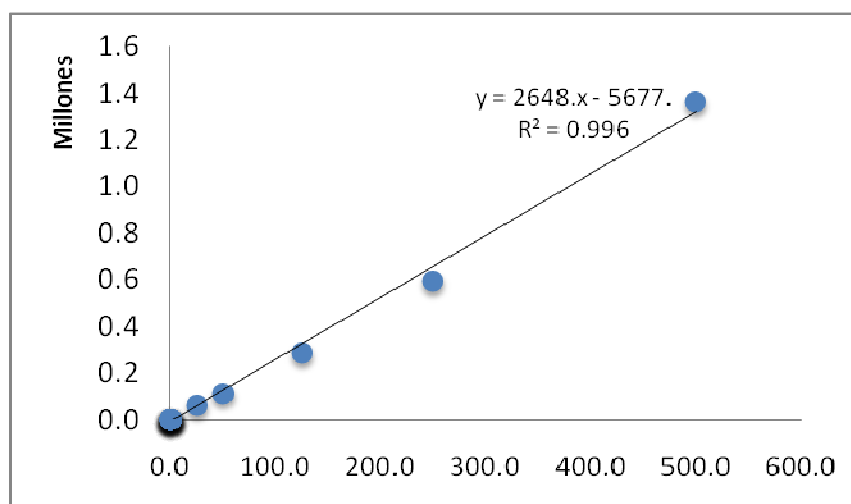


Figura 13. Curva patrón de capsaicina para HPLC

Anexo 2. Curva patrón de dihidrocapsaicina para HPLC-

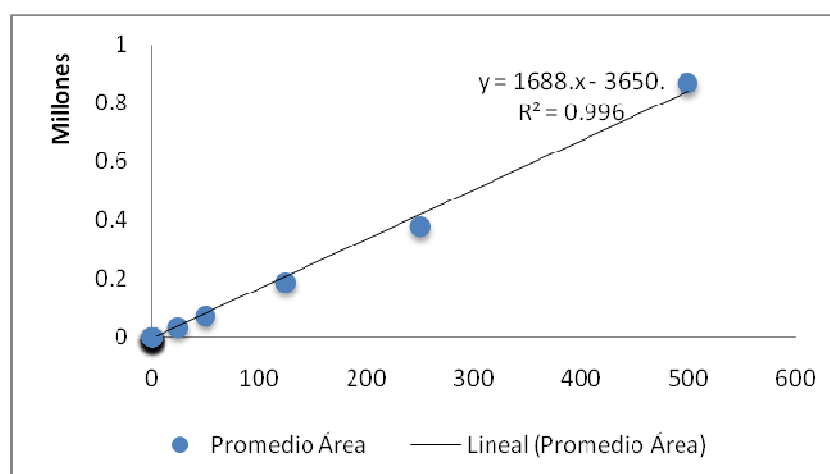


Figura 14. Curva patrón de dihidrocapsaicina para HPLC.

Anexo 3. Curva patrón para determinación de Contenido fenólico total.

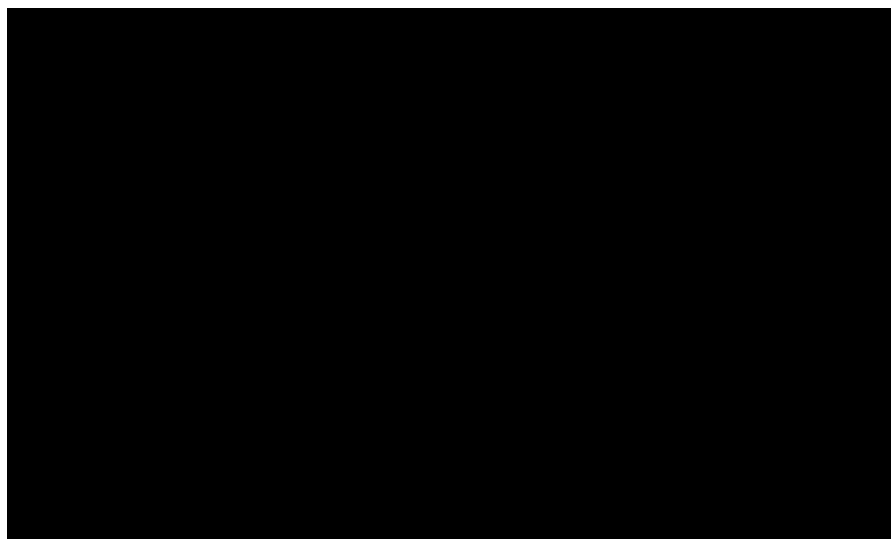


Figura 15. Curva patrón contenido fenólico total.

Anexo 4. Curva patrón para prueba de DPPH.

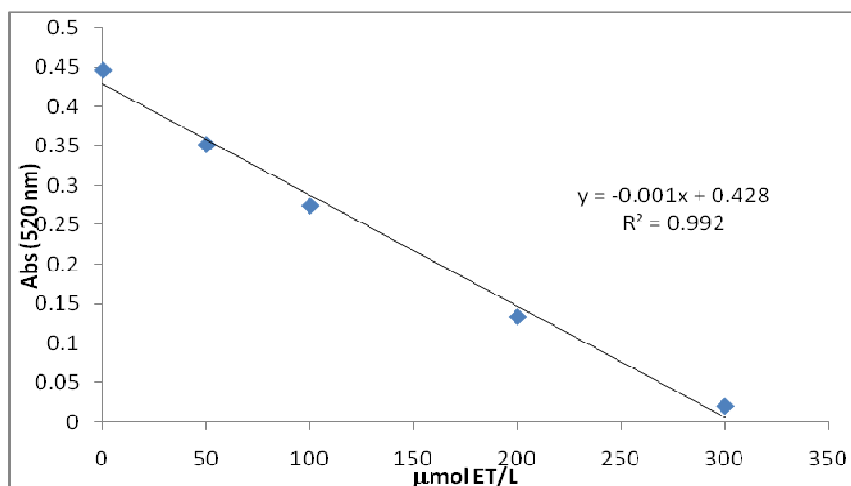


Figura 16. Curva patrón para prueba de DPPH

Anexo 5. Curva patrón para prueba de ABTS

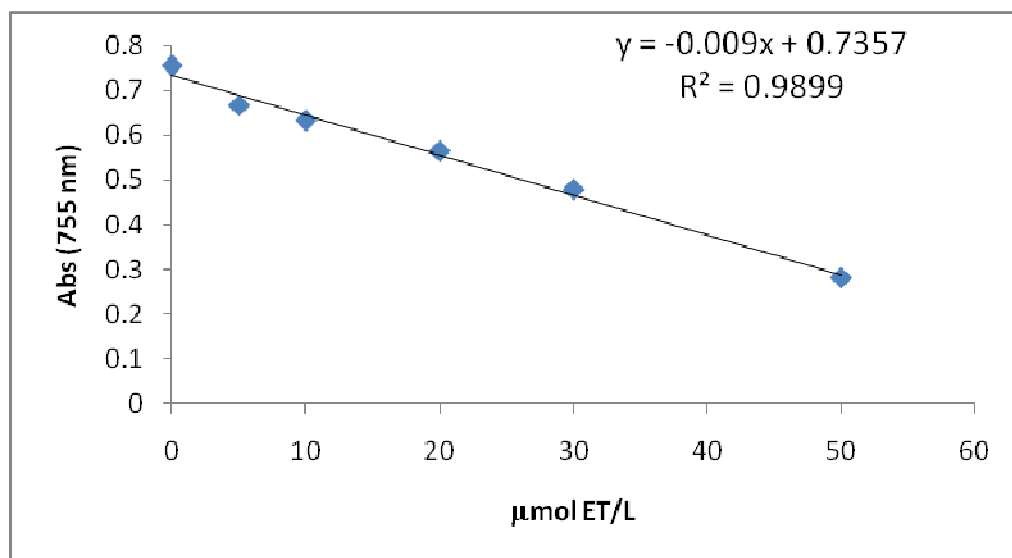


Figura 17. Curva patrón para prueba de ABTS

Anexo 6. Hoja de evaluación sensorial



Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo
 Instituto de Ciencias de la Salud
 Área Académica de Nutrición
 Hoja de Evaluación Sensorial de Queso Oaxaca.



Número de muestras: 4

Fecha: _____ Sexo: _____ Edad: _____

Instrucciones: Marca con una X la evaluación que merece cada muestra analizada en cada una de sus características

- 1. Me disgusta mucho
- 2. No me gusta
- 3. No me gusta ni me disgusta
- 4. Me gusta
- 5. Me gusta mucho

C0P

Característica	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Textura					
Sabor					

C1P

Característica	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Textura					
Sabor					

C2P

Característica	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Textura					
Sabor					

C3P

Característica	1	2	3	4	5
Apariencia					
Color					
Aroma					
Textura					
Sabor					

Pungencia.

Instrucciones: Marca con una X la opción que creas más adecuada para cada muestra

Muestra	Muy suave	Ligeramente picante	Moderadamente picante	Bastante picante	Muy picante
C0P					
C1P					
C2P					
C3P					

¿Cuál fue tu muestra favorita? _____

Comentarios y observaciones: _____

Anexo 7. Frecuencia de consumo de chile



Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo
Instituto de Ciencias de la Salud
Área Académica de Nutrición
Frecuencia de consumo de Chile



- 1.- ¿Consume Chile? SI () NO ()
- 2.- ¿Cuántas veces consume chile?
En el día _____
En la semana _____
En el mes _____
- 3.- ¿Cómo considera la cantidad de chile que consume?
Poca ()
Moderada ()
Bastante ()
Muy abundante ()
- 4.- Describe la cantidad de chile que consume cada vez que lo hace
a. Gotas () cuantas _____
b- ½ cucharadita ()
c. 1 cucharadita ()
d. 2 cucharaditas ()
e. más de 2 cucharaditas () Cuantas _____
- 5.- ¿Dónde consume el chile?
a. Restaurante ()
b. Cafetería ()
c. Casa ()
e. Otra ()
- 6.- ¿De donde procede el chile que usted consume?
a. Preparación Comercial ()
b. Preparación Casera ()
- 7.- El chile que usted consume es:
a. Suave ()
b. Moderadamente picante ()
c. Muy picante ()