



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO**



**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**PROPIEDADES SENSORIALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL  
QUESO TIPO MANCHEGO ELABORADO CON LECHE DE OVEJA  
PELIBUEY Y CURCUMINA NANOEMULSIONADA**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**

**PRESENTA**

**Lic. Mariam Sardiñas Valdés**

**DIRECTOR**

**Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores**

**CO-DIRECTORES**

**Dr. Alfonso Juventino Chay Canul**

**Dr. Josafat Alberto Hernández Becerra**

Villahermosa, Tabasco

Junio de 2019



UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS AGROPECUARIAS



ASUNTO: El que se indica.

OFICIO: DACA-182

Villahermosa, Tabasco, a 16 de mayo de 2019

**C. MARIAM SARDIÑAS VALDÉS**  
**EGRESADA DE LA MAESTRIA EN CIENCIAS AGROALIMENTARIAS**  
**PRESENTE**

Por este conducto y de acuerdo a su solicitud de autorización de impresión de Tesis, informo a usted que sobre la base del Artículo 26 del reglamento de Posgrado de esta Universidad, esta Dirección a mi cargo, le **autoriza la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de Tesis titulada "**Propiedades sensoriales y capacidad antioxidante del queso tipo manchego elaborado con leche de oveja pelibuey y curcumina nanoemulsionada**"

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un saludo cordial.

ATENTAMENTE

PHD. ROBERTO ANTONIO CANTÚ GARZA  
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE  
CIENCIAS AGROPECUARIAS  
DIRECCIÓN

C.c.p.- Archivo.

Miembro CUMEX desde 2008  
Consortio de  
Universidades  
Mexicanas  
UNA ALIANZA DE CALIDAD POR LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km 25, Carret. Villahermosa-Teapa  
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México  
Tel. (+52 993) 358-15-85 y 142-9150

Correos electrónicos: [direccion.daca@ujat.mx](mailto:direccion.daca@ujat.mx), [daca.direccion@gmail.com](mailto:daca.direccion@gmail.com)

[www.ujat.mx](http://www.ujat.mx)

[www.facebook.com/ujat.mx](https://www.facebook.com/ujat.mx) | [www.twitter.com/ujat](https://www.twitter.com/ujat) | [www.youtube.com/UJATmx](https://www.youtube.com/UJATmx)

## CARTA DE AUTORIZACION

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el trabajo recepcional de tesis titulado: PROPIEDADES SENSORIALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL QUESO TIPO MANCHEGO ELABORADO CON LECHE DE OVEJA PELIBUEY Y CURCUMINA NONOEMULSIONADA. Del cual soy autor y titular de los derechos de autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de la tesis antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitativa para subirla a la red abierta de bibliotecas digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación y la institución.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en este documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, México a los 20 días del mes de Mayo de 2019.

**Atentamente**



---

**Lic. Mariam Sardiñas Valdés**  
**Pas. Maestría en Ciencias Agroalimentarias**

## DEDICATORIA

*A Dios*

*A mi mamá*

*A mi papá y Raudel*

*A mi abuela y abuelo*

*A mi esposo*

*A toda mi familia*

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## AGRADECIMIENTOS

*En primer lugar quiero dar gracias a Dios por su amor y misericordia, por brindarme paz, paciencia y fuerzas en los momentos difíciles y por hacer siempre su voluntad.*

*A mi mamá por su amor, apoyo y dedicación.*

*A mi abuela por estar siempre cuando la necesito, por su cariño y fiel cuidado.*

*A mi abuelo, que en paz descansa, por cuidarme desde niña como si fuera su hija.*

*A mi papá y a Raudel por su cariño y protección.*

*A mi esposo por apoyarme y cuidarme, por estar siempre ahí cuando lo necesité.*

*A toda mi familia y amistades.*

*Un agradecimiento especial a mi asesora la Dra. Angélica Alejandra Ochoa Flores por su dirección, paciencia y enseñanza.*

*Al Dr. Josafat Alberto Hernández Becerra, por su apoyo y dedicación, por su positividad y fuerte confianza.*

*Al Dr. Hugo Sergio García Galindo, Dr. Alfonso Juventino Chay Canul, M.C. Beatriz Agame, M.A. Ramiro Olivé López y a la M.S.P. Ana María Díaz Rodríguez por todo el apoyo brindado.*

*Al M.C. Mario Fernández Pérez y la Dra. Martha Alicia Perera García por su apoyo y disposición.*

*A la División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Tecnológica de Tabasco y al Instituto Tecnológico de Veracruz por los servicios brindados.*

*En fin, a todas las personas e instituciones que han estado involucradas, directa e indirectamente, en la realización de esta tesis de maestría, gracias.*

## RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar la composición bromatológica y las características sensoriales del queso tipo Manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey y curcumina nanoemulsionada. Se prepararon nanoemulsiones de curcumina por ultrasonicación y se evaluó su actividad antimicrobiana sobre el cultivo láctico a utilizar en la elaboración del queso. Se elaboraron quesos tipo manchego con curcumina nanoemulsionada (5, 7.5 y 10 ppm) y se determinó a diferentes tiempos de maduración (0, 20, 40, 60 y 80 días) su composición bromatológica; perfil de ácidos grasos por cromatografía de gases, previa extracción de los lípidos con cloroformo: metanol; capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP, y el contenido de fenoles por el método de Folin Ciocalteu; el grado de proteólisis mediante la determinación del contenido de nitrógeno soluble en agua, en citrato de sodio (pH 4.6), en ácido tricloroacético y en ácido fosfotúngstico; así como el análisis del color utilizando el espacio de color CIE, de coordenadas  $L^*$   $a^*$   $b^*$ . Las características sensoriales fueron evaluadas a los 60 días de maduración, a través de una prueba de nivel de agrado, con una escala hedónica de nueve puntos. Se observaron diferencias estadísticas en la humedad de los quesos, que disminuyeron con el tiempo, lo que corresponde a un aumento en los sólidos totales. Ácidos grasos: palmítico, oleico, esteárico y mirístico fueron los más abundantes en todos los quesos. Tanto los ácidos grasos de cadena corta como los de cadena larga mostraron una tendencia descendente a lo largo de la maduración. La capacidad antioxidante, el contenido de fenoles totales y la proteólisis aumentaron en todos los tratamientos durante la maduración. Los quesos mostraron una lipólisis progresiva hasta el día 40, a partir de ahí hubo una ligera disminución. Los parámetros evaluados en el color indicaron quesos verde-amarillos y menos luminosos. A los 60 días de maduración no se observaron diferencias significativas entre tratamientos con respecto a sus características fisico-químicas, pero sí en contenido de nitrógeno soluble y ácidos grasos libres, perfil lipídico y color. De acuerdo con los consumidores, la adición de curcumina nanoemulsionada al queso tipo manchego modificó su color, olor y apariencia y textura, pero no su aceptación global.

**Palabras clave:** composición bromatológica; capacidad antioxidante; propiedades sensoriales; ácidos grasos; proteólisis.

## ABSTRACT

The objective of the work was to evaluate the bromatological composition and sensory characteristics of Manchego cheese made with Pelibuey sheep's milk and nanoemulsified curcumin. Curcumin nanoemulsions were prepared by ultrasonication and their antimicrobial activity was evaluated on the lactic culture to be used in cheese making. Manchego type cheeses with nanoemulsified curcumin (5, 7.5 and 10 ppm) were elaborated and their bromatological composition was determined at different ripening times (0, 20, 40, 60 and 80 days); fatty acid profile by gas chromatography, after extraction of the lipids with chloroform: methanol; antioxidant capacity by the methods of DPPH and FRAP, and the content of phenols by the Folin Ciocalteu method; the degree of proteolysis by determining the content of soluble nitrogen in water, in sodium citrate (pH 4.6), in trichloroacetic acid and in phosphotungstic acid; as well as the color analysis using the CIE color space, of coordinates  $L^* a^* b^*$ . The sensory characteristics were evaluated at 60 days of ripening, through a taste level test, with a hedonic scale of nine points. Statistical differences were observed in the moisture of the cheeses, which decreased with time, which corresponds to an increase in the total solids. Fatty acids: palmitic, oleic, stearic and myristic were the most abundant in all cheeses. Both short-chain and long-chain fatty acids showed a downward trend throughout ripening. Antioxidant capacity, total phenol content and proteolysis increased in all treatments during ripening. The cheeses showed a progressive lipolysis until day 40, from there there was a slight decrease. The parameters evaluated in the color indicated yellow-green and less luminous cheeses. At 60 days of ripening, no significant differences were observed between treatments with respect to their physico-chemical characteristics, but in terms of soluble nitrogen and free fatty acids, lipid profile and color. According to consumers, the addition of nanoemulsified curcumin to Manchego type cheese modified its color, smell, appearance, flavor and texture, but not its overall acceptance.

**Keywords:** bromatological composition; antioxidant capacity; sensory properties; fatty acids; proteolysis.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	3
2.1. Alimentos funcionales.....	3
2.2. Leche de oveja.....	5
2.3. Queso tipo Manchego.....	7
2.4. Curcumina.....	9
2.5. Nanoemulsiones.....	12
2.6. Evaluación sensorial.....	15
III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	17
IV. LITERATURA CITADA.....	18
CAPÍTULO I. Efecto de curcumina nanoemulsionada en el contenido fenólico y capacidad antioxidante de queso tipo Manchego.....	30
CAPÍTULO II.Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin.....	62
V. CONCLUSIONES.....	98
VI. ANEXOS.....	99



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición comparativa de las leches de vaca, oveja y cabra .....	6
Capítulo I.	Efecto de curcumina nanoemulsionada en el contenido fenólico y capacidad antioxidante de Queso tipo Manchego	
Tabla 1.	Características físico-químicas de la leche de oveja Pelibuey utilizada en la elaboración de los quesos tipo Manchego adicionados con curcumina nanoemulsionad .....	54
Tabla 2.	Concentración de ácidos grasos en la grasa de la leche de oveja Pelibuey utilizada en la elaboración de los quesos tipo Manchego adicionados con curcumina nanoemulsionada .....	55
Tabla 3.	Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en la composición de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey .....	56
Tabla 4.	Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey ....	57
Tabla 5.	Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en la concentración de ácidos grasos, en g por cada 100 g de la grasa, de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey .....	58
Tabla 6.	Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en el color de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey	60
Tabla 7.	Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en las características sensoriales de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey .....	61

Capítulo II. Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin

Table 1. Basic chemical composition of the sheep's milk cheese at different stages of storages ..... 92

Table 2. Total phenolic compounds and antioxidant capacity (FRAP and DPPH) in sheep's milk cheese at different stages of storages ..... 93

Table 3. Color, in units of L\* a\* b\*, in sheep's milk cheese at different stages of storages ..... 94

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

## ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo II. Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin	
Figure 1. The proportion of fatty acid groups in Manchego cheese with respect to the ripening time and the food colour added; (a) saturated (SFA), (b) mono-unsaturated (MUFA), (c) polyunsaturated fatty acids (PUFA),(d) short-chain (SCFA), (e) medium-chain (MCFA), and (f) long-chain (LCFA), SCFA = C4; MCFA = C6–C12; LCFA = C14–C18. B = bixin, C = curcumin added .....	95
Figure 2. Lipolysis of Manchego cheese ripened at 10 °C, expressed as free fatty acids (FFAs). B = bixin, C = curcumin added .....	96
Figure 3. Proteolysis of Manchego cheese ripened at 10 °C, expressed as soluble nitrogen (SN); (a) in water (W-SN), (b) in sodium citrate at pH 4.6 (pH 4.6-SN), (c) in trichloroacetic acid (TCA-SN) and (d) in phosphotungstic acid (PTA-SN).B = bixin, C = curcumin added .....	97

## I. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de alimentos funcionales en los últimos años ha ido en aumento debido principalmente, al interés de la población por alimentos que no solo cumplan con la función nutricional, sino que tengan también un efecto benéfico en la salud, reduciendo así el riesgo a padecer diversas enfermedades y mejorando la calidad de vida (Cortés-Sánchez *et al.*, 2016; Holdt y Kraan, 2011).

La industria láctea ha tenido gran participación en el desarrollo de estos alimentos funcionales debido a que la leche presenta una composición muy compleja y expone diversas actividades biológicas (antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras) (Tidona *et al.*, 2011; Jirillo *et al.*, 2010; Santillán-Urquiza *et al.*, 2014). En la elaboración de los productos lácteos funcionales, la leche que mayormente se emplea es la de vaca, pero también puede utilizarse leche de oveja (Ribeiro, 2010).

La producción de estos derivados lácteos como queso y yogurt a partir de leche de oveja es limitada en muchos países, sin embargo, parece existir un mercado potencial de consumidores que adquieren estos productos importados de alto valor, debido a que la leche de oveja presenta un alto contenido de grasa y proteínas (FAO, 2016; García-Díaz *et al.*, 2012).

En México, por ejemplo, existen más de 40 variedades de quesos genuinos, donde algunos gozan de una amplia difusión, con altos volúmenes de producción, destacando el queso chihuahua, el tipo Manchego mexicano, el panela, asadero y el cotija (Villegas y Cervantes, 2011); esto se demuestra según datos reportados en el SIAP, donde el 9 % de las 65 mil 942 toneladas de quesos que se produjeron en el 2018, correspondía a la producción de queso tipo Manchego. Este queso es uno de los más apreciados por los consumidores mexicanos en todo el país, debido a que posee una textura suave y un sabor-aroma muy agradable (Villegas, 2003).

Para proporcionarle el color característico a este queso se utiliza un colorante llamado bixina. La bixina es un carotenoide que se encuentra en el annatto; pigmento que se

extrae de las semillas de la planta tropical *Bixa orellana* L. (Lourido y Martínez, 2010). Sin embargo pudiera utilizarse otro colorante para este queso a fin de proporcionarle cierta funcionalidad al mismo, tal es el caso de un compuesto bioactivo de color amarillo-naranja llamado curcumina, que se extrae de la planta cúrcuma (*Curcuma longa* L.) y del que se han reconocido sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitumorales y anticarcinogénicas, (Li *et al.*, 2011); así como su potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas, inmunológicas, inflamatorias y el cáncer (Akram *et al.*, 2010).

La actividad biológica de muchos compuestos bioactivos (entre ellos la curcumina) es relativamente baja, debido a su inestabilidad química, mala absorción o baja bioaccesibilidad (Moelants *et al.*, 2012), por lo que ha sido necesario el desarrollo de nanoemulsiones como una alternativa para aumentar la biodisponibilidad de estos componentes bioactivos (Cavazos-Garduño *et al.*, 2015). Estas nanoemulsiones presentan ventajas sobre otros sistemas debido a su capacidad para incorporar ingredientes hidrofílicos, anfifílicos y/o lipofílicos (Salvia-Trujillo *et al.*, 2016; McClements, 2011), su alta estabilidad física, alta claridad óptica, no toxicidad, rápida digestibilidad y bioaccesibilidad (Ochoa *et al.*, 2016; Cavazos-Garduño *et al.*, 2014).

Cuando estos compuestos bioactivos son añadidos a los alimentos, no se conoce el efecto que puede ocasionar en los atributos sensoriales. Es por ello que es necesario el empleo de un análisis sensorial para poder medir, analizar e interpretar las reacciones que ocurren en los alimentos y que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto, y oído (Lawless y Heymann, 2010); conociendo así el nivel de agrado o desagrado que provoca la adición de este compuesto bioactivo (curcumina) y cómo influye en la maduración del queso tipo Manchego.

## II. ANTECEDENTES

### 2.1. Alimentos funcionales

El desarrollo de alimentos funcionales en los últimos años ha ido en aumento debido principalmente, al interés de la población por alimentos que no solo cumplan con la función nutricional, sino que tengan también un efecto benéfico en la salud, reduciendo así el riesgo a padecer diversas enfermedades y mejorando la calidad de vida (Cortés-Sánchez *et al.*, 2016; Holdt y Kraan, 2011).

Los alimentos funcionales son alimentos que brindan beneficios al organismo adicional a una nutrición adecuada para mejorar salud y bienestar o reducir el riesgo de enfermedad, o ambos. Para clasificarse como alimentos funcionales, los alimentos deben permanecer como alimentos en lugar de pastillas o cápsulas y deben demostrar sus efectos en cantidades que normalmente puedan ser consumidos en la dieta (Ozen *et al.*, 2012). Todos los alimentos con ingredientes biológicamente activos se consideran funcionales debido a su asociación con beneficios fisiológicos para la salud relacionados con la prevención de varias enfermedades crónicas (Alkhatib *et al.*, 2017). De acuerdo con el Consejo de Alimentación y Nutrición de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos los alimentos funcionales se definen como "alimentos modificados o que contienen ingredientes que demuestren acciones que incrementan el bienestar del individuo o que disminuyen los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los ingredientes que contienen" (Hasler *et al.*, 2009).

En 1991, Japón legaliza la comercialización de alimentos con propiedades saludables colocándolos bajo la denominación de "FOSHU" (Food for Specified Health Use). El primer alimento FOSHU correspondió a una especie de arroz de consumo masivo, en el que se eliminó por hidrólisis enzimática una proteína causante de alergia cutánea, obteniéndose un nuevo producto inmunológicamente seguro y saludable (Durán y Valenzuela, 2010).

Según Greca *et al.* (2012) y Vasto *et al.* (2014) los alimentos funcionales presentes en la dieta mediterránea que contienen polifenoles, terpenoides, flavonoides, alcaloides, esteroides, pigmentos y ácidos grasos insaturados desempeñan un papel importante en el mantenimiento del bienestar y contribuyen a prevenir el cáncer, la depresión, la diabetes mellitus tipo 2, la obesidad, el asma y el deterioro cognitivo. En el estudio realizado por Baboota *et al.* (2013) también subrayan el papel, la importancia y el desarrollo de alimentos nutracéuticos y funcionales que contienen polifenoles, fibras dietéticas, proteínas y prebióticos, en el alivio de la obesidad y las complicaciones asociadas.

Entre los distintos sectores, el de los productos lácteos es uno de los que más ha cambiado por la introducción de nuevos productos con características saludables, probablemente por la facilidad de incorporación de ingredientes a esta matriz alimentaria (Jiménez *et al.*, 2012). A los ya tradicionales, como los desnatados o con características probióticas, se ha añadido, en los últimos años, una amplia gama de leches fermentadas de carácter probiótico, de yogures y de leche con distintos principios bioactivos adicionados (Granato *et al.*, 2010).

Cabe mencionar la asociación que existe entre la salud y el consumo de queso como un factor importante para ser considerado en la industria láctea ya que los quesos contienen lípidos, proteínas, minerales y vitaminas. Un ejemplo son las fracciones de grasa de la leche que poseen efecto antioxidante, lo que contribuye a la reducción del riesgo de enfermedades (Terpou *et al.*, 2017).

Los productos lácteos podrían considerarse por sí solos alimentos funcionales. Numerosos estudios han demostrado una relación entre el consumo de productos lácteos, en particular de algunos de sus constituyentes, y una reducción de la diabetes. Los estudios estadísticos han encontrado que los sujetos que recibieron mayores cantidades de productos lácteos dentro de su dieta disminuyeron el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 por un promedio del 14 % (Tong *et al.*, 2011; Da Silva y Rudkowska, 2014). Además, Sluijs *et al.* (2012) sugieren que un mayor consumo de queso tiende a asociarse inversamente con el riesgo de padecer diabetes. Por su parte, Malik *et al.* (2011) demostraron que un mayor consumo de productos lácteos durante la

adolescencia se asocia significativamente con un riesgo reducido de la diabetes tipo 2 en la edad adulta; hallazgo que se observó en estudios previos (Pittas *et al.*, 2007; Tremblay y Gilbert, 2009) realizados en adultos, que mostraron asociaciones inversas entre la ingesta de productos lácteos y la diabetes tipo 2. La literatura reciente sugiere que los ácidos grasos contenidos en los productos lácteos pueden desempeñar un papel potencial en la prevención de la diabetes (Krachler *et al.*, 2008; Mozaffarian *et al.*, 2010; Sluijs *et al.*, 2012). Además, los productos lácteos son ricos en calcio, vitamina D y magnesio, todos los componentes que pueden ejercer una función protectora contra la diabetes (Pittas *et al.*, 2007; Schulze *et al.*, 2007).

Los estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de productos lácteos puede estar asociado con una reducción del 13 % del riesgo a padecer de hipertensión (Ralston *et al.*, 2012; Da Silva y Rudkowska, 2014). El contenido de calcio y vitamina D, así como algunos péptidos de la leche, pueden ejercer un efecto beneficioso sobre la presión sanguínea al inhibir la enzima convertidora de angiotensina, que modula la función endotelial (Jauhiainen y Korpela, 2007).

Warensjö *et al.* (2004) reportaron una asociación inversa entre la ingesta de grasas de los productos lácteos y los factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares que incluyen triglicéridos, colesterol total e insulina en el suero durante el ayuno. Una posible explicación puede ser que la ingesta de la grasa láctea reduce el riesgo de infarto de miocardio a través de un mecanismo que implica la reducción de grasas y triglicéridos, y mejora la salud metabólica.

Perego *et al.* (2012) demostraron que los fosfopéptidos de caseína derivados de los productos lácteos pueden prevenir la insurgencia de cáncer de colon, protegiendo células intestinales diferenciadas a partir de la toxicidad por sobrecarga de calcio y previenen su apoptosis, favoreciendo la proliferación mientras inducen apoptosis en células tumorales no diferenciadas.

## **2.2. Leche de oveja**

La leche ha estado presente en la dieta humana por miles de años y, muy probablemente, debido a esto también los productos lácteos ocupan un espacio



significativo y creciente del mercado de los alimentos funcionales y fortificados (Barlowska *et al.*, 2011; Santillán-Urquiza *et al.*, 2014). Además, debido a su compleja composición, la leche expone diversas actividades biológicas, como por ejemplo sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras (Jirillo *et al.*, 2010; Tidona *et al.*, 2011). Recientemente, la atención se ha centrado en sus proteínas bioactivas como lactoferrina, lactoperoxidasa, lisozima,  $\beta$ -lactoglobulina o  $\alpha$ -lactoalbumina, como fuentes de antioxidantes (Power *et al.*, 2012).

La leche empleada mayormente en la elaboración de los lácteos procede del ganado bovino, aunque también puede emplearse leche procedente de otros mamíferos tales como la cabra o la oveja (Ribeiro, 2010).

Las características físico-químicas de la leche están relacionadas con su composición, la que difiere para cada especie animal en particular, por ejemplo, la leche de oveja contiene altos niveles de nutrientes (proteína, caseína, grasa, Ca, Mg y P) en comparación con la leche de vaca y cabra (Park *et al.*, 2007; Silanikove *et al.*, 2015; Balthazar *et al.*, 2017). Además, en su composición, están presentes lípidos simples (diacilgliceroles, monoacilgliceroles, ésteres de colesterol), lípidos complejos (fosfolípidos), compuestos liposolubles (esteroles, ésteres de colesterol, hidrocarburos) y es una rica fuente de isómeros biológicamente activos de ácido oleico y ácido linoleico conjugado (Park *et al.*, 2007). A continuación se muestra una comparación entre la composición de las leches de vaca, oveja y cabra (Tabla 1).

Tabla 1. Composición comparativa de las leches de vaca, oveja y cabra

	Grasa %	Proteína %	Lactosa %	Sales %
Vaca	3.95	3.3	4.8	0.7
Oveja	5-10	4.5-7	5-4.2	0.8
Cabra	4.3	3.4	4.4	0.7

Fuente: (Scholz, 2005)

De acuerdo con Haenlein y Wendorff (2006), la leche de oveja presenta mayor gravedad específica, viscosidad y acidez titulable, pero menor índice de refracción y punto de congelación que la leche de vaca. Así también, sus niveles de ácidos grasos metabólicamente valiosos de cadena media: caproico, caprílico, cáprico y láurico, así como su contenido mineral y vitamínico, son significativamente más altos que en la leche de vaca (Park *et al.*, 2007).

En comparación con los productos lácteos bovinos, los productos lácteos ovinos son reconocidos por su mayor contenido de ácidos grasos considerados beneficiosos para la salud humana (Sinclair, 2007). Aunque el perfil de ácidos grasos de la leche de oveja depende, además de las características genéticas y fisiológicas del ovino, también de su sistema de alimentación (De La Fuente *et al.*, 2009). De los ácidos grasos presentes en la leche de oveja, se encuentran los ácidos grasos poliinsaturados linoléico e isómeros del ácido linoleico conjugado (Dilzer y Park, 2012; Shingfield *et al.*, 2013).

La leche de oveja es rara vez consumida como producto fresco, por lo que estos efectos beneficiosos serían aprovechados por el consumo de los productos elaborados a partir de la misma, especialmente el queso (Prandini *et al.*, 2007; Buccioni *et al.*, 2010; Balthazar *et al.*, 2017).

### **2.3. Queso tipo Manchego**

El queso manchego es la variedad de queso más importante fabricada en España con leche de oveja en la región de La Mancha, bajo condiciones reguladas por una Denominación de Origen (Pavia *et al.*, 2000). El mismo, presenta una estructura muy compleja y un sabor característico, debido a los compuestos que se producen principalmente como consecuencia de los cambios bioquímicos durante su maduración y que contribuyen a su sabor (Gómez-Ruiz *et al.*, 2007). Es un queso curado, semiduro, no cocido, prensado, grasoso, altamente poroso, con ojos de pequeño tamaño que se forman durante el proceso de fermentación (Conde *et al.*, 2008). Por su parte, el queso tipo Manchego se produce regularmente, siguiendo el método original español, pero utilizando tanto leche de oveja como leche de vaca (Pavia *et al.*, 2000).

México también cuenta con altos volúmenes producidos de queso, existen más de 40 variedades de quesos genuinos y algunos gozan de una amplia difusión, por ejemplo, el queso chihuahua, el tipo Manchego mexicano, el panela, el asadero y el cotija (Villegas y Cervantes, 2011). Según el (SIAP, 2018) al concluir marzo de 2018, la industria de quesos produjo 65 mil 942 toneladas, entre ellos destacan el queso panela (12 %), chihuahua (10.1 %) y el tipo Manchego (9 %); y según el INEGI, (2017) en México se producen 32,630 toneladas de queso tipo Manchego por año. La mayor parte de los tipos genuinos de quesos mexicanos son elaborados con leche cruda por queseros artesanales en ranchos, pueblos y ciudades pequeñas (Villegas, 2003); soliendo producirse a partir de leche de vaca, aunque algunas variedades se producen a partir de leches de oveja y de cabra, o de una mezcla de éstas (Rodríguez- Nogales y Vázquez, 2007; Cervantes-Escoto *et al.*, 2008).

En México, el queso tipo Manchego es un queso elaborado con leche entera de vaca, pasteurizada y adicionada con fermentos lácticos mesófilos tales como *Lactococcus* subespecies *lactis* y *cremoris*. Puede clasificarse como un queso de pasta semidura prensada, no cocida, tajable y madurada, de un color amarillo pálido atractivo, una textura suave y un sabor y aroma muy agradables (Villegas, 2003). Este queso comparte con el queso Manchego español semejanzas en la forma cilíndrico-plana, el peso de 2 a 5 kg y el tipo de pasta, pero difiere en el período de maduración, pues el mexicano sufre una maduración ligera que no va más allá de 2 a 3 semanas, mientras que el español se madura durante varios meses, incluso hasta seis. Es uno de los quesos más apreciados por los consumidores mexicanos en todo el país, sobre todo en el medio urbano (Villegas, 2003).

De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-462-1984, el queso tipo Manchego es el producto que se obtiene a partir de leche pasteurizada entera de vaca, sometida a procesos de coagulación, cortado, desuerado, fermentado, salado, prensado y madurado, durante un periodo mínimo de 7 días a temperatura y humedad controladas; sin que hayan empleado en su elaboración grasas o proteínas no provenientes de la leche.

Un aspecto muy importante a tener en cuenta en la fabricación de este queso es su maduración, la cual es un proceso bioquímico bastante complejo y lento (Fox, 1989) que involucra tres reacciones básicas a partir de la glucólisis, lipólisis y proteólisis (Mcsweeney, 2004), siendo la proteólisis la reacción principal que tiene lugar durante toda la maduración del queso (Poveda *et al.*, 2016; Ceruti *et al.*, 2012) y factor clave para promover su diversidad de textura y sabor (McCarthy *et al.*, 2017).

#### **2.4. Curcumina**

Dentro de la diversidad de plantas que se utilizan en la industria de los alimentos como colorantes y conservantes, se encuentra la cúrcuma (*Curcuma longa* L.) (Wang *et al.*, 2012), miembro de la familia del jengibre (Zingiberaceae), y es nativa del sur de Asia, donde es utilizada como una especia (Kunnumakkara *et al.*, 2017). Sus múltiples aplicaciones incluyen dar sabor a los alimentos (Zaman y Akhtar, 2013) y, en los últimos años, varios estudios bioquímicos y farmacológicos han evaluado sus efectos benéficos para aliviar diferentes trastornos de la salud (Di Martino *et al.*, 2017; Košťálová *et al.*, 2013).

Esta planta ha sido usada en multitud de sistemas de medicina tradicional para aliviar problemas digestivos, como un antiinflamatorio, en uso tópico por su capacidad de cicatrización (Taylor y Leonard, 2011) y en el tratamiento de cólicos, dolores de muelas, dolores en el pecho, problemas ginecológicos y dificultades menstruales (Lal 2012; Gupta *et al.*, 2013b). Según Andrew e Izzo (2017), la cúrcuma es uno de los suplementos dietéticos más populares en el mundo. De acuerdo con una revisión sistemática por Sahebkar y Henrotin (2016), la curcumina parece ser efectiva al aliviar el dolor y fue bien tolerada en todos los ensayos clínicos aleatorizados. Se ha demostrado que la suplementación con cúrcuma reduce el dolor y la inflamación en pacientes con artritis (Daily *et al.*, 2016). El aceite de cúrcuma ha sido probado contra modelos de infecciones oculares y gingivales (Singh *et al.*, 2015), donde se obtuvieron resultados exitosos en comparación con las terapias contemporáneas que utilizan antibióticos.

La cúrcuma tiene más de 300 componentes biológicamente activos como polifenoles, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenoides, esteroides y alcaloides (Prasad *et al.*, 2011). Los curcuminoides, los compuestos fenólicos derivados de la cúrcuma, son responsables de su color amarillo. Los tres curcuminoides principales son curcumina, desmetoxicurcumina y bis-desmetoxicurcumina (Akram *et al.*, 2010).

La curcumina (diferuloiimetano), el polifenol más activo en la cúrcuma, es un curcuminoides de bajo peso molecular. Se caracterizó químicamente por primera vez en 1910 y comprende el 2-8 % de la mayoría de la cúrcuma (Sharma *et al.*, 2005). Es un compuesto de color amarillo-naranja del cual se han reconocido sus propiedades antioxidantes, antivirales, antibacterianas, antifúngicas, antiparasitarias, antitumorales, antiinflamatorias y anticancerígenas; así como su potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas, inmunológicas, inflamatorias y el cáncer (Gupta *et al.*, 2013b; Akram *et al.*, 2010).

De acuerdo Singletary (2010), la curcumina tiene varios efectos medicinales, como la reducción de la inflamación en casos de artritis, la prevención de arteriosclerosis, desórdenes respiratorios y gastrointestinales, de afecciones de la piel como psoriasis o eczemas, efecto hepatoprotector, prevención de cáncer, entre otras.

La curcumina es un poderoso antioxidante que influye sobre la expresión de enzimas relacionadas con procesos redox, capaces de neutralizar las especies reactivas de oxígeno (Grynkiewicz y Slifirski, 2012; Witkin y Li, 2013). En un trabajo realizado por Biswas *et al.* (2010), se evaluó el efecto del consumo de curcumina contra los efectos genotóxicos del arsénico presente en agua subterránea contaminada. Estos autores reportan que las muestras de sangre de las personas contaminadas con esta agua, presentaron daño severo en su ADN, con niveles altos de EOR (especies de oxígeno reactivo) y peroxidación lipídica. Sin embargo, después de tres meses del consumo de curcumina, el daño en su ADN se redujo, así como la presencia de EOR y la peroxidación lipídica, incrementándose sus niveles de actividad antioxidante.

De acuerdo con Lima *et al.* (2011), la curcumina induce la respuesta al estrés celular en fibroblastos de piel humana normal, a través de la ruta del fosfatidil inositol-3-quinasa/

Akt y señales redox, estimulando las defensas antioxidantes celulares, lo cual puede ser un acercamiento a la terapia antienvjecimiento.

Diversos estudios mencionan también que la curcumina protege las neuronas dopaminérgicas (línea celular humana SH-SY5Y) de la toxicidad inducida por 6-hidroxidopamina, reduce la producción de especies reactivas de oxígeno y la apoptosis mediada por la fosforilación de la proteína p53 (Jaisin *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2010). Lo anterior resulta prometedor para contrarrestar el estrés oxidativo, que desempeña una función importante en la patogénesis de la enfermedad de Parkinson (Mythri y Bharath, 2012).

Por otra parte, en un estudio realizado en ratas diabéticas se demostró que la curcumina exhibe efectos neuroprotectores contra el daño oxidativo en el cerebro (Acar *et al.*, 2012). En su estudio, Farkhondeh y Samarghandian (2016) mencionan que la curcumina posee efectos protectores contra agentes tóxicos en diversos tejidos, incluyendo el hígado.

Varios estudios han documentado el papel de la curcumina en la prevención y el tratamiento de diversos cánceres, incluidos los gastrointestinales, respiratorios, linfáticos, la piel y el sistema reproductivo (Shanmugam *et al.*, 2015). La curcumina es capaz de inhibir la actividad enzimática de la ciclooxigenasa-2 (COX- 2), responsable del proceso inflamatorio relacionado con una de las causas del desarrollo del cáncer, al liberar potentes radicales libres que inducen tanto a la división celular como a la mutación, por lo que la actividad anti-inflamatoria de la curcumina juega un papel importante en el tratamiento del cáncer (Wilken *et al.*, 2011). Cao *et al.* (2014) demostraron que la curcumina puede ser un objetivo potencial para inhibir el crecimiento celular e inducir la apoptosis en el carcinoma gástrico. La curcumina se ha utilizado en diferentes ensayos clínicos; para el tratamiento de cáncer de páncreas (Swamy *et al.*, 2008), mieloma múltiple (Milacic *et al.*, 2008; Jiao *et al.*, 2009), enfermedad de Alzheimer (Wang *et al.*, 2005) y cáncer colorrectal (Half y Arber, 2009) y se conoce que induce la apoptosis y bloquea la progresión del cáncer de cervical (Yoonsungnoen-Chintana *et al.*, 2014).

Además de su notable capacidad para prevenir el cáncer, la curcumina ha mostrado capacidad para evitar su metástasis, propagación de las células cancerosas hacia otras partes del cuerpo (Gallardo y Calaf, 2016); y ha logrado incrementar la sensibilidad de las células cancerosas ante algunos de los fármacos utilizados contra la enfermedad, o ante las radiaciones utilizadas durante el tratamiento (Darvesh *et al.*, 2012).

La curcumina generalmente es considerada como segura por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (FDA) (Epstein *et al.*, 2010; Zheng *et al.*, 2018).

La seguridad y la tolerabilidad de la curcumina a altas dosis en humanos fueron evaluados por varios ensayos clínicos y sugieren que la ingesta dietética de cúrcuma hasta 1.5 g por día, igual a aproximadamente 150 mg por día de curcumina, es bien tolerada en humanos (Eigner y Sholz, 1999). Otros estudios afirmaron que las dosis orales de curcumina de hasta 8 y 12 g por día eran seguros y bien tolerados en pacientes con cáncer de páncreas y voluntarios sanos, respectivamente (Lao *et al.*, 2006; Dhillon *et al.*, 2008; Kanai *et al.*, 2011).

## **2.5. Nanoemulsiones**

La actividad biológica de muchos compuestos bioactivos que se encuentran en los productos naturales es relativamente baja debido a su inestabilidad química, mala absorción o baja bioaccesibilidad (Moelants *et al.*, 2012). Por lo que gran parte de la investigación relacionada con estos compuestos se ha centrado en el diseño de sistemas que faciliten su incorporación y accesibilidad desde las diferentes formulaciones alimenticias, nutracéuticas, farmacéuticas, cosméticas o agronómicas (Safari y Zarnegar, 2014).

Algunas de las tecnologías que han sido propuestas para mejorar la biodisponibilidad oral y la eficacia terapéutica de la curcumina son: el uso de dispersiones sólidas (Onoue *et al.*, 2010; Chuah *et al.*, 2014), nanopartículas (Shaikh *et al.*, 2009), complejos de fosfolípidos (Maiti *et al.*, 2007) liposomas (Gupta *et al.*, 2013a; Prasad *et al.*, 2014) y nanoemulsiones (Ahmed *et al.*, 2012; Yu y Huang, 2012). Las nanoemulsiones son dispersiones termodinámicamente estables que pueden ser fácilmente fabricadas

mediante emulsificación, en las que al controlar el tamaño de la gota se puede incrementar la solubilidad y la efectividad del compuesto bioactivo (Sosnik *et al.*, 2010). Debido a su pequeño tamaño de gota, los componentes en ellas solubilizados pueden ser transportados fácilmente a través de la membrana celular, aumentando su concentración en la sangre (Crețu *et al.*, 2011).

La investigación y el desarrollo de nanoemulsiones para aumentar la biodisponibilidad de los componentes bioactivos se ha incrementado considerablemente en los últimos años, al presentar ventajas sobre otros sistemas, como su capacidad para incorporar ingredientes hidrofílicos, anfifílicos y/o lipofílicos, su alta estabilidad física, alta claridad óptica, no toxicidad, rápida digestibilidad y bioaccesibilidad (Ochoa *et al.*, 2016; Salvia-Trujillo *et al.*, 2016; Cavazos-Garduño *et al.*, 2015; Cavazos-Garduño *et al.*, 2014; McClements, 2011).

Una de las principales barreras para el uso clínico de la curcumina ha sido su baja biodisponibilidad. Estudios realizados en modelos murinos, han demostrado que la curcumina se metaboliza rápidamente, se conjuga en el hígado y se excreta por las heces, teniendo por tanto una limitada biodisponibilidad (Hassaninasab *et al.*, 2011; Gryniewicz y Slifirski, 2012; Dulbecco y Savarino, 2013; Prasad *et al.*, 2014). Según Gutierrez *et al.* (2015) la biodisponibilidad oral estimada de la curcumina en sistemas murinos es meramente 0.47 % sugiriendo que pueden requerirse dosis irrazonablemente grandes in vivo para lograr una respuesta clínica deseada. Por ello, se han desarrollado diferentes formulaciones de nanocurcumina con potencial tecnológico para mejorar su biodisponibilidad en el tratamiento de enfermedades como el cáncer (Yallapu *et al.*, 2012).

De acuerdo con Ganta *et al.* (2010), la combinación de paclitaxel y curcumina, administradas en nanoemulsiones, mejoró su biodisponibilidad oral y su eficacia terapéutica sobre el adenocarcinoma ovárico humano. Por su parte, Liu y Chang (2011), desarrollaron microemulsiones de eucaliptol, polisorbato 80, etanol y agua, como vehículo para la administración transdérmica de curcumina en el tratamiento de enfermedades de la piel como esclerodermia, psoriasis y cáncer de piel.



Sasaki *et al.* (2011), desarrollaron con éxito una curcumina altamente biodisponible, dispersada en nanopartículas coloidales, denominadas THERACURMIN; evaluaron la eficacia en su absorción, en comparación con la de curcumina en polvo, observando que el área bajo la curva de concentración sanguínea contra tiempo (AUC), después de su administración oral en ratas, fue 40 veces mayor que para la curcumina en polvo. Realizando el mismo experimento en voluntarios humanos sanos, administrando por vía oral 30 mg de THERACURMIN y de curcumina en polvo, el AUC de THERACURMIN fue 27 veces mayor que el obtenido para curcumina en polvo. Además, THERACURMIN exhibió una acción inhibitoria contra la intoxicación alcohólica después de beber en seres humanos, lo que se evidenció por la concentración reducida de acetaldehído en la sangre.

Joung *et al.* (2016), prepararon nanoemulsiones de curcumina mediante homogeneización a alta presión, agregándolas a leche como sistema modelo; encontrando que la leche adicionada con las nanoemulsiones de curcumina mostró una oxidación lipídica significativamente menor a la leche no adicionada con curcumina, concluyendo que las nanoemulsiones de curcumina podrían ser de utilidad en el desarrollo de bebidas lácteas.

Hu *et al.* (2018) prepararon un nuevo polvo de nanoemulsión de curcumina sólida soluble utilizando tecnología de secado por aspersion. Los resultados indicaron que el secado por aspersion en combinación con la nanoemulsión fue una metodología poderosa para mejorar la velocidad de disolución y biodisponibilidad oral de la curcumina.

Rachmawati *et al.* (2015) desarrollaron una nanoemulsión de curcumina para el suministro transdérmico. La nanoemulsión fue más estable que la curcumina no encapsulada. El sistema de nanoemulsión desarrollado no solo mejoró la permeabilidad de la curcumina, sino también protege a la curcumina de la degradación química.

Zheng *et al.* (2018) elaboraron nanoemulsiones de curcumina utilizando tres métodos: el método convencional de carga de aceite; el método accionado por calor; y el método impulsado por el pH. Se determinó la eficiencia de encapsulación de la curcumina en

las tres nanoemulsiones presentando el siguiente orden: impulsado por pH (93 %)> impulsado por calor (76 %)>método convencional (56%). Las diferentes formulaciones de curcumina fueron luego sometidas a modelo simulado de tracto gastrointestinal, donde presentaron valores de bioaccesibilidad de curcumina bastante similares (74-79 %) pero la cantidad absoluta de curcumina en la fase de micelas mixtas fue mayor para el método de pH impulsado.

Rachmawati *et al.* (2016) evaluar la capacidad de la nanoemulsión para mejorar la actividad de la curcumina como un agente antihipertensivo y antihipercolesterolémico. La curcumina encapsulada en la nanoemulsión mostró una actividad significativa para reducir el colesterol en comparación con un fármaco estándar. Por lo tanto, concluyeron que la curcumina no muestra efectos inhibitorios de la enzima convertidora de angiotensina, pero tiene un uso potencial como compuesto terapéutico alternativo para tratar la hiperlipidemia.

## **2.6. Evaluación sensorial**

Los sentidos son algo innato al hombre. Cuando probamos un alimento por primera vez, establecemos, de manera casi inconsciente, un juicio sobre ese alimento. El análisis sensorial es la disciplina científica utilizada para medir, analizar e interpretar las reacciones a aquellas características que son percibidas por los sentidos de la vista, olfato, gusto, tacto, y oído (Lawless y Heymann, 2010).

La tecnología de alimentos hace uso de la evaluación sensorial por medio de pruebas realizadas a grupos focales, que expresan sus preferencias o grado de aceptación del alimento evaluado (Vergara *et al.*, 2011). Según Espinosa (2007) podemos encontrar tres tipos de pruebas para el análisis sensorial: afectivas, descriptivas y discriminativas.

La adición de cúrcuma a los alimentos ha sido evaluada también sensorialmente, esto se manifiesta en el estudio realizado por Park *et al.* (2012) donde examinaron los efectos de la adición de polvo de cúrcuma (0 %, 2 %, 4 %, 6 % y 8 %) para obtener un pastel enriquecido con antioxidantes con buenas propiedades físico-químicas y sensoriales. La torta que contenía el mayor porcentaje de polvo de cúrcuma (8 %), fue inaceptable por evaluación sensorial, sin embargo una sustitución del 6 % de la harina

de trigo con polvo de cúrcuma mostró puntuaciones sensoriales aceptables que eran comparables a las de 0 a 4 % de tortas de cúrcuma, lo que indicó que hasta el 6% del polvo de cúrcuma puede ser incluido en la formulación de la torta.

Por otra parte los quesos también son objeto de evaluación sensorial. En una investigación realizada por Paul *et al.* (2014) se estudiaron los efectos de la proteólisis en cuatro marcas diferentes de queso Chihuahua mexicano, hechos con leche cruda. Se analizaron las características químicas y sensoriales de todos los quesos, donde las pruebas sensoriales mostraron que se generaron sabores a quesos jóvenes, básicos y con ligeras notas amargas. La evaluación sensorial se llevó a cabo mediante una escala universal de intensidad de 15 puntos Spectrum TM para identificar y anotar el sabor del queso, en la que participaron seis panelistas.

Por otra parte, Lobato-Calleros *et al.* (2001) prepararon quesos Manchego de bajo contenido graso (15 g de grasa / L de leche) con tres sustitutos comerciales de grasa, que consistían en pectina baja en metoxilo, concentrado de proteína de suero de leche y proteína de suero microparticulada. Los resultados arrojaron que no se encontraron diferencias significativas en las características sensoriales (textura y sabor) entre el queso de control de grasa total y el queso que incorpora concentrado de proteína de suero de leche, las cuales fueron demostradas mediante el empleo de una prueba triangular.

En otro estudio realizado por Ochoa *et al.* (2013), se evaluó el efecto de la adición de los estabilizantes pectina, carragenina, grenetina y goma guar en la retención de humedad, firmeza, aceptación sensorial y rendimiento del queso fresco tipo panela. La evaluación sensorial se llevó a cabo con 111 jueces afectivos, 56 mujeres y 55 hombres, su edad promedio fue de 22.3 años, con una desviación estándar de 5.4 años y se realizó mediante una prueba de aceptación con una escala hedónica de 9 puntos. En comparación con el control, los quesos adicionados con estabilizantes presentaron mayor nivel de agrado ( $P < 0.05$ ), no encontrándose diferencia significativa en la aceptación de los quesos adicionados con estabilizantes; sin embargo, se observó una tendencia de mayor aceptación para el queso adicionado con 0.050 % de carragenina.

### III. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

#### OBJETIVO GENERAL

Evaluar las propiedades sensoriales y la capacidad antioxidante del queso tipo Manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey y curcumina nanoemulsionada.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los componentes bromatológicos, perfil lipídico, fenoles totales y capacidad antioxidante de la leche de oveja Pelibuey.
- Evaluar el efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada sobre los componentes bromatológicos, el perfil lipídico, fenoles totales y capacidad antioxidante del queso tipo Manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey.
- Evaluar las propiedades sensoriales del queso tipo Manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey y curcumina nanoemulsionada.

#### HIPÓTESIS

La adición de curcumina nanoemulsionada al queso tipo Manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey potenciará su capacidad antioxidante sin alterar sus atributos sensoriales.

#### IV. LITERATURA CITADA

- Acar, A., Akil, E., Alp, H., Evliyaoglu, O., Kibrisli, E., Inal, A., Unan, F., Tasdemir, N. (2012). Oxidative damage is ameliorated by curcumin treatment in brain and sciatic nerve of diabetic rats. *International Journal of Neuroscience*, 122(7): 367-372.
- Ahmed, K., Yan, L., McClements, D.J., Xiao, H. (2012). Nanoemulsion-and emulsion-based delivery systems for curcumin: Encapsulation and release properties. *Food Chemistry*, 132(2): 799-807.
- Akram, M., Shahab, U., Afzal, A., Usmanghani, K., Abdul, E., Mohiuddin, M. (2010). Curcuma Longa L. and Curcumin: A review article. *Romanian Journal of Biology-Plant Biology*, 55(2): 65-70.
- Alkhatib, A., Tsang, C., Tiss, A., Bahorun, T., Arefanian, H., Barake, R., Khadir, A., Tuomilehto, J. (2017). Functional Foods and Lifestyle Approaches for Diabetes Prevention and Management. *Nutrients*, 9(12): 1310-1328.
- Andrew, R., Izzo, A.A. (2017). Principles of pharmacological research of nutraceuticals. *British Journal of Pharmacology*, 174(11): 1177–1194.
- Babootaa, R.K., Bishnoia, M., Ambalamb, R., Kondepudia, K.K., Sarmaa, S.M., Boparaic, R.K., Podilid, K. (2013). Functional food ingredients for the management of obesity and associated co morbidities – A review. *Journal of Functional Foods*, 5(3): 997-1012.
- Balthazar, C.F., Pimentel, T.C., Ferrão, L.L., Almada, C.N., Santillo, A., Albenzio, M., Mollakhalili, N., Mortazavian, A.M., Nascimento, J.S., Silva, M.C., Freitas, M.Q., Sant'Ana, A.S., Granato, D., Cruz, A.G. (2017). Sheep milk: physicochemical characteristics and relevance for functional food development. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(2): 247-262.
- Barlowska, J., Szwajkowska, M., Litwinczuk, Z., Krol, J. (2011). Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10(6): 291–302.
- Biswas, J., Sinha, D., Mukherjee, S., Soumi, R., Siddiqi, M., Roy, M. (2010). Curcumin protects DNA damage in a chronically arsenic-exposed population of West Bengal. *Human & Experimental Toxicology*, 29 (6): 513-24.
- Buccioni, A., Rappacini, S., Antongiovanni, M., Minieri, S., Conte, G., Mele, M. (2010). Conjugated linoleic acid and C18:1 isomers content in milk fat of sheep and their transfer to pecorino Toscano cheese. *International Dairy Journal*, 20(3): 190–194.

- Cao, A., Tang, Q., Zhou, W., Qiu, Y., Hu, S., Yin, P. (2014). Ras/ERK signaling pathway is involved in curcumin-induced cell cycle arrest and apoptosis in human gastric carcinoma AGS cells. *Journal of Asian Natural Products Research*, 17(1): 56-63.
- Cavazos-Garduño, A., Ochoa-Flores, A.A., Serrano-Niño, J.C., Beristain, C.I., García, H.S. (2014). Operating and compositional variables for preparation of betulinic acid nanoemulsions. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(3): 689-703.
- Cavazos-Garduño, A., Ochoa-Flores, A.A., Serrano-Niño, J.C., Martínez-Sánchez, C.E., Beristain, C.I., García, H.S. (2015). Preparation of betulinic acid nanoemulsions stabilized by  $\omega$ -3 enriched phosphatidylcholine. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24(1): 204-213.
- Ceruti, R.J., Zorrilla, S.E., Sihufe, G.A. (2012). The influence of elevated initial ripening temperature on the proteolysis in Reggianito cheese. *Food Research International*, 48(1): 34-40.
- Cervantes-Escoto, F., Villegas de Gante, A., Cesín-Vargas, J. A., Espinoza-Ortega, A. (2008). *Los quesos mexicanos genuinos: patrimonio cultural que debe rescatarse*. 1st ed. Mundi-Prensa México, Universidad Autónoma Chapingo y Universidad Autónoma del Estado de México. pp: 186.
- Chuah, A.M., Jacob, B., Jie, Z., Ramesh, S., Mandal, S., Puthan, J.K., Deshpande, P., Vaidyanathan, V.V., Gelling, R.W., Patel, G., Das, T., Shreeram, S. (2014). Enhanced bioavailability and bioefficacy of an amorphous solid dispersion of curcumin. *Food Chemistry*, 156(1): 227-233.
- Conde, T., Mulet, A., Clemente, G., Benedito, J. (2008). Detection of internal cracks in manchego cheese using the acoustic impulse-response technique and ultrasounds. *Journal Dairy Science*, 91(3):918–927.
- Cortés-Sánchez, A., León-Sánchez, J.R., Jiménez-González F.J., Díaz-Ramírez, M., Villanueva-Carvajal, A., Guzmán-Medina, C.A. (2016). *Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos*. *Mutis*, 6(1): 28-40.
- Crețu, R. Dima, C., Bahrim, G., Dima, T. (2011). Improved solubilization of curcumin with a microemulsification formulation. *Food Technology*, 35(2): 46-55.
- Da Silva, M.S., Rudkowska, I. (2014). Dairy products on metabolic health: current research and clinical implications. *Maturitas*, 77(3): 221-228.
- Daily, J.W., Yang, M., Park, S. (2016). Efficacy of turmeric extracts and curcumin for alleviating the symptoms of joint arthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Medicinal Food*, 19(8): 717-729.
- Darvesh, A.S., Aggrawal, B.B. y Bishayee, A. (2012). "Curcumin and Liver cancer: A Review". *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(1): 218-28.

- De La Fuente, L. F., Barbosa, E., Carriedo, J. A., Gonzalo, C., Arenas, R., Fresno, J. M., San Primitivo, F. (2009). Factors influencing variation of fatty acid content in ovine milk. *Journal Dairy Science*, 92(8): 3791-3799.
- Dhillon, N., Aggarwal, B.B., Newman, R.A., Wolff, R.A., Kunnumakkara, A.B., Abbruzzese, J.L., Ng, C.S., Badmaev, V., Kurzrock, R. (2008). Phase II trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*, 14(14): 4491-4499.
- Di Martino, R.M.C., Luppi, B., Bisi, A., Gobbi, S., Rampa, A., Abruzzo, A., Belluti, F. (2017). Recent progress on curcumin-based therapeutics: a patent review (2012-2016). Part I: Curcumin. *Expert opinion on therapeutic patents*, 27(5): 579-590.
- Dilzer, A., Park, Y. (2012). Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(6): 488-513.
- Dulbecco, P., Savarino, V. (2013). Therapeutic potential of curcumin in digestive diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 19(48): 9256-9270.
- Durán, R., Valenzuela, A. (2010). La experiencia japonesa con los alimentos FOSHU ¿Los verdaderos alimentos funcionales?. *Revista Chilena de Nutricion*, 37(2): 224-233.
- Eigner, D., Sholz, D. (1999). *Ferula asa-foetida* and *curcuma longa* in traditional medical treatment and diet in Nepal. *Journal Ethnopharmacology*, 67(1): 1-6.
- Epstein, J., Anderson, I.R., MacDonald, T.J. (2010). Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro animal and human studies, *British Journal of Nutrition*, 103(11): 1545-1557.
- Espinosa, J. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Ciudad de La Habana: Editorial Universitaria.pp:39-44.
- FAO. (2016). Producción y productos lácteos. <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/composicion-de-la-leche/es/#.V-r-FSHhC00>. Consultado el 27 de septiembre de 2018.
- Farkhondeh, T., Samarghandian, S. (2016). The hepatoprotective effects of curcumin against drugs and toxic agents: an updated review. *Toxin reviews*, 35(3-4): 133-140.
- Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6): 1379-1400.
- Gallardo, M., Calaf, G.M. (2016). Curcumin and epithelial-mesenchymal transition in breast cancer cells transformed by low doses of radiation and estrogen. *International Journal of Oncology*, 48(6): 2534-2542.

- Ganta, S., Devalapally, H., Amiji, M. (2010). Curcumin enhances oral bioavailability and anti-tumor therapeutic efficacy of paclitaxel upon administration in nanoemulsion formulation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(11): 4630-41.
- García-Díaz, L.K., Mantecón, A.R., Sepúlveda W.S., Maza, M.T. (2012). Producción de leche ovina como alternativa de negocio agropecuario: modelo de producción en Castilla y León (España). *Revista mexicana de agnegocios*, 16(31): 18-38.
- Gómez-Ruiz, J. A., Taborda, G., Amigo, L., Ramos, M., Molina, E. (2007). Sensory and mass spectrometric analysis of the peptidic fraction lower than one thousand daltons in manchego cheese. *Journal Dairy Science*, 90(11):4966–4973.
- Granato, D., Branco, G., Nazzaro, F., Cruz, A., Faría, J. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: Trends, concepts and product. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(1): 292-302.
- Greca, M., Zarrelli, A. (2012). Nutraceuticals and Mediterranean diet. *Medicinal & Aromatic Plants*, 1(6):126-129.
- Gryniewicz, G., Slifirski, P. (2012). Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochimica Polonica*, 59(2): 201-212.
- Gupta, S.C., Patchva, S., Aggarwal, B.B. (2013a). Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. *The AAPS Journal*, 15(1): 195-218.
- Gupta, S.C., Sung, B., Kim, J.H., Prasad, S., Li, S., Aggarwal, B.B. (2013b). Multitargeting by turmeric, the golden spice: from kitchen to clinic. *Molecular Nutrition Food Research*, 57(9): 1510-1528.
- Gutierrez, V.O., Campos, M.L., Arcaro, C.A., Assis R.P., Baldan-Cimatti, H.M., Peccinini, R.G., Paula-Gomes, S., Kettelhut, I.C., Baviera, A.M., Brunetti, I.L. (2015). Curcumin pharmacokinetic and pharmacodynamic evidences in Streptozotocin-diabetic rats support the antidiabetic activity to be via metabolite(s). *Evidence-Based Complementary and Alternatervative Medicine*, 2015: 1-13.
- Haenlein, G.F.W., Wendorff, W.L. (2006). Sheep milk-production and utilization of sheep milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK, and Ames, Iowa, USA. pp: 137-194.
- Half, E., Arber, N. (2009). "Colon cancer: preventive agents and the present status of chemoprevention". *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 10(2): 211-219.
- Hasler, C.M., Brown, A.C. (2009). Position of the American Dietetic Association: Functional foods. *Journal of the American Dietetic Association*, 109(4): 735-746.
- Hassaninasab, A., Hashimoto, Y., Tomita-Yokotani, K., Kobayashi, M. (2011). Discovery of the curcumin metabolic pathway involving a unique enzyme in an intestinal microorganism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(16): 6615-6620.



- Holdt, S.L., Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal Applied Phycology*, 23(3): 543-597.
- Hu, L., Hu, Q., Yang, C. (2018). Spray-dried curcumin nanoemulsion: A new road to improvement of oral bioavailability of curcumin. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(1):169-173.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2017). Producción y ventas netas de los establecimientos manufactureros por clase de actividad familia y productos elaborados. Disponible en: [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx)
- Jaisin, Y., Thampithak, A., Meesarapee, B., Ratanachamng, P., Suksamrarn, A., Phivthong-Ngam, L. (2011). Curcumin I protect the dopaminergic cell line SH-SY5Y from 6-hydroxydopamine-induced neurotoxicity through attenuation of p53-mediated apoptosis. *Neuroscience Letters*, 489(3): 192-6.
- Jauhiainen, T., Korpela, R. (2007). Milk peptides and blood pressure. *The Journal of Nutrition*, 137(3): 825S-829S.
- Jiao, Y., Wilkinson, J., Di, X., Wang, W., Hatcher, H., Kock, N.D., D'Agostino, R. Jr, Knovich, M.A., Torti, F.M., Torti, S.V. (2009) "Curcumin, a cancer chemopreventive and chemotherapeutic agent, is a biologically active iron chelator". *Blood*, 113(2): 462-469.
- Jiménez, M.F., Amador, A.C., Cetrángolo, H. (2012). La producción de alimentos funcionales desde el sector primario. *Perspectivas y potencialidades. Revista Agronomía y Ambiente*, 32(1-2): 9-18.
- Jirillo, F., Jirillo, E., Magrone, T. (2010). Donkey's and goat's milk consumption and benefits to human health with special reference to the inflammatory status. *Current Pharmaceutical Design*, 16(7): 859–863.
- Joung, H.J., Choi, M.J., Kim, J.T., Park, S.H., Park, H.J., Shin, G.H. (2016). Development of food-grade curcumin nanoemulsion and its potential application to food beverage system: antioxidant property and in vitro digestion. *Journal of Food Science*, 81(3): N745-N753.
- Kanai, M., Yoshimura, K., Asada, M., Imaizumi, A., Suzuki, C., Matsumoto, S. (2011). A phase I/II study of gemcitabine-based chemotherapy plus curcumin for patients with gemcitabine-resistant pancreatic cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 68(1): 157-164.
- Košťálová, D., Bezáková, L., Račková, L., Mošovská, S., Šturdíka, E. (2013). Therapeutic potential of curcumin in medicinal chemistry. *Acta Chimica Slovaca*, 6(1): 89-99.
- Krachler, B., Norberg, M., Eriksson, J.W., Hallmans, G., Johansson, I., Vessby, B., Lindahl, B. (2008). Fatty acid profile of the erythrocyte membrane preceding development of type 2 diabetes mellitus. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases* 18(7): 503-510.

- Kunnumakkara, A.B., Bordoloi, D., Harsha, C., Banik, K., Gupta, S.C., Aggarwal B.B. (2017). Curcumin mediates anticancer effects by modulating multiple cell signaling pathways. *Clinical Science*, 131(15):1781–1799.
- Lal, J. (2012). Turmeric, curcumin and our life: a review. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 1(7): 11-17.
- Lao, C.D., Ruffin, M.T., Normolle, D., Heath, D.D., Murray, S.I., Bailey, J.M., Boggs, M.E., Crowell, J., Rock, C.L., Brenner, D.E. (2006). Dose escalation of a curcuminoid formulation, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6: 1-10.
- Lawless, H.T. y Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food*. Food Science Text Series. pp: 19-56.
- Li, S., Yuan, W., Deng, G., Wang, P., Yang, P., Aggarwal, B. B. (2011). Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops*, 5(1): 28-54.
- Lima, C.F., Pereira-Wilson, C., Rattan, S.I. (2011). Curcumin induces heme oxygenase-1 in normal human skin fibroblasts through redox signaling: relevance for anti-aging intervention. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(3): 430-442.
- Liu, C.H., Chang, F.Y. (2011). Development and characterization of eucalyptol microemulsions for topic delivery of curcumin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(2): 172-8.
- Lobato-Calleros, C., Robles-Martínez, J.C., Caballero-Pérez, J.F., Aguirre-Mandujano, E. (2001). Fat replacers in low-fat mexican manchego cheese. *Journal of Texture Studies*, 32(1): 1-14.
- Lourido, H., Martínez, G. (2010). La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. *Revista Cubana de Farmacia*, 44(2): 231-244.
- Macías-Cruz, U., Álvarez-Valenzuela, F.D., Olgún-Arredondo, H.A., Molina-Ramírez, L., Avendaño-Reyes, L. (2012). Ovejas Pelibuey sincronizadas con progestágenos y apareadas con machos de razas Dorper y Katahdin bajo condiciones estabuladas: producción de la oveja y crecimiento de los corderos durante el período predestete. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 44(1): 29-37.
- Maiti, K., Mukherjee, K., Gantait, A., Saha, B.P., Mukherjee, P.K. (2007). Curcumin-phospholipid complex: preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. *International Journal Pharmaceutics*, 330(1): 155-163.
- Malik, V.S., Sun, Q., van Dam R.M., Rimm, E.B., Willett, W.C., Rosner, B., Hu, F.B. (2011). Adolescent dairy product consumption and risk of type 2 diabetes in middle-aged women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94(3): 854-861.
- McCarthy, C.M., Kelly, P.M., Wilkinson, M.G., Guinee, T.P. (2017). Effect of fat and salt reduction on the changes in the concentrations of free amino acids and free fatty

acids in Cheddar-style cheeses during maturation. *Journal of Food Composition Analysis*, 59: 132-140.

McClements, D.J. (2011). Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter*, 7(6): 2297-2316.

Mcsweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3): 127-144.

Milacic, V., Banerjee, S., Landis-Piowar, K. R., Sarkar, F. H., Majumdar, A. P. N., Dou, Q. P. (2008). "Curcumin inhibits the proteasome activity in human colon cancer cells in vitro and in vivo". *Cancer Research*, 68(18): 7283-7292.

Moelants, K.R.N, Lemmens, L., Vandebroek, M., Van Buggenhout, S., Van Loey, A.M., Hendrick, M.E. (2012). Relation between particle size and carotenoid bioaccessibility in carrot- and tomato-derived suspensions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(48): 11995-12003.

Mozaffarian, D., Cao, H., King, I.B., Lemaitre, R.N., Song, X., Siscovick, D.S., Hotamisligil, G.S. (2010). Trans-palmitoleic acid, metabolic risk factors, and new-onset diabetes in U.S. adults: a cohort study. *Annals of Internal Medicine*, 153(12): 790-799.

Mythri, R.B., Bharath, M.M. (2012). Curcumin: a potential neuroprotective agent in Parkinson's disease. *Current Pharmaceutical Design*, 18(1): 91-99.

Norma Mexicana NMX-F-462-1984. Alimentos. Lácteos. Queso tipo Manchego. Foods. Lacteous. Manchego type cheese. Normas mexicanas. Dirección General de Normas.

Ochoa, A. A., Hernández, J.A., López, E., García, H.S. (2013). Rendimiento, firmeza y aceptación sensorial de queso panela adicionado con estabilizantes. *Universidad y Ciencia*, 29(3): 277-286.

Ochoa, A.A., Hernández-Becerra, J.A., Cavazos-Garduño, A., Vernon-Carter, E.J., García, H.S. (2016). Preparation and characterization of curcumin nanoemulsions obtained by thin-film hydration emulsification and ultrasonication methods. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 15(1):79-90.

Onoue, S., Takahashi, H., Kawabata, Y., Seto, Y., Hatanaka, J., Timmermann, B., Yamada, S. (2010). Formulation design and photochemical studies on nanocrystal solid dispersion of curcumin with improved oral bioavailability. *Journal of Pharmaceutical Science*, 99(4): 1871-1881.

Ozen, A.E., Pons, A., Tur, J.A. (2012). Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. *Nutrition Reviews*, 70(8): 472-481.

Park, S.H., Lim, H.S., Hwang, S.Y. (2012). Evaluation of antioxidant, rheological, physical and sensorial properties of wheat flour dough and cake containing turmeric powder. *Food Science and Technology International*, 18(5):435-443.

- Park, Y. W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G. F. W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68(1-2): 88-113.
- Paul, M., Nuñez, A., Van Hekken, D., Renye, J. (2014). Sensory and protein profiles of mexican chihuahua cheese. *Journal Food Science & Technology*, 55(11): 3432-3438.
- Pavia, M., Trujillo, A. J., Guamis, B., Ferragut, V. (2000). Proteolysis in manchego-type cheese salted by brine vacuum impregnation. *Jornal Dairy Science*, 83(7): 1441-1447.
- Perego, S., Cosentino, S., Fiorilli, A., Tettamanti, G., Ferraretto, A. (2012). Casein phosphopeptides modulate proliferation and apoptosis in HT-29 cell line through their interaction with voltage-operated L-type calcium channels. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 23(7): 808-816.
- Pittas, A.G., Lau, J., Hu, F.B., Dawson-Hughes, B. (2007). The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(6): 2017-2029.
- Poveda, J.M., Molina, G.M., Gómez-Alonso, S. (2016). Variability of biogenic amine and free amino acid concentrations in regionally produced goat milk cheeses. *Journal of Food Compostion and Analysis*, 51: 85-92.
- Power, O., Jakeman, P., FitzGerald, R. J. (2012). Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. *Amino Acids*, 44(3): 797-820.
- Prandini, A., Sigolo, S., Tansini, G., Brogna, N., Piva, G. (2007). Different level of conjugated linoleic acid (CLA) in dairy product from Italy. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(1): 472-479.
- Prasad, S., Aggarwal, B.B. (2011). Turmeric, the golden spice: from traditional medicine to modern medicine, *Herbal Medicine: biomolecular and Clinical Aspects, Oxidative Stress & Disease Series*, pp. 259-284 (Chapter 13).
- Prasad, S., Tyagi, A.K., Aggarwal, B.B. (2014). Recent developments in delivery, bioavailability, absorption and metabolism of curcumin: the golden pigment from golden spice. *Cancer Research Treatment*, 46(1): 2-18.
- Rachmawati, H., Budiputra, D.K., Mauludin, R. (2015). Curcumin nanoemulsion for transdermal application: formulation and evaluation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 41(4): 560-566.
- Rachmawati, H., Soraya, I.S., Kurniati, N.F., Rahma, A. (2016). In Vitro Study on Antihypertensive and Antihypercholesterolemic Effects of a Curcumin Nanoemulsion. *Scientia pharmaceutica*, 84(1): 131-140.

- Ralston, R.A., Lee, J.H., Truby, H., Palermo, C.E., Walker, K.Z. 2012. A systematic review and meta-analysis of elevated blood pressure and consumption of dairy foods. *Journal of Human Hypertension*, 26: 3-13.
- Ribeiro, A.C. (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research*, 89(2-3): 225-233.
- Rodríguez-Nogales, J. M., Vázquez, F. (2007). Application of electrophoretic and chemometric analysis to predict the bovine, ovine and caprine milk percentages in panela cheese, an unripened cheese. *Food Control*, 18(5): 580-586.
- Safari, J., Zarnegar, Z. (2014). Advanced drug delivery systems: nanotechnology of health design a review. *Journal of Saudi Chemical Society*, 18(2): 85-99.
- Sahebkar, A., Henrotin, Y. (2016). Analgesic Efficacy and Safety of Curcuminoids in Clinical Practice: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Pain Medicine*, 17(6): 1192-1202.
- Salvia-Trujillo, L., Martín-Belloso, O., McClements, D.J. (2016). Excipient nanoemulsions for improving oral bioavailability of bioactives. *Nanomaterials*, 6(1): 1-17.
- Santillán-Urquiza, E. Méndez-Rojas, M. A., Vélez-Ruiz, J. F. (2014). Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8(1): 5-14.
- Sasaki, H., Sunagawa, Y., Takahashi, K., Imaizumi, A., Fukuda, H., Hashimoto, T., Wada, H., Katanasaka, Y., Kakeya, H., Fujita, M., Hasegawa, K., Morimoto, T. (2011). Innovative preparation of curcumin for improved oral bioavailability. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34(5): 660-665.
- Scholz, W. (2005). Elaboración de quesos de oveja y cabra. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza, España. pp: 3.
- Schulze, M.B., Schulz, M., Heidemann, C., Schienkiewitz, A., Hoffmann, K., Boeing, H. (2007). Fiber and magnesium intake and incidence of type 2 diabetes: a prospective study and metaanalysis. *Archives of Internal Medicine*, 167(9): 956-965.
- Shaikh, J., Ankola, D.D., Beniwal, V., Singh, D., Kumar, M.N. (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal Pharmaceutical Science.*, 37(3): 223-230.
- Shanmugam, M.K., Rane, G., Kanchi, M.M., Arfuso, F., Chinnathambi, A., Zayed, M.E., Alharbi, S.A., Tan, B.K., Kumar, A.P., Sethi, G. (2015). The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 20(2): 2728-2769.
- Sharma, R.A., Gescher A.J., Steward, W.P. (2005). Curcumin: the story so far, *European Journal of Cancer*, 41(13): 1955-1968.

- Shingfield, K. J., Bonnet, M., Scollan, N. D. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant-derived food. *Animal*, 7(1): 132-162.
- SIAP (2018). Panorama de la leche en México. [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Marzo2018.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Marzo2018.pdf). Consultado el 1 de abril de 2019.
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U. (2015). The interrelationships between lactose intolerance and the modern dairy industry: Global perspectives in evolutionary and historical backgrounds. *Nutrients*, 7(9): 7312-7331.
- Sinclair, L. A. (2007). Nutritional manipulation of the fatty acid composition of sheep meat: A review. *Journal of Agricultural Science*, 145(5): 419-434.
- Singh, V., Pathak, A.K., Pal, M., Sareen, S., Goel, K. (2015). Comparative evaluation of topical application of turmeric gel and 0.2% chlorhexidine gluconate gel in prevention of gingivitis. *National Journal Maxillofacial Surgery*, 6(1): 67-71.
- Singletary, K. (2010). Turmeric: Overview of health benefits. *Nutrition Today*, 45(5): 216-225.
- Sluijs, I., Forouhi, N.G., Beulens, J.W.J., van der Schouw, Y.T., Agnoli, C., Arriola, L., et al. (2012). The amount and type of dairy product intake and incident type 2 diabetes: results from the EPIC-InterAct Study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96(2): 382-390.
- Sosnik, A., Carcaboso, A.M., Glisoni, R.J., Moretton, M.A., Chiappetta, D.A. (2010). New old challenges in tuberculosis: potentially effective nanotechnologies in drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(4-5): 547-559.
- Swamy, M. V., Citineni, B., Patlolla, J. M. R., Mohammed, A., Zhang, Y., Rao, C. V. (2008). "Prevention and treatment of pancreatic cancer by curcumin in combination with omega-3 fatty acids." *Nutrition and Cancer*, 60(1): 81-89.
- Taylor, R., Leonard, M. (2011). Curcumin for Inflammatory Bowel Disease: A Review of Human Studies. *Alternative Medicine Review*, 16(2): 152-156.
- Terpou, A., Gialleli, A-I., Bosnea, L., Kanellaki, M., Koutinas, A. A., Castro, G. R. (2017). Novel cheese production by incorporation of sea buckthorn berries (*Hippophae rhamnoides* L.) supported probiotic cells. *LWT- Food Science and Technology*, 79: 616-624.
- Tidona, F., Sekse, C., Criscione, A., Jacobsen, M., Bordonaro, S., Marletta, D., Vegarud, G. E (2011). Antimicrobial effect of donkeys' milk digested in vitro with human gastrointestinal enzymes. *International Dairy Journal*, 28(3): 158-165.
- Tong, X., Dong, J.Y., Wu, Z.W., Li, W., Qin, L.Q. (2011). Dairy consumption and risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of cohort studies. *European Journal of Clinical Nutrition*, 65(9): 1027-1031.

- Tremblay, A., Gilbert, J.A. (2009). Milk products, insulin resistance syndrome and type 2 diabetes. *The Journal of the American College of Nutrition*, 28(1): 91S– 102S.
- Vasto, S., Barera, A., Rizzo, C., Di Carlo, M., Caruso, C. Panotopoulos, G. (2014). Mediterranean diet and longevity: An example of nutraceuticals?. *Current Vascular Pharmacology*, 12(5): 735-738.
- Vergara, O., Camargo, I., Henríquez, T., Vergara de Caballero, E.; Mojica de Torres, E., Espinosa, J., Montenegro, S. (2011). Evaluación sensorial de arroz biofortificado, variedad IDIAP Santa Cruz 11, en granjas autosostenibles del Patronato de Nutrición en la Provincia de Coclé, Panamá perspectivas en nutrición humana, 13(2):147-160.
- Villegas, A. (2003). Los quesos mexicanos. 2da edición. Universidad Autónoma Chapingo, México- Texcoco, pp: 111.
- Villegas, A., Cervantes, F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales*, 19(38): 147-164.
- Wang, Q., Sun, A.Y., Simonyi, A., Jensen, M.D., Shelat, P.B., Rottinghaus, G.E., MacDonald, R.S., Miller, D.K., Lubahn, D.E., Weisman, G.A., Sun, G.Y. (2005). "Neuroprotective mechanisms of curcumin against cerebral ischemia-induced neuronal apoptosis and behavioral deficits". *Journal of Neuroscience Research*, 82(1): 138-148.
- Wang, Y.F., Shao, J.J., Zhou, C.H., Zhang, D.L., Bie, X.M., Lv, F.X., Lu, Z.X. (2012). Food preservation effects of curcumin microcapsules. *Food Control*, 27(1): 113-117.
- Warensjö, E., Jansson, J.H., Berglund, L., Boman, K., Ahrén, B., Weinehall, L., Lindahl, B., Hallmans, G., Vessby, B. (2004). Estimated intake of milk fat is negatively associated with cardiovascular risk factors and does not increase the risk of a first acute myocardial infarction. A prospective case-control study. *British Journal of Nutrition*, 91(4): 635-642.
- Wilken, R., Veena, M.S., Wang, M.B. (2011) "Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma". *Molecular Cancer*, 10(1): 1-12.
- Witkin, J.M., Li, X. (2013). Curcumin, an active constituent [sic] of the ancient medicinal herb *Curcuma longa* L.: some uses and the establishment and biological basis of medical efficacy. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 12(4): 1-11.
- Yallapu, M.M., Jaggi, M., Chauhan, S.C. (2012). Curcumin nanoformulations: a future nanomedicine for cancer. *Drug Discovery Today*, 17(1-2): 71-80.
- Yoonsungnoen-Chintana, P., Bhattarakosol, P., Patumraj, S. (2014). Antitumor and antiangiogenic activities of curcumin in cervical cancer xenografts in nude mice. *BioMed Research International*, 2014: 1-12.

- Yu, H., Huang, Q. (2012). Improving the oral bioavailability of curcumin using novel organogelbased nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(21): 5373-5379.
- Yu, S., Zheng, W., Xin, N., Chi, Z.H., Wang, N.Q., Nie, Y.X., Feng, W.Y., Wang, Z.Y. (2010). Curcumin prevents dopaminergic neuronal death through inhibition of the c-Jun N-terminal kinase pathway. *Rejuvenation Research*, 13(1): 55-64.
- Zaman, S.U., Akhtar, N. (2013). Effect of Turmeric (*Curcuma longa* Zingiberaceae) Extract Cream on Human Skin Sebum Secretion. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5):665-669.
- Zheng, B., Peng, S., Zhang, X., McClements, D.J. (2018). Impact of Delivery System Type on Curcumin Bioaccessibility: Comparison of Curcumin-Loaded Nanoemulsions with Commercial Curcumin Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(41):10816-10826.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.



**CAPÍTULO I. Efecto de curcumina nanoemulsionada en el contenido fenólico y capacidad antioxidante de queso tipo Manchego**

**EFFECTO DE CURCUMINA NANOEMULSIONADA EN EL CONTENIDO FENÓLICO Y CAPACIDAD  
ANTIOXIDANTE DE QUESO TIPO MANCHEGO**

**EFFECT OF NANOEMULSIONED CURCUMIN ON THE PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT  
CAPACITY OF MANCHEGO-TYPE CHEESE**

Queso tipo Manchego con curcumina nanoemulsionada

Mariam Sardiñas-Valdés<sup>1</sup>, Josafat Alberto Hernández-Becerra<sup>2</sup>, Hugo Sergio García-Galindo<sup>3</sup>, Alfonso Juventino Chay-Canul<sup>1</sup>, José Rodolfo Velázquez-Martínez<sup>1</sup>, Angélica Alejandra Ochoa-Flores<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa, km 25, R/A. La Huasteca 2a Sección, CP 86280, Villahermosa, Tabasco, México.

<sup>2</sup>División de Procesos Industriales, Universidad Tecnológica de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa Km 14.6, CP 86280, Villahermosa, Tabasco, México.

<sup>3</sup>Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, M.A. de Quevedo # 2779, Col. Formando Hogar, CP 91897, Veracruz, Veracruz, México.

\*Autor de correspondencia: [angelica.ochoa@ujat.mx](mailto:angelica.ochoa@ujat.mx)

*Manuscrito revisado y presentado al Editor de la Revista Ecosistemas y Recursos Agropecuarios para su  
revisión y posible publicación*

Febrero, 2019

## RESUMEN

La curcumina es un compuesto polifenólico natural que por su potente actividad antioxidante aporta múltiples beneficios a la salud. El propósito del trabajo fue evaluar el efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada (CNE) en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de queso tipo manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey. Se prepararon nanoemulsiones de curcumina por ultrasonificación y se elaboraron los quesos tipo manchego con 5, 7.5 y 10 ppm de CNE. Se determinaron sus características físico-químicas, contenido de fenoles totales, capacidad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP, perfil lipídico y color, así como sus características sensoriales a través de una prueba de nivel de agrado. Después de 60 días de maduración, el contenido de fenoles totales fue de 213.49, 245.65, 280.90 y 307.91 mg eq de ácido gálico/100 g en los quesos testigo, con 5, 7.5 y 10 ppm de CNE, respectivamente. La actividad antioxidante por DPPH varió de 11.66 a 13.73 y por FRAP de 3.45 a 4.73 mM eq de Trolox/g de queso. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos con respecto a sus características físico-químicas, pero sí en contenido de nitrógeno soluble y ácidos grasos libres, perfil lipídico y color. De acuerdo con los consumidores, la adición de CNE al queso tipo manchego modificó su color, olor y apariencia, pero no su sabor, textura y aceptación global. Los resultados del estudio muestran el potencial de los productos lácteos para el suministro de compuestos bioactivos con efectos beneficiosos para la salud.

**Palabras clave:** alimentos funcionales, leche de ovejas Pelibuey, nanoemulsiones, DPPH, FRAP.

## ABSTRACT

Curcumin is a natural polyphenolic compound that, due to its powerful antioxidant activity, provides multiple health benefits. The purpose of the work was to evaluate the effect of the addition of nanoemulsified curcumin (CNE) on the content of total phenols and antioxidant capacity of manchego cheese made with Pelibuey sheep's milk. Curcumin nanoemulsions were prepared by ultrasonication and manchego cheeses

with 5, 7.5 and 10 ppm CNE were prepared. Their physico-chemical characteristics, total phenol content, antioxidant capacity by the methods of DPPH and FRAP, lipid profile and color, as well as their sensory characteristics were determined through a taste level test. After 60 days of maturation, the content of total phenols was 213.49, 245.65, 280.90 and 307.91 mg eq of gallic acid / 100 g in the control cheeses, with 5, 7.5 and 10 ppm of CNE, respectively. The antioxidant activity by DPPH ranged from 11.66 to 13.73 and by FRAP from 3.45 to 4.73 mM eq of Trolox / g of cheese. No significant differences were observed between treatments with respect to their physico-chemical characteristics, but in soluble nitrogen content and free fatty acids, lipid profile and color. According to consumers, the addition of CNE to Manchego-type cheese modified its color, smell and appearance, but not its flavor, texture and overall acceptance. The results of the study show the potential of dairy products for the supply of bioactive compounds with beneficial effects for health.

**Keywords:** functional foods, sheep's milk Pelibuey, nanoemulsions, DPPH, FRAP.

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo de alimentos funcionales en los últimos años ha ido en aumento debido al interés de la población por alimentos que no solo cumplan con la función nutricional, sino que tengan también un efecto benéfico en la salud, reduciendo así el riesgo a padecer diversas enfermedades y mejorando la calidad de vida (Holdt y Kraan 2011, Ozen *et al.*, 2012, Cortés-Sánchez *et al.*, 2016). La industria láctea ha tenido gran participación en el desarrollo de estos alimentos, debido a que la leche presenta diversas actividades biológicas: antioxidantes, antimicrobianas e inmunomoduladoras (Jirillo *et al.*, 2010, Tidona *et al.*, 2011, Santillán-Urquiza *et al.*, 2014).

La leche empleada mayoritariamente en la elaboración de los productos lácteos procede del ganado bovino, aunque también puede utilizarse leche de cabras u ovejas (Ribeiro, 2010); siendo la de oveja particularmente adecuada para la producción de quesos y yogur por su elevado contenido de proteínas y

sólidos totales (FAO, 2016). Uno de los quesos más consumidos en México es el queso tipo manchego (Villegas y Cervantes 2011, SIAP 2016, INEGI 2017), por lo que toma importancia el agregarle valor, a través de la adición del compuesto bioactivo de color amarillo-naranja llamado curcumina, que se extrae de la planta cúrcuma (*Curcuma longa* L.) y del que se han reconocido sus propiedades antioxidantes (Li *et al.*, 2011, Gryniewicz y Slifirski 2012, Witkin y Li 2013); así como su potencial terapéutico para el tratamiento de diferentes enfermedades (Akram *et al.*, 2010, Košťálová *et al.*, 2013, Di Martino *et al.*, 2017).

Sin embargo la actividad biológica de muchos de estos compuestos bioactivos, entre ellos la curcumina (Gryniewicz y Slifirski 2012, Dulbecco y Savarino 2013) es relativamente baja, debido a su baja bioaccesibilidad, su inestabilidad química, o mala absorción (Moelants *et al.*, 2012), por lo que ha sido necesario el desarrollo de nanoemulsiones como una alternativa para aumentar la biodisponibilidad de estos componentes bioactivos (Cavazos-Garduño *et al.*, 2015). Estas nanoemulsiones presentan ventajas sobre otros sistemas debido a su capacidad para incorporar ingredientes hidrofílicos, anfífilos y/o lipofílicos (McClements 2011, Salvia-Trujillo *et al.*, 2016), su alta estabilidad física, alta claridad óptica, no toxicidad, rápida digestibilidad y bioaccesibilidad (Cavazos-Garduño *et al.*, 2014, Ochoa *et al.*, 2016).

Además, cuando los compuestos bioactivos son añadidos a los alimentos, es importante determinar su efecto sobre sus características sensoriales, a fin de conocer el nivel de agrado o desagrado que provoca la adición de los mismos en la percepción de los consumidores (Vergara *et al.*, 2011). Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en evaluar el efecto de la adición de CNE en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de queso tipo manchego elaborado con leche de oveja Pelibuey; así como determinar sus características físico-químicas, perfil lipídico, color y características sensoriales a través de una prueba de nivel de agrado.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La leche de oveja Pelibuey se obtuvo del rancho "El Rodeo", ubicado a 17° 84' N, 92° 81' W; 10 msnm; km 14 de la carretera Villahermosa-Jalapa, Tabasco, México. La curcumina nanoemulsionada (CNE) se preparó con curcumina de pureza  $\geq 98$  % de LKT Laboratories (St. Paul, MN), Tween® 40 de Merck (Darmstadt, Germany), aceite de cadena media comercial Original ThinOil® de SoundNutrition (Dover, ID) y agua destilada desionizada (ADD). Todos los demás reactivos fueron adquiridos de Sigma (St. Louis, MO) y los solventes de Teqsiqum (México, DF).

**Caracterización de la leche.** Las características físico-químicas de la leche se determinaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 155-SGFI-2012; su composición en ácidos grasos se determinó por cromatografía de gases (CG), previa extracción de la grasa con cloroformo:metanol (1:2 v:v), por la metodología descrita por Bligh y Dyer (1959), modificada por Aziz *et al.* (2013); la grasa extraída se derivatizó con metóxido de sodio 0.25 M en metanol-éter dietílico (1:1) para obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos (FAMES); utilizando gliceriltriundecanoato como estándar interno (Carvalho y Malcata, 2005).

Un microlitro de los FAMES se inyectó en un cromatógrafo de gases Perkin Elmer modelo AutoSystem XL, equipado con inyector split-splitless, detector de ionización de flama y columna capilar Perkin Elmer Elite Series PE-225 (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m) cubierta al 50 % de Cianopropilfenil-fenil-metilpolisiloxano. Se empleó helio como gas acarreador a un flujo de 1.4 ml/min. El inyector fue ajustado a una temperatura de 205 °C y el detector a 250 °C. Para el horno, la temperatura inicial fue de 50 °C por 0.5 min, seguido por una rampa de 20 °C/min hasta alcanzar los 195 °C, manteniendo esta temperatura por 0.5 min. Otra rampa de 3.0 °C/min fue programada hasta alcanzar los 205 °C, manteniéndola por 0.5 min. Finalmente una nueva rampa de 7 °C/min se programó hasta alcanzar los 220 °C, manteniéndola así por 6 min. El tiempo de corrida fue de 20 min.

El contenido fenólico y capacidad antioxidante de la leche se determinaron previa extracción, de acuerdo con la metodología de Alyaqoubi *et al.* (2014) con algunas modificaciones. Se toman 5 mL de leche y se añaden 5 mL de etanol, se agita durante una hora en agitador rotatorio a 300 rpm y después se centrifuga a 6000 rpm durante 15 minutos. Se recupera el sobrenadante y se almacena a -20 °C hasta su análisis. El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu, de acuerdo con Singleton *et al.* (1999). Se toman 125  $\mu$ L del extracto, se añaden 625  $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 500  $\mu$ L de carbonato de sodio al 7.5%. Después de 45 minutos de reposo, se mide la absorbancia a 760 nm y se calcula su concentración como mg eq de ácido gálico por L de leche.

La capacidad antioxidante por el método de FRAP se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento propuesto por Benzie y Strain (1996). Se añaden 40  $\mu$ L del extracto a 1200  $\mu$ L del reactivo FRAP y 120  $\mu$ L de ADD. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente en la oscuridad y transcurrida una hora, se mide la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresan en mM eq Trolox por mL de leche. La capacidad antioxidante por el método de DPPH, se determinó por el método propuesto por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Se toman 200  $\mu$ L del extracto, se añaden 2 mL del reactivo DPPH, y transcurrida una hora de reposo a temperatura ambiente en la oscuridad, se determina su absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresan también en mM eq Trolox por mL de leche.

**Preparación y caracterización de CNE.** La CNE fue preparada por el método de hidratación en capa delgada-emulsificación, reportado previamente por Ochoa *et al.* (2016). Se determinó el tamaño de glóbulo, distribución de tamaños de glóbulo, carga superficial y eficiencia de atrapamiento de curcumina en las nanoemulsiones (NE), además de su estabilidad durante 35 días, en almacenamiento a 4 °C. La concentración de curcumina en las NE se determinó por HPLC de acuerdo con el método descrito por Shaik *et al.* (2009). Se evaluó su actividad antimicrobiana sobre el cultivo láctico a utilizar en la elaboración del queso, por el método de difusión en disco descrito por Sathish *et al.* (2013). Los microorganismos del cultivo láctico previamente activado, se distribuyeron sobre la superficie de placas de petri estériles con agar

M17. Después se colocaron discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, impregnados con la CNE (3  $\mu$ L, 6  $\mu$ L y 10  $\mu$ L), se utilizó también un disco impregnado con amikacina como estándar de referencia positivo y otro con ADD estéril como estándar de referencia negativo. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas para medir el diámetro de las zonas de inhibición. La prueba se realizó por triplicado.

**Elaboración de los quesos tipo Manchego.** Se utilizó leche cruda entera de ovejas Pelibuey para elaborar los quesos testigo (10 ppm de bixina) y los quesos adicionados con CNE (5, 7.5 y 10 ppm de curcumina). La leche se pasteurizó en un sistema discontinuo a 63 °C durante 30 min y se repartió en cuatro tinas de acero inoxidable. Después de enfriar a 37 °C, se adicionó bixina al tratamiento testigo y CNE a los tratamientos restantes, cloruro de calcio (0.02 % p/v) y el cultivo láctico filizado M127 (2 g/100 L) de Bioprox (Levallois-Perret, France), se agitó por 10 min y se dejó reposar por 30 min más. Se agregó el cuajo de origen microbiano (15 mL/100 L) de Cuamex (Querétaro, México). El proceso de cuajado duró 45 min. La cuajada se cortó en cubos de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup>, se agitó durante 30 s y se dejó en reposo durante 15 min. La temperatura se elevó a 40 °C por 30 min para el escaldado y contracción de la cuajada. Se efectuó el desuerado, el moldeado y el prensado durante 18 h para expulsar el suero y formar una corteza resistente en los quesos. Se procedió al salado por frotación (25 g/kg) y se llevó a cabo su maduración por un periodo de 60 días a 10 °C.

**Caracterización de los quesos tipo Manchego.** Se determinaron las características fisico-químicas del queso testigo y de los quesos adicionados con CNE de acuerdo con la Norma Mexicana F-462-1984. Su composición en ácidos grasos se determinó por CG, previa extracción de la grasa por la metodología descrita por Bligh y Dyer (1959), con ligeras modificaciones. Las muestras finamente ralladas (10 g) se homogeneizaron durante 2 min con 30 mL de una mezcla de cloroformo:metanol (1:2 v/v) y 2 mL de ADD, empleando un homogeneizador Ultra-Turrax IKA T25. Se añadieron 9 mL de cloroformo a la mezcla y después de homogeneizar durante 30 s, se añadieron 12 mL de ADD, la mezcla se homogeneizó por 30 s más. El homogeneizado se filtró a través de papel de filtro Whatman No.1 en un embudo Buchner



aplicando una ligera succión. El filtrado se transfirió a un embudo de separación, la fase inferior se drenó a un matraz de fondo redondo de 250 mL y se concentró en un rota evaporador a 40 °C. Para minimizar la oxidación de los lípidos extraídos se adicionan 10 mL de n-hexano y se trasvasan a frascos de vidrio ámbar para evitar su exposición a la luz, se colocan bajo corriente de nitrógeno, se tapan y se almacenan inmediatamente a -20 °C, hasta su análisis. Los lípidos extraídos se derivatizaron con metóxido de sodio y los FAMES obtenidos se inyectaron al cromatógrafo de gases, utilizando la metodología descrita previamente para la grasa de la leche.

Se evaluó la proteólisis en los quesos, como nitrógeno soluble en agua, en ácido cítrico, en ácido tricloroacético y en ácido fosfotúngstico, en porcentaje del contenido de nitrógeno total, de acuerdo con ; así como la lipólisis, como ácidos grasos libres, en meq de KOH por cada 100 g de grasa, de acuerdo con la metodología de Deeth y Fitz-Gerald (1976).

Para la determinación del contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante de los quesos, se realizó su extracción de acuerdo con lo reportado por Rashidinejad *et al.* (2013) con ligeras modificaciones. Se pesaron 10 g de queso y se homogeneizaron con 50 mL de una solución de metanol al 95% con 1% de HCl durante 1 min a 2000 rpm, posteriormente se colocaron en un agitador orbital a 200 rpm durante 30 min a 50 °C. La mezcla se centrifugó durante 10 minutos a 4500 rpm y se recuperó el sobrenadante para llevar a cabo las determinaciones analíticas. El contenido fenólico de los quesos se determinó por el método de Moo-Huchinet *et al.* (2015). Se tomaron 100 µL del extracto, se añadieron 2.90 mL de ADD y 250 µL del reactivo Folin-Ciocalteu. Se deja reposar por 8 min, se adicionan 750 µL de una solución de carbonato de sodio al 20 % y 950 µL de ADD. Después de 45 minutos de reposo, se mide la absorbancia a 760 nm y se calcula su concentración como mg eq de ácido gálico por 100 g de queso.

La capacidad antioxidante por el método de FRAP se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento propuesto por Benzie y Strain (1996). Se añaden 150 µL del extracto a 4500 µL del reactivo FRAP y 450 µL de ADD. La reacción se lleva a cabo a temperatura ambiente en la oscuridad y transcurrida una hora, se

mide la absorbancia a 593 nm. Los resultados se expresan en mM eq Trolox por g de queso. La capacidad antioxidante por el método de DPPH, se determinó por el método propuesto por Brand-Williams *et al.* (1995) con algunas modificaciones. Se toman 125 µL del extracto, se añaden 4.875 mL del reactivo DPPH, y transcurrida una hora de reposo a temperatura ambiente en la oscuridad, se determina su absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresan también en mM eq Trolox por g de queso.

La medición del color, en unidades de  $L^* a^* b^*$  de la escala de color CIE Lab, se realizó para cada uno de los quesos, en tres sitios diferentes de su superficie. Para su medición se utilizaron imágenes digitales en formato RGB tomadas con una cámara digital de 5 megapíxeles con una resolución de imagen de 2560x1536 y la aplicación ColorMatch v1.0. para la obtención de los valores de  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ .

Las características sensoriales de los quesos adicionados con CNE se determinaron a través de una prueba de nivel de agrado utilizando una escala estructurada de 9 puntos, con consumidores. Los jueces recibieron cuatro muestras de queso tipo Manchego: una del queso testigo (con 10 ppm de bixina) y tres más de los quesos adicionados con CNE (5, 7.5 y 10 ppm). Las muestras fueron cortadas en cubos de tamaño homogéneo (1 cm<sup>3</sup>), colocadas en recipientes de plástico, tapadas y refrigeradas a 8 °C. Para ser presentadas a los consumidores fueron codificadas utilizando números aleatorios de 3 dígitos.

**Análisis de datos.** Los resultados se analizaron por medio de un análisis de varianza con posterior análisis de comparación de medias. Se empleó una prueba de Tukey a una  $P < 0.05$  con el paquete estadístico STATISTICA V. 6.0.

## RESULTADOS

**Caracterización de la leche.** Las características físico-químicas de la leche de oveja Pelibuey se muestran en la Tabla 1; así como su capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales. La concentración de ácidos grasos en la grasa de la leche de oveja se muestra en la Tabla 2. Los ácidos grasos más abundantes fueron el ácido palmítico C16:0, el oleico C18:1(n-9) y el mirístico C14:0, con  $228.71 \pm 7.15$ ,  $215.93 \pm 3.36$  y  $93.25 \pm 2.60$  mg/g de grasa, respectivamente.

**Preparación y caracterización de CNE.** Se obtuvo un tamaño de glóbulo de  $59.98 \pm 1.15$  nm, la distribución de tamaños de glóbulo como índice de polidispersidad (Pdl) fue  $0.45 \pm 0.02$  y la carga superficial como potencial zeta ( $\zeta$ ) fue  $-6.88 \pm 1.03$ . Su eficiencia de atrapamiento fue del  $103.43 \pm 3.54$  %, atrapando  $2.59 \pm 0.09$  mg / g de curcumina. Al comparar el tamaño de partícula del día cero ( $59.98 \pm 1.15$  nm) y el del día 35 de almacenamiento ( $78.52 \pm 0.64$  nm), se observó que el tamaño aumentó ligeramente con el transcurso del tiempo, pero a pesar de ello no sobrepasó el rango establecido, lo que resulta en estabilidad de la nanoemulsión. Ensayo de actividad antimicrobiana de la NE. Se demostró que las nanoemulsiones de curcumina no inhiben el desarrollo de los microorganismos presentes en el cultivo (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*).

**Caracterización de los quesos tipo Manchego.** La Tabla 3 muestra el efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en la composición de los quesos, así como su proteólisis y lipólisis. No se observaron diferencias estadísticas en la humedad, sólidos totales, sólidos no grasos, proteína, grasa, cenizas y actividad de agua. En cuanto a las fracciones de nitrógeno soluble en agua, en citrato de sodio y en ácido fosfotúngstico sí se observaron diferencias ( $p > 0.05$ ), donde los tratamientos con curcumina nanoemulsionada presentaron mayores valores que el queso testigo. Por su parte, las fracciones de nitrógeno soluble en ácido tricloroacético no presentaron diferencias estadísticas. Los quesos con curcumina nanoemulsionada presentaron mayor contenido de ácidos grasos libres que el queso testigo. En relación con el Perfil de ácidos grasos del queso, en la Tabla 4 se muestran los ácidos grasos presentes en

el queso. Destaca el alto contenido de los ácidos grasos saturados palmítico (C16:0), mirístico (14: 0) y esteárico (18: 0), y como ácido graso monoinsaturado el oleico (18: 1n-9). La tabla 5 muestra los resultados de la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales presentes en el queso. Como puede observarse en ambos ensayos de capacidad antioxidante y en el contenido de fenoles totales los quesos con 7.5 y 10 ppm de curcumina nanoemulsionada presentaron mayor capacidad antioxidante que los quesos con 5 ppm de curcumina nanoemulsionada y 10 ppm de bixina (testigo). En la tabla 6 se muestran los valores arrojados en la medición del color en los quesos. Los valores de L\* y a\* fueron menores en los tratamientos con curcumina y el valor de b\* fue menor en el queso control, significa que al añadir curcumina nanoemulsionada disminuye la luminosidad en los quesos y estos adoptan un color verde-amarillo. Los resultados de la evaluación sensorial para el queso tipo manchego madurado durante 60 días se muestran en la Tabla 7. Los cuatro tratamientos presentaron diferencias significativas en cuanto al color, olor, sabor y apariencia; sin embargo fueron aceptados por los consumidores al no presentar diferencias en la aceptación global.

## DISCUSIÓN

**Caracterización de la leche.** Resultados similares en la composición de leche de oveja se reportaron en el estudio realizado por Gómez-Cortés *et al.* (2009) donde se obtuvo 6.51% de grasa, 5.89 % de proteína, 4.91 % de lactosa y 17.97 % de sólidos totales. Por su parte Nudda *et al.* 2005 reportaron valores de grasa y de proteína 6.16% ( $\pm 0.26$ ) y 5.42% ( $\pm 0.03$ ) respectivamente. También Bucevic-Popovic *et al.* (2014) reportaron valores similares en cuanto a la densidad  $1.0263 \pm 0.07$  g/L, sólidos totales  $16.53 \pm 0.07$  %, lactosa  $4.29 \pm 0.07$  %, grasa  $5.60 \pm 0.25$  % y proteína  $5.80 \pm 0.09$  %. Kremer y Rosés (2016) evaluaron el contenido de grasa, proteína y lactosa en la leche de ovejas Frisona-Milchschaft, las cuales fueron divididas en dos grupos, G<sub>1</sub>, ordeñado a máquina una vez al día (7:00 h) y G<sub>2</sub>, dos veces al día (7:00 y 18:00 h). El porcentaje de grasa, proteína y lactosa fue de  $5.54 \pm 0.53$ ,  $5.57 \pm 0.64$  y  $5.10 \pm 0.43$  en G<sub>1</sub>, mientras que

en el G<sub>2</sub> fueron de:  $6.02 \pm 0.60$ ,  $5.47 \pm 0.34$  y  $5.33 \pm 0.23$  respectivamente. Estos resultados fueron semejantes a los del presente estudio. Con respecto a la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de la leche, Yilmaz-Ersan *et al.* (2018) realizaron un estudio en leche cruda y pasteurizada de oveja para elaborar kéfir, donde los valores de DPPH y fenoles totales fueron más bajos para leche de oveja tratada térmicamente que para leche cruda, mientras que el valor de FRAP fue mayor.

En relación con el Perfil de ácidos grasos de la leche, en el estudio realizado por Gómez-Cortés *et al.* (2009) se obtuvieron resultados similares a los de este trabajo, donde los valores de algunos ácidos grasos de la leche de oveja fueron los siguientes: el ácido bútrico (C4:0) y ácido caproico (C6:0) presentaron 4.50 y 3.17 (g de ácido graso/ 100 g del total de ésteres metílicos de ácidos grasos) respectivamente, al igual que los ácidos grasos saturados palmítico (C16:0), mirístico (14: 0) y esteárico (18: 0) con 26.14, 9.27 y 9.67 (g de ácido graso/ 100 g del total de ésteres metílicos de ácidos grasos) respectivamente. Desde un punto de vista químico, un ácido graso puede ser esterificado en tres posiciones diferentes del triglicérido. La síntesis de triglicéridos lácteos tiene lugar en el retículo endoplasmático de las células de la glándula mamaria por tres enzimas diferentes: Glicerol-3-fosfato acil-transferasa (GFAT) que cataliza la esterificación de ácidos grasos en la posición sn-1, ácido liso-fosfatídico acil-transferasa (ALFAT) en la posición sn-2 y la diacilglicerol acil-transferasa (DGAT) que promueve la esterificación de ácidos grasos en la posición sn-3 (Serra *et al.* 2018). Los ácidos grasos muestran una afinidad diferente para estas enzimas, lo que resulta en una composición diferente de ácido graso de las posiciones de triglicéridos (Yen *et al.* 2008). Los ácidos grasos de cadena corta (C4: 0, C6: 0 y C8: 0) están esterificados preferentemente en  $\alpha$ , lo que sugiere una mayor afinidad para GFAT y DGAT, mientras que los de cadena larga (principalmente C12: 0, C14: 0) son preferencialmente esterificados en  $\beta$  (mayor afinidad por ALFAT) (Yen *et al.* 2008). Cabe destacar que solo dos posiciones tienen importancia nutricional; la posición  $\alpha$  (sn-1,3) y la  $\beta$  (sn-2), aunque  $\beta$  tiene una preferencia en cuanto al estado nutricional comparado con  $\alpha$  (Serra *et al.* 2018).

**Preparación y caracterización de CNE.** Se considera NE a una emulsión con tamaños de gota en el rango de 20-500 nm (Cardoso-Ugarte y Jiménez-Munguía 2015), aunque según Shah *et al.*(2010), las NE son emulsiones con diámetros de gota promedio que varían de 50 a 1000 nm. El tamaño de glóbulo de la CNE obtenida en este trabajo, se encuentra dentro de las escalas nanométricas mencionadas por ambos. El tensoactivo utilizado en su formulación tiene un impacto apreciable sobre el diámetro medio de gota de las emulsiones formadas; Chang y McClements(2014), reportan NE de apariencia transparente, de gotas muy finas ( $d \approx 25$  nm), preparadas con Tween 40, 60 y 80; mientras que utilizando Tween 20, 85, o Span 80, reportan emulsiones opacas, de tamaños de gota grande e inestables a la separación gravitacional.

El índice de polidispersidad (Pdl), describe la dispersión en la distribución de tamaños de glóbulo en la NE; valores inferiores a 0.2, describen a NE de buena calidad y alta estabilidad, mientras que valores cercanos a 1, indican una mala calidad e inestabilidad (Klang y Valenta 2011). El potencial zeta ( $\zeta$ ), describe el potencial eléctrico en la doble capa, en la superficie de las nanopartículas y está influenciado por la composición de la partícula y el medio en el que se dispersa; nanopartículas con un potencial zeta fuera del rango de  $\pm 30$  mV, han demostrado ser estables en suspensión, debido a que la carga superficial evita la agregación de las partículas (Velasco-Rodríguez *et al.* 2012; Kirby y Hasselbrink 2004).

Ochoa *et al.* (2016) formularon nanoemulsiones de curcumina por este mismo método y obtuvieron los siguientes resultados: un tamaño de glóbulo de  $108 \pm 1$  nm, índice de polidispersidad  $0.11 \pm 0.02$ , potencial zeta  $-7.9 \pm 0.6$  mV, con una eficiencia de atrapamiento  $100 \pm 0.8$  %; resultados similares a los obtenidos en este trabajo.

En relación con el ensayo de actividad antimicrobiana de las NE, no se ha encontrado que la curcumina inhiba la acción de estas bacterias ácido lácticas pero si se ha reportado la actividad antimicrobiana de la misma ante microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus* (Teow *et al.* 2016), *Escherichia coli* 0157:H7, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* (Hosny *et al.* 2011) y *Helicobacter pylori* (Hussein *et al.* 2007), por citar algunos ejemplos.

**Caracterización de los quesos tipo Manchego.** Lobato-Calleros *et al.* (2003) reportó valores de humedad similares a los de esta investigación, sin embargo, estos valores fueron menores a los reportados por Salazar-Montoya *et al.* (2017), esto puede ser debido a las diferencias en las metodologías utilizadas en la fabricación del queso. Con respecto al contenido de sólidos totales, se obtuvieron valores menores de estos en el estudio realizado por Salazar-Montoya *et al.* (2017) y Cabezas *et al.* (2007) mostraron valores de sólidos totales entre 57.54 y 54.95% al comienzo de la maduración y aproximadamente 60% a los 60 días. Los niveles de grasa fueron más bajos que los reportados por Cabezas *et al.* (2007) en queso manchego; esta diferencia puede ser causada por el tipo de materia prima utilizada y el tipo de microorganismos que llevan a cabo la madurez. En las investigaciones realizadas por Salazar-Montoya *et al.* (2017) y Lobato-Calleros *et al.* (2003) también se obtuvieron niveles más altos de grasa en queso tipo manchego con microorganismos en estado libre. En cuanto al contenido de proteínas, se obtuvieron resultados similares a los reportados por Salazar-Montoya *et al.* (2017) y Lobato-Calleros *et al.* (2003) en queso tipo manchego y a los reportados por Lee *et al.* (2015) en queso appenzeller.

Algunos trabajos realizados en quesos a los cuales se les determinó proteólisis son los presentados por Tejada *et al.* (2008) en queso de leche de cabra (Murcia al Vino) con cuajo de ternera y coagulante vegetal, donde los quesos producidos con coagulante vegetal presentaron una proteólisis más intensa; así también Pino *et al.* (2009) reportó que los valores de nitrógeno soluble para el queso elaborado con coagulante vegetal en polvo ( $16.4 \pm 0.6 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ NT}$ ) fue más alto que las muestras obtenidas con cuajo de ternero ( $11.3 \pm 3.2 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1} \text{ NT}$ ). También se demostró que el contenido de nitrógeno soluble en agua fue ligeramente superior al control al adicionar dos tipos de lipasa (Palatasa M y Lipasa 50) encapsuladas en liposomas en queso Cheddar (Kheadret *et al.* 2002).

Kheadret *et al.* (2002) también reportó que la producción de ácidos grasos libres se aceleró mediante la adición de estas enzimas encapsuladas. Por otra parte, Karaca y Güven (2018) también reportaron que los suplementos de enzimas Neutrase, originada por *Bacillus subtilis* y Piccantase A, originada por *Mucor*

*miehei*, provocaron un aumento de la proteólisis y lipólisis en quesos blancos. En el trabajo realizado por Del Olmo *et al.* (2019) se estudió la suplementación con cinco especies de algas comestibles en queso Ibérico semiduro con *Himanthalia elongata*, *Laminaria ochroleuca*, *Porphyra umbilicalis*, *Ulva lactuca* o *Undaria pinnatifida* y su efecto sobre la proteólisis y lipólisis. En el mismo se registró una fuerte correlación entre la actividad lipasa de las algas deshidratadas y la concentración de ácidos grasos libres totales siendo más intensa la lipólisis en el queso con *U. lactuca* añadida que mostró en el día 60 de maduración 6.0 veces más concentración de ácidos grasos libres totales que el queso control.

Los ácidos grasos más abundantes en este queso coinciden también con los reportados por Cortes y Guedes (2010) en su investigación. Se observa que los ácidos grasos C4:0 y C6:0 en los tratamientos con curcumina tuvieron una ligera disminución a medida que aumentaba la concentración de la misma. La interpretación de estos resultados puede explicarse por la posición de los ácidos grasos en el triacilglicérido que no es aleatoria. En un estudio realizado por De la Fuente *et al.* (1993), donde establecieron una comparación entre los niveles de diferentes ácidos grasos en las fracciones de triglicéridos y de ácidos grasos libres, demostraron que existían diferencias para los ácidos grasos de cadena corta y media (C4:0, C6:0 y C8:0) en ambas fracciones, particularmente en el caso de los ácidos butíricos y caproicos. Los ácidos grasos C4:0 y C6:0 se encuentran predominantemente en la posición sn-3 y las posiciones sn-1 y sn-3, respectivamente; a medida que aumenta la longitud de la cadena hasta C16:0, se esterifican en la posición sn-2. C18:0 generalmente se encuentra en la posición sn-1, mientras que los ácidos grasos insaturados se esterifican principalmente en las posiciones sn-1 y sn-3 (Collins *et al.* 2003). Según De la Fuente *et al.* (1993) las lipasas involucradas en la maduración del queso principalmente hidrolizan ácidos grasos de cadena corta y tienden a ser específicas para la posición sn-3. Por su parte, la mayoría de los ácidos grasos de cadena larga que presentaron diferencias significativas, la concentración fue mayor a medida que aumentaba la concentración de curcumina.



En cuanto a la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales, resultados similares a los de este trabajo fueron reportados por Sharma *et al.* (2011) que estudiaron la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en mezclas de brócoli y queso en polvo, reportando que la muestra que contenía 10% de polvo de brotes de brócoli secos convencionales tuvo la menor cantidad de polifenoles totales mientras que la muestra que contenía 50% de polvo tuvo la mayor cantidad de los mismos. Por otra parte Rashidinejad *et al.* (2016a) estudiaron el efecto de las catequinas del té verde sobre las propiedades antioxidantes y la microestructura del queso, y la recuperación de las mismas después de una digestión gastrointestinal simulada, donde el queso fortificado con 1000 ppm de extracto de té verde mostró un mayor contenido de fenoles totales comparado con los otros dos quesos que contenían 250 y 500 ppm. Este mismo autor reportó valores de FRAP donde el queso fortificado con 500 ppm de extracto de té verde en los tres puntos diferentes de maduración (Días 0, 30 y 90) fueron significativamente más bajos ( $p \leq 0.05$ ) que el queso fortificado con 1000 ppm de extracto de té verde. En 2016, Rashidinejad *et al.* (2016b) estudiaron el efecto de catequina en el contenido fenólico y la actividad antioxidante de un queso rico en grasa, donde demostraron que la adición de catequina aumentó los valores de FRAP y el contenido de fenoles totales. Batool *et al.* (2018) estudiaron el impacto de la vitamina E y el selenio en la capacidad antioxidante y la oxidación de lípidos del queso Cheddar con maduración acelerada. Uno de los métodos empleados fue el ensayo DPPH donde las muestras suplementadas con selenio y vitamina E fueron superiores a los no suplementados y al queso estándar. A medida que aumentaba la concentración de vitamina E o selenio aumentaba la capacidad antioxidante, y esta era aún mayor cuando se usaban en combinación.

En relación con el color, Tarakci *et al.* (2011) determinaron la influencia del ajo silvestre sobre el color en queso Herby Pickled y sus resultados se comportaron similares a los de esta investigación con respecto a los valores de  $L^*$  que disminuyeron con la adición del ajo silvestre. Wadhvani y McMahon (2012) estudiaron el color del queso Cheddar bajo en grasa y su influencia en la percepción del sabor y el gusto del consumidor; en su caso los valores de  $b^*$  también aumentaron a medida que los quesos contenían

mayor cantidad de annato, acentuando así el color amarillo. En la mayoría de los trabajos encontrados en la literatura el valor de  $a^*$  en los quesos normalmente aumenta con la maduración, aunque a veces con valores positivos (El-Nimr *et al.* 2010) y otras con valores negativos (Tarakci *et al.* 2011). En este caso los tratamientos con curcumina presentaron valores negativos lo que indica quesos verdes, no siendo así en el queso testigo donde se obtuvo un valor positivo que representa un color rojo en el queso.

En la evaluación sensorial, Lee *et al.* (2015) tampoco encontraron diferencias en la textura y la aceptación global del queso Appenzeller suplementado con polvo de camarón en diferentes porcentajes. Por otra parte, Farbod *et al.* (2015) investigaron el efecto del tiempo de almacenamiento en las propiedades sensoriales del queso UF-Feta iraní bajo en grasa fortificado con aceite de pescado o polvo de aceite de pescado. Las puntuaciones sensoriales de aceite de pescado fueron significativamente más altas que las de la muestra de polvo de aceite de pescado ( $P < 0.05$ ), y obtuvieron hasta el 70% de la aceptabilidad general después de 30 y 60 días de almacenamiento por su mejor dureza, textura y sabor.

Otros trabajos realizados en queso manchego son los reportados por Fernández-García *et al.* (2002a) donde establecieron una comparación de las características sensoriales entre queso manchego elaborado con leche cruda y pasteurizada, donde los quesos realizados con leche cruda tuvieron puntajes significativamente más altos para la intensidad de olor y aroma en todas las etapas de madurez. Fernández-García *et al.* (2002b) también estudiaron la variabilidad estacional de la fracción volátil de la leche cruda del queso manchego y sus características sensoriales, donde no se encontraron diferencias estacionales significativas ( $P > 0.05$ ) para la calidad o puntuaciones de intensidad.

Santillo y Albenzio *et al.* (2015) determinaron el perfil sensorial en un queso ovino funcional, donde los quesos con probióticos obtuvieron calificaciones más altas para los atributos salados y picantes que el queso control; además se detectó un efecto de interacción del probiótico, el género y la edad de los consumidores en el gusto percibido y esperado.

## CONCLUSIONES

La adición de curcumina nanoemulsionada en la elaboración de queso tipo manchego con leche de oveja pelibuey tuvo un efecto positivo en la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales del mismo. Esto se demostró principalmente al observarse que los quesos que contenían curcumina nanoemulsionada presentaron mayor capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales que el queso testigo. Además no se observaron diferencias estadísticas en la humedad, sólidos totales, sólidos no grasos, proteína, grasa, cenizas y actividad de agua de los mismos. A pesar de presentar diferencias en el olor, sabor, textura, apariencia y color (característica que se vio más afectada al obtenerse quesos verde-amarillos y menos luminosos) los quesos fueron aceptados sensorialmente. A su vez el grado de proteólisis y lipólisis fue mayor en los quesos con curcumina nanoemulsionada.

## LITERATURA CITADA

- Akram M, Shahab U, Afzal A, Usmanghani K, Abdul E, Mohiuddin M (2010). Curcuma Longa L. and Curcumin: A review article Rom. Journal of Plant Biology 55: 65-70.
- Alyaqoubi S, Abdullah A, Samudi M, Abdullah N, Radhi Z, Al-ghazali A, Al-ghazali M (2014). Effect of Different Factors on Goat Milk Antioxidant Activity .International Journal of ChemTech Research 6: 3091-3196.
- Aziz NA, Azlan A, Ismail A, Alinafiah SM, Razman MR (2013). Quantitative determination of fatty acids in marine fish and shellfish from warm water of straits of malacca for nutraceutical purposes. BioMed Research International 2013: 1-12.
- Batool M, Nadeem M, Imran M, Gulzar N, Shahid MQ, Shahbaz M, Ajmal M, Khan IT (2018). Impact of vitamin E and selenium on antioxidant capacity and lipid oxidation of cheddar cheese in accelerated ripening. Lipids in Health and Disease 17: 79-83.
- Benzie IFF, Strain JJ (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical Biochemistry 239: 70-76.
- Bligh EG, Dyer WJ (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology 37: 911-917.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT - Food Science and Technology 28: 25-30.

- Bucevic-Popovic V, Delas I, Medugorac S, Pavela-Vrancic, M, Kulisic-Bilusic T (2014). Oxidative stability and antioxidant activity of bovine, caprine, ovine and asinine milk. *International Journal of Dairy Technology* 67: 394-401.
- Cabezas L, Sánchez I, Poveda JM, Seseña S, Palop MLL (2007). Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control* 18: 11-17.
- Cardoso-Ugarte GA, Jiménez-Munguía MT (2015). Nanoemulsiones en alimentos: preparación y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 9: 15-24.
- Carvalho AP, Malcata FX(2005). Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Marine Lipids: Insight Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53: 5049-5059.
- Cavazos-Garduño A, Ochoa-Flores AA, Serrano-Niño JC, Beristain CI, García HS (2014). Operating and compositional variables for preparation of betulinic acid nanoemulsions. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 13: 689-703.
- Cavazos-Garduño A, Ochoa-Flores AA, Serrano-Niño JC, Martínez-Sánchez CE, Beristain CI, García HS (2015). Preparation of betulinic acid nanoemulsions stabilized by  $\omega$ -3 enriched phosphatidylcholine. *Ultrasonics Sonochemistry* 24: 204-213.
- ChangY, McClements DJ(2014). Optimization of Orange Oil Nanoemulsion Formation by Isothermal Low-Energy Methods: Influence of the Oil Phase, Surfactant, and Temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 2306-2312.
- Collins YF, McSweeney PLH, Wilkinson MG (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge *International Dairy Journal* Volume 13: 841-866.
- Cortes J, Guedes A (2010). Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 782-789.
- Cortés-Sánchez A, León-Sánchez JR, Jiménez-González FJ, Díaz-Ramírez M, Villanueva-Carvajal A, Guzmán-Medina CA (2016). Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos. *Mutis* 6: 28-40.
- De la Fuente MA, Fontecha J, Jufirez M (1993). Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats- milk cheeses. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* 196: 155-158.
- Deeth HC, Fitz-Gerald CH (1976). Lipolysis in dairy products: A review. *Australian Journal of Dairy Technology* 31: 53-64.
- Del Olmo A, López-Pérez O, PiconA, Gaya P, Nuñez M (2019). Cheese supplementation with five species of edible seaweeds: Effect on proteolysis, lipolysis and volatile compounds.*International Dairy Journal* 90: 104-113.
- Di Martino RMC, Luppi B, Bisi A, Gobbi S, Rampa A, Abruzzo A, Belluti F (2017). Recent progress on curcumin-based therapeutics: a patent review (2012-2016). Part I: Curcumin. *Expert opinion on therapeutic patents* 27: 579-590.
- Dulbecco P, Savarino V (2013). Therapeutic potential of curcumin in digestive diseases. *World Journal of Gastroenterology* 19: 9256-9270.

- El-Nimr AA, Eissa HA, El-Abd MM, Mehriz AA, Abbas HM, Bayoumi HM (2010). Water Activity, Color Characteristics and Sensory Properties of Egyptian Gouda Cheese during Ripening. *Journal of American Science* 6: 447- 453.
- FAO (2016). Producción y productos lácteos. <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/composicion-de-la-leche/es/#.V-r-FSHhC00>. Consultado el 27 de septiembre de 2016.
- Farbod F, Kalbasi A, Moïni S, Emam-Djomeh Z, Razavi H, Mortazavi A (2013). Effects of storage time on compositional, micro-structural, rheological and sensory properties of low fat Iranian UF-Feta cheese fortified with fish oil or fish oil powder. *Journal of Food Science and Technology* 52: 1372-82.
- Fernández-García E, Carbonell M, Núñez M (2002a). Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. 1. Comparison of raw and pasteurized milk cheese. *Journal Dairy Research* 69: 579-93.
- Fernández-García E, Serrano C, Núñez M (2002b). Volatile fraction and sensory characteristics of Manchego cheese. 2. Seasonal variation. *Journal Dairy Research* 69: 595-604.
- Gómez-Cortés P, Bach A, Luna P, Juárez M, De la Fuente MA (2009). Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal Dairy Science* 92:4122-4134.
- Gómez-Cortés P, Bach A, Luna P, Juárez M, De la Fuente, MA (2009). Effects of extruded linseed supplementation on n-3 fatty acids and conjugated linoleic acid in milk and cheese from ewes. *Journal Dairy Science* 92:4122-4134.
- Gryniewicz G, Slifirski P (2012). Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochimica Polonica* 59: 201-212.
- Holdt SL, Kraan S (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal Applied Phycology* 23: 543-597.
- Hosny IM, El Kholly WI, Murad HA, El Dairouty RK (2011). "Antimicrobial activity of Curcumin upon pathogenic microorganisms during manufacture and storage of a novel style cheese 'Karishcum'." *Journal of American Science* 7: 611-618.
- Hussein MZ, Gohar YM, Farag W (2007). In Vitro Synergistic Action of Curcumin and *Lactobacillus acidophilus* with Antibiotics against *Helicobacter pylori*. *Egyptian Journal of Medical Microbiology* 16: 521-531.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (2017). Producción y ventas netas de los establecimientos manufactureros por clase de actividad familia y productos elaborados. Disponible en: [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx).
- Jirillo F, Jirillo E, Magrone T (2010). Donkey's and goat's milk consumption and benefits to human health with special reference to the inflammatory status. *Current Pharmaceutical Design* 16: 859-863.

- Karaca OB, Güven M (2018). Effects of Proteolytic and Lipolytic Enzyme Supplementations on Lipolysis and Proteolysis Characteristics of White Cheeses. *Foods*, 7: 1-14.
- Kheadr EE, Vuillemand JC, El-Deeb SA (2002). Acceleration of Cheddar Cheese Lipolysis by Using Liposome-entrapped Lipases. *Journal of Food Science* 67:485-492.
- Klang V, Valenta C (2011). Lecithin-based nanoemulsions. *Journal Drug Delivery Sciences Technology* 21: 55-76.
- Košťálová D, Bezáková L, Račková L, Mošovská S, Šturdíka E (2013). Therapeutic potential of curcumin in medicinal chemistry. *Acta Chimica Slovaca* 6: 89-99.
- Kremer R, Rosés L (2016). Production and composition of milk of Milchschaaf (East Friesian) sheep, milked 1 vs 2 times a day. *Veterinaria (Montevideo)* 52: 22-28.
- Lawless HT, Heymann H (2010). *Sensory Evaluation of Food*. Food Science Text Series. pp: 19-56.
- Lee JS, Choi HY, Kim KH, Chun SS, Baen I (2015). Physicochemical and Sensory Properties of Appenzeller Cheese Supplemented with Shrimp Powder. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources* 35: 232-239.
- Li S, Yuan W, Deng G, Wang P, Yang P, Aggarwal BB (2011). Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops* 5: 28-54.
- Lobato-Calleros C, Velázquez-Varela J, Sánchez-García J, Vernon-Carter EJ (2003). Dynamic rheology of Mexican Manchego cheese-like products containing canola oil and emulsifier blends. *Food Research International* 36: 81-90.
- McClements DJ (2011). Edible nanoemulsions: Fabrication, properties, and functional performance. *Soft Matter* 7: 2297-2316.
- Moelants KRN, Lemmens L, Vandebroek M, Van Buggenhout S, Van Loey AM, Hendrick ME (2012). Relation between particle size and carotenoid bioaccessibility in carrot- and tomato-derived suspensions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 11995-12003.
- Moo-Huchin VM, Moo-Huchin MI, Estrada-León RJ, Cuevas-Glory L, Estrada-Mota IA, Ortiz-Vázquez E, Betancur-Ancona D, Sauri-Duch E (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry* 166: 17-22.
- Norma Oficial Mexicana NOM 155-SCFI-2003. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Nudda A, McGuire MA, Battacone G, Pulina G (2005). Seasonal Variation in Conjugated Linoleic Acid and Vaccenic Acid in Milk Fat of Sheep and its Transfer to Cheese and Ricotta. *Journal Dairy Science* 88: 1311-1319.
- Ochoa AA, Hernández-Becerra JA, Cavazos-Garduño A, Vernon-Carter EJ, García HS (2016). Preparation and characterization of curcumin nanoemulsions obtained by thin-film hydration emulsification and ultrasonication methods. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 15: 79-90.

- Ozen AE, Pons A, Tur JA (2012). Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. *Nutrition Reviews* 70: 472-481.
- Pino A, Prados F, Galán E, McSweeney PLH, Fernández-Salguero J (2009). Proteolysis during the ripening of goats' milk cheese made with plant coagulant or calf rennet. *Food Research International* 42: 324-330.
- Rashidinejad A, Birch EJ, Sun-Waterhouse D, Everett DW (2013). Effects of catechin on the phenolic content and antioxidant properties of low-fat cheese. *International Journal of Food Science and Technology* 48: 2448-2455.
- Rashidinejad A, Birch EJ, Everett DW (2016b). Effects of (+)-Catechin on the Composition, Phenolic Content and Antioxidant Activity of Full-Fat Cheese during Ripening and Recovery of (+)-Catechin after Simulated In Vitro Digestion. *Antioxidants* 5: 29.
- Ribeiro AC (2010). Specialty products made from goat milk. *Small Ruminant Research* 89: 225-233.
- Rashidinejad A, Birch EJ, Everett DW (2016a). Antioxidant activity and recovery of green tea catechins in full-fat cheese following gastrointestinal simulated digestion. *Journal of Food Composition and Analysis* 48: 13-24.
- Salazar-Montoya JA, González-Cuello R, Flores-Girón E, Ramos-Ramírez EG (2018). Effect of free and microencapsulated *Lactococcus lactis* on composition and rheological properties of Manchego-type cheeses during ripening. *Food Research International* 105: 59-64.
- Salvia-Trujillo L, Martín-Belloso O, McClements DJ (2016). Excipient nanoemulsions for improving oral bioavailability of bioactives. *Nanomaterials* 6: 17.
- Santillán-Urquiza E, Méndez-Rojas MA, Vélez-Ruiz JF (2014). Productos lácteos funcionales, fortificados y sus beneficios en la salud humana. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 8: 5-14.
- Santillo A, Albenzio M (2015). Sensory Profile and Consumers' Liking of Functional Ovine Cheese. *Foods* 4: 665-677.
- Sathish M, Priyadarsini R, Sunitha PG, Saraswathy T (2013). Antimicrobial activity of the extracts and isolated compounds of *clerodendrum phlomidis*. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 5: 362-366.
- Serra A, Conte G, Ciucci F, Bulleri E, Corrales-Retana L, Cappucci A, Buccioni A, Mele M (2018). Dietary linseed supplementation affects the fatty acid composition of the sn-2 position of triglycerides in sheep milk. *Journal of Dairy Science* 101:6742-6751.
- Shah P, Bhalodia D, Shelat P (2010). Nanoemulsion: A pharmaceutical review. *Systematic Reviews in Pharmacy* 1: 24-32.
- Shaikh J, Ankola DD, Beniwal V, Singh D, Kumar MN (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 37: 223-230.
- Sharma KD, Stähler K, Smith B, Melton L (2011). Antioxidant capacity, polyphenolics and pigments of broccoli-cheese powder blends. *Journal of Food Science and Technology* 48: 510-514.

- SIAP (2016). Panorama de la leche en México. [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Diciembre2016.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf). Consultado el 1 de julio de 2017.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
- Tarakci Z, Temiz H, Aykut U, Turhan S (2011). Influence of wild garlic on color, free fatty acids, and chemical and sensory properties of Herby Pickled cheese. *International Journal of Food Properties* 14: 287-299.
- Tejada L, Abellán A, Cayuela JM, Martínez-Cacha A, Fernández-Salguero J (2008). Proteolysis in goats' milk cheese made with calf rennet and plant coagulant. *International Dairy Journal* 18: 139-146.
- Teow SY, Liew K, Ali SA, Khoo ASB, Peh Sch (2016). Antibacterial action of curcumin against *Staphylococcus aureus*: a brief review. *Journal of Tropical Medicine* 2016: 1-10.
- Tidona F, Sekse C, Criscione A, Jacobsen M, Bordonaro S, Marletta, D, Vegarud GE (2011). Antimicrobial effect of donkeys' milk digested in vitro with human gastrointestinal enzymes. *International Dairy Journal* 28: 158-165.
- Velasco-Rodríguez V, Cornejo-Mazón M, Flores-Flores, JO, Gutiérrez-López GF, Hernández-Sánchez H (2012). Preparation and properties of alpha-lipoic acid-loaded chitosan nanoparticles. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 11: 155-161.
- Vergara O, Camargo I, Henríquez T, Vergara de Caballero E, Mojica de Torres E, Espinosa J, Montenegro S (2011). Evaluación sensorial de arroz biofortificado, variedad IDIAP Santa Cruz 11, en granjas autosostenibles del Patronato de Nutrición en la Provincia de Coclé, Panamá perspectivas en nutrición humana 13: 147-160.
- Villegas A, Cervantes F (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales* 19: 147-164.
- Wadhvani R, McMahon DJ (2011). Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science* 95: 2336-2346.
- Witkin JM, Li X (2013). Curcumin, an active constituent of the ancient medicinal herb *Curcuma longa* L.: some uses and the establishment and biological basis of medical efficacy. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets* 12: 1-11.
- Yen CLE, Stone SJ, Koliwad S, Harris C, Farese RV (2008). DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis. *Journal of Lipid Research* 49:2283-2301-
- Yilmaz-Ersan L, Ozcan T, Akpınar-Bayazit A, Sahin S (2018). Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefir. *Journal of Dairy Science* 101: 3788-3798.



**Tabla 1.** Características físico-químicas de la leche de oveja Pelibuey utilizada en la elaboración de los quesos tipo Manchego adicionados con curcumina nanoemulsionada

Característica	Valor obtenido*
Densidad a 15°C (g/mL)	1.0304 ± 0.0003
Acidez expresada como ácido láctico (g/L)	2.25 ± 0.01
Sólidos totales (% p/v)	17.14 ± 0.19
Sólidos no grasos (% p/v)	11.73 ± 0.22
Lactosa (% p/v)	4.50 ± 0.07
Proteína (% p/v)	5.66 ± 0.07
Grasa (% p/v)	5.41 ± 0.25
Cenizas (% p/v)	1.06 ± 0.05
Fenoles totales (mg eq de ácido gálico/L)	139.34 ± 26.37
Capacidad antioxidante por el método de DPPH (mM eq Trolox/mL)	15.99 ± 3.58
Capacidad antioxidante por el método de FRAP (mM eq Trolox/mL)	5.06 ± 0.97

\*Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar.

**Tabla 2.** Concentración de ácidos grasos en la grasa de leche de oveja Pelibuey utilizada en la elaboración de los quesos tipo Manchego adicionados con curcumina nanoemulsionada

Ácido graso	g de ácidos grasos por cada 100 g de grasa*
4:0	3.106 ± 0.113
6:0	2.318 ± 0.055
8:0	2.174 ± 0.093
10:0	6.031 ± 0.360
12:0	4.070 ± 0.259
14:0	9.253 ± 0.324
14:1 <i>n</i> -9	0.200 ± 0.006
14:1 <i>n</i> -7	0.196 ± 0.005
14:1 <i>n</i> -5	0.359 ± 0.012
15:0	0.668 ± 0.019
15:1 <i>n</i> -7	0.208 ± 0.007
16:0	22.554 ± 0.651
16:1 <i>n</i> -9	0.397 ± 0.011
16:1 <i>n</i> -7	0.868 ± 0.027
16:1 <i>n</i> -3	0.304 ± 0.016
17:0	0.436 ± 0.010
17:1 <i>n</i> -8	0.205 ± 0.016
18:0	8.738 ± 0.263
18:1 <i>n</i> -9	22.082 ± 0.783
18:2 <i>n</i> -6	2.063 ± 0.157
18:3 <i>n</i> -3	0.321 ± 0.040
Sumatorias	
Saturados	59.350 ± 1.920
Monoinsaturados	24.818 ± 0.883
Poliinsaturados	2.384 ± 0.113
Cadena corta	3.106 ± 0.113
Cadena media	14.593 ± 0.767
Cadena larga	68.853 ± 2.262
Omega 3 ( <i>n</i> -3)	0.625 ± 0.024
Omega 6 ( <i>n</i> -6)	2.063 ± 0.153
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	3.301 ± 0.037
Aterogénicos	35.878 ± 1.234
Índice de aterogenicidad	2.340 ± 0.005

\* Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar.

**Tabla 3.** Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en la composición de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey

Característica	Tratamientos			
	Testigo*	Curcumina nanoemulsionada		
		5 ppm	7.5 ppm	10 ppm
Humedad (% p/p)	50.87 ± 0.94 <sup>a</sup>	49.42 ± 0.77 <sup>a</sup>	49.34 ± 2.36 <sup>a</sup>	44.17 ± 4.67 <sup>a</sup>
Sólidos totales (% p/p)	49.13 ± 0.94 <sup>a</sup>	50.58 ± 0.77 <sup>a</sup>	50.66 ± 2.36 <sup>a</sup>	55.83 ± 4.67 <sup>a</sup>
Sólidos no grasos (% p/p)	27.31 ± 2.01 <sup>a</sup>	28.08 ± 2.24 <sup>a</sup>	27.09 ± 2.00 <sup>a</sup>	31.37 ± 4.53 <sup>a</sup>
Proteína (% p/p)	22.43 ± 0.43 <sup>a</sup>	22.85 ± 0.41 <sup>a</sup>	23.31 ± 0.11 <sup>a</sup>	23.54 ± 0.63 <sup>a</sup>
Grasa (% p/p)	21.82 ± 1.22 <sup>a</sup>	22.50 ± 1.47 <sup>a</sup>	23.57 ± 0.61 <sup>a</sup>	24.46 ± 2.00 <sup>a</sup>
Cenizas (% p/p)	3.64 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.66 ± 0.04 <sup>a</sup>	3.71 ± 0.18 <sup>a</sup>	3.75 ± 0.01 <sup>a</sup>
Actividad de agua a 25.5 °C	0.969 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.972 ± 0.001 <sup>a</sup>	0.972 ± 0.003 <sup>a</sup>	0.973 ± 0.004 <sup>a</sup>
Rendimiento (% p/p)	17.27 ± 0.67 <sup>a</sup>	16.05 ± 0.50 <sup>a</sup>	16.94 ± 0.10 <sup>a</sup>	16.29 ± 0.56 <sup>a</sup>
Nitrógeno total (% p/p)	3.52 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.58 ± 0.07 <sup>a</sup>	3.65 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.69 ± 0.09 <sup>a</sup>
Nitrógeno soluble en agua (% p/p)	1.01 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.15 ± 0.19 <sup>ab</sup>	1.17 ± 0.05 <sup>ab</sup>	1.36 ± 0.15 <sup>b</sup>
Nitrógeno soluble en ácido cítrico (% p/p)	0.60 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.65 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.69 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.74 ± 0.07 <sup>b</sup>
Nitrógeno soluble en ácido tricloroacético (% p/p)	0.51 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.02 <sup>a</sup>
Nitrógeno soluble en ácido fosfotúngstico (% p/p)	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.19 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.22 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.30 ± 0.01 <sup>c</sup>
Nitrógeno soluble en agua/nitrógeno total (% p/p)	28.84 ± 2.01 <sup>a</sup>	32.26 ± 5.64 <sup>ab</sup>	31.89 ± 1.41 <sup>ab</sup>	37.01 ± 5.13 <sup>b</sup>
Ácidos grasos libres (meq de KOH/100 g de grasa)	3.13 ± 0.25 <sup>a</sup>	2.14 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.97 ± 0.13 <sup>b</sup>	1.99 ± 0.23 <sup>b</sup>

Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar; dentro de la misma fila letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). \*Testigo: queso elaborado con leche de oveja Pelibuey adicionada con bixina (10 ppm).

**Tabla 4.** Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey

Característica	Tratamientos			
	Testigo*	Curcumina nanoemulsionada		
		5 ppm	7.5 ppm	10 ppm
Fenoles totales (mg eq de ácido gálico/100 g de queso)	213.49 ± 3.56 <sup>a</sup>	245.65 ± 8.81 <sup>b</sup>	280.90 ± 3.13 <sup>c</sup>	307.91 ± 4.41 <sup>d</sup>
Capacidad antioxidante por el método de DPPH (mM eq de Trolox/g de queso)	11.66 ± 0.81 <sup>a</sup>	11.90 ± 0.39 <sup>a</sup>	12.66 ± 0.47 <sup>ab</sup>	13.73 ± 0.64 <sup>b</sup>
Capacidad antioxidante por el método de FRAP (mM eq de Trolox/g de queso)	3.45 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.74 ± 0.30 <sup>a</sup>	4.27 ± 0.09 <sup>b</sup>	4.73 ± 0.10 <sup>c</sup>

Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar; dentro de la misma fila letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). \*Testigo: queso elaborado con leche de oveja Pelibuey adicionada con bixina (10 ppm).

**Tabla 5.** Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en la concentración de ácidos grasos, en g por cada 100 g de la grasa, de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey

Ácido graso	Tratamientos			
	Testigo	Curcumina nanoemulsionada		
		5 ppm	7.5 ppm	10 ppm
4:0	3.32 ± 0.34 <sup>a</sup>	13.02 ± 0.18 <sup>b</sup>	6.50 ± 0.46 <sup>b</sup>	2.82 ± 0.11 <sup>a</sup>
6:0	2.09 ± 0.33 <sup>a</sup>	4.58 ± 0.49 <sup>b</sup>	3.65 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.09 ± 0.03 <sup>a</sup>
8:0	2.03 ± 0.22 <sup>a</sup>	2.69 ± 0.20 <sup>a</sup>	2.22 ± 0.21 <sup>a</sup>	2.00 ± 0.01 <sup>a</sup>
10:0	5.49 ± 0.61 <sup>a</sup>	5.77 ± 0.25 <sup>a</sup>	5.62 ± 0.13 <sup>a</sup>	5.44 ± 0.07 <sup>a</sup>
12:0	3.43 ± 0.10 <sup>a</sup>	3.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	3.50 ± 0.40 <sup>a</sup>	3.66 ± 0.05 <sup>a</sup>
14:0	7.00 ± 0.98 <sup>a</sup>	7.40 ± 0.66 <sup>a</sup>	7.95 ± 0.91 <sup>a</sup>	8.66 ± 0.10 <sup>a</sup>
14:1 <i>n</i> -9	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>b</sup>
14:1 <i>n</i> -7	0.14 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.18 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>
14:1 <i>n</i> -5	0.26 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.22 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.34 ± 0.01 <sup>c</sup>
15:0	0.50 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.61 ± 0.02 <sup>bc</sup>	0.65 ± 0.01 <sup>c</sup>
15:1 <i>n</i> -7	0.15 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.19 ± 0.01 <sup>ab</sup>	0.20 ± 0.01 <sup>b</sup>
16:0	16.80 ± 0.74 <sup>a</sup>	19.57 ± 0.75 <sup>b</sup>	20.31 ± 0.66 <sup>b</sup>	20.66 ± 0.17 <sup>b</sup>
16:1 <i>n</i> -9	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.37 ± 0.01 <sup>b</sup>
16:1 <i>n</i> -7	0.28 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.01 <sup>b</sup>
16:1 <i>n</i> -3	0.20 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.27 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.29 ± 0.01 <sup>b</sup>
17:0	0.31 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.02 <sup>ab</sup>	0.43 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.01 <sup>b</sup>
17:1 <i>n</i> -8	0.16 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.17 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.26 ± 0.01 <sup>b</sup>
18:0	6.61 ± 0.58 <sup>a</sup>	7.34 ± 0.78 <sup>a</sup>	7.40 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.95 ± 0.09 <sup>a</sup>
18:1 <i>n</i> -9	15.36 ± 0.37 <sup>a</sup>	16.37 ± 1.55 <sup>a</sup>	18.20 ± 0.89 <sup>ab</sup>	20.12 ± 0.17 <sup>b</sup>
18:2 <i>n</i> -6	1.48 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.06 <sup>ab</sup>	1.79 ± 0.14 <sup>ab</sup>	1.92 ± 0.01 <sup>b</sup>
18:3 <i>n</i> -3	0.25 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.01 <sup>a</sup>
		Sumatorias		
Saturados	47.59 ± 0.36 <sup>a</sup>	64.75 ± 0.48 <sup>d</sup>	58.17 ± 0.24 <sup>c</sup>	54.35 ± 0.03 <sup>b</sup>
Insaturados	18.67 ± 0.49 <sup>a</sup>	20.14 ± 1.48 <sup>a</sup>	22.29 ± 1.17 <sup>ab</sup>	24.56 ± 0.17 <sup>b</sup>
Monoinsaturados	16.94 ± 0.40 <sup>a</sup>	18.21 ± 1.50 <sup>a</sup>	20.25 ± 0.99 <sup>ab</sup>	22.32 ± 0.17 <sup>b</sup>
Poliinsaturados	1.72 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.93 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.04 ± 0.18 <sup>ab</sup>	2.24 ± 0.01 <sup>b</sup>
Cadena corta	3.32 ± 0.34 <sup>a</sup>	13.02 ± 0.18 <sup>c</sup>	6.50 ± 0.46 <sup>b</sup>	2.82 ± 0.11 <sup>a</sup>
Cadena media	13.05 ± 1.06 <sup>a</sup>	16.47 ± 0.98 <sup>b</sup>	14.99 ± 0.04 <sup>ab</sup>	13.19 ± 0.10 <sup>a</sup>
Cadena larga	49.89 ± 0.84 <sup>a</sup>	55.39 ± 0.81 <sup>b</sup>	58.97 ± 0.99 <sup>c</sup>	62.91 ± 0.35 <sup>d</sup>
Omega 3 ( <i>n</i> -3)	0.45 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.03 <sup>ab</sup>	0.51 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.61 ± 0.01 <sup>b</sup>
Omega 6 ( <i>n</i> -6)	1.48 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.06 <sup>ab</sup>	1.79 ± 0.14 <sup>ab</sup>	1.92 ± 0.01 <sup>b</sup>
<i>n</i> -6/ <i>n</i> -3	0.33 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.01 <sup>a</sup>
Aterogénicos	27.23 ± 0.14 <sup>a</sup>	30.40 ± 1.37 <sup>b</sup>	31.75 ± 0.65 <sup>b</sup>	32.98 ± 0.02 <sup>b</sup>
Índice de aterogenicidad	0.26 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de tres determinaciones  $\pm$  desviación estándar; dentro de la misma fila letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). \*Testigo: queso elaborado con leche de oveja Pelibuey adicionada con bixina (10 ppm).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

**Tabla 6.** Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en el color de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey

Parámetro	Tratamientos			
	Testigo*	Curcumina nanoemulsionada		
		5 ppm	7.5 ppm	10 ppm
<i>L</i> *	77.13± 1.51 <sup>a</sup>	75.03± 0.49 <sup>ab</sup>	74.03± 1.04 <sup>ab</sup>	76.50± 0.36 <sup>b</sup>
<i>a</i> *	0.57± 0.67 <sup>a</sup>	-0.90± 0.78 <sup>b</sup>	-0.73± 0.76 <sup>b</sup>	-1.90± 0.78 <sup>c</sup>
<i>b</i> *	11.57 ± 1.66 <sup>a</sup>	18.07± 2.12 <sup>b</sup>	18.80± 1.77 <sup>b</sup>	20.30± 0.90 <sup>b</sup>

Cada valor representa la media de tres determinaciones ± desviación estándar; dentro de la misma fila letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). *L*\* luminosidad, *a*\*coordenadas rojo/verde, *b*\*coordenadas amarillo/azul. \*Testigo: queso elaborado con leche de oveja Pelibuey adicionada con bixina (10 ppm).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.

**Tabla 7.** Efecto de la adición de curcumina nanoemulsionada en las características sensoriales de los quesos tipo Manchego elaborados con leche de oveja Pelibuey

Característica	Tratamientos			
	Testigo*	Curcumina nanoemulsionada		
		5 ppm	7.5 ppm	10 ppm
Color	6.80 ± 1.69 <sup>a</sup>	6.06 ± 1.95 <sup>b</sup>	6.09 ± 1.87 <sup>b</sup>	5.89 ± 2.06 <sup>b</sup>
Olor	6.85 ± 1.68 <sup>a</sup>	6.16 ± 1.88 <sup>b</sup>	6.40 ± 1.60 <sup>ab</sup>	6.16 ± 1.92 <sup>b</sup>
Sabor	5.08 ± 2.17 <sup>a</sup>	5.27 ± 2.22 <sup>a</sup>	5.31 <sup>b</sup> ± 2.24 <sup>a</sup>	5.19 ± 2.36 <sup>a</sup>
Textura	5.97 ± 2.00 <sup>a</sup>	5.92 ± 2.06 <sup>a</sup>	6.04 ± 2.02 <sup>a</sup>	6.00 ± 2.15 <sup>a</sup>
Apariencia	6.74 ± 1.81 <sup>a</sup>	5.67 ± 2.00 <sup>b</sup>	5.77 ± 2.08 <sup>b</sup>	5.70 ± 2.22 <sup>b</sup>
Aceptación global	5.82 ± 2.14 <sup>a</sup>	5.46 ± 2.06 <sup>a</sup>	5.66 ± 2.05 <sup>a</sup>	5.73 ± 2.13 <sup>a</sup>

Cada valor representa la media de 100 determinaciones ± desviación estándar; dentro de la misma fila letras distintas representan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). \*Testigo: queso elaborado con leche de oveja Pelibuey adicionada con bixina (10 ppm).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México.



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

**CAPÍTULO II.Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin**

**CHANGES DURING THE RIPENING OF MANCHEGO CHEESE  
ELABORATED WITH SHEEP'S MILK AND NANOEMULSIONED CURCUMIN**

Mariam Sardiñas-Valdés<sup>1</sup>, Josafat Alberto Hernández-Becerra<sup>2</sup>, Hugo Sergio García-Galindo<sup>3</sup>, Alfonso Juventino Chay-Canul<sup>1</sup>, José Rodolfo Velázquez-Martínez<sup>1</sup>, Angélica Alejandra Ochoa-Flores<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>División Académica de Ciencias Agropecuarias, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa, km 25, R/A. La Huasteca 2a Sección, CP 86280, Villahermosa, Tabasco, México.

<sup>2</sup>División de Procesos Industriales, Universidad Tecnológica de Tabasco, Carretera Villahermosa-Teapa Km 14.6, CP 86280, Villahermosa, Tabasco, México.

<sup>3</sup>Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, M.A. de Quevedo # 2779, Col. Formando Hogar, CP 91897, Veracruz, Veracruz, México.

\*Corresponding author: [angelica.ochoa@ujat.mx](mailto:angelica.ochoa@ujat.mx)

*Manuscript submitted to the Editor of International Dairy Journal for review and possible publication*

February, 2019

## ABSTRACT

In the present study, manchego cheeses made with pelibuey sheep's milk and with different concentrations of nanoemulsified curcumin (5, 7.5 and 10 ppm) were manufactured, to which the bromatological composition, the lipid profile and the antioxidant capacity were evaluated, the content of total phenols, color, proteolysis and lipolysis at different ripening times. Statistical differences were observed in the moisture of the cheeses, which decreased over time, corresponding to this an increase in the total solids. Fatty acids: palmitic, oleic, stearic and myristic were the most abundant in all cheeses. Both short-chain and long-chain fatty acids showed a downward trend throughout ripening. Antioxidant capacity, total phenol content and proteolysis increased in all treatments during ripening. The cheeses showed a progressive lipolysis until day 40, from there there was a slight decrease in it. The parameters evaluated in the color indicated yellow-green and less luminous cheeses.

**Keywords:** Sheep's milk Pelibuey, nanoemulsions, curcumin, proteolysis, lipolysis.

## 1. INTRODUCTION

Cheese ripening is a complex and slow biochemical process (Fox, 1989) that involves three basic events: metabolism of residual lactose, lactate and citrate; lipolysis and proteolysis (Mcsweeney, 2004). These primary events are followed by secondary biochemical events, which include the metabolism of fatty acids and amino acids, which play an important role in texture attributes and in the production of sapid compounds (Karaca & Güven, 2018; Mcsweeney, 2004; Saldo, McSweeney, Sendra, Kelly, & Guamis, 2002). Manchego-type cheese is one

of the most economically important and consumed mature cheeses in Mexico (INEGI, 2017; SIAP, 2016; Villegas & Cervantes, 2011), which is made with whole cow's milk (Villegas, 2003; Lobato-Calleros, Velázquez-Varela, Sánchez-García, Vernon-Carter, 2003), although sheep's milk can also be used because of its high content of proteins and total solids (FAO, 2016).

Given the interest of the population for foods that not only comply the nutritional function but also have a beneficial effect on health (Cortés-Sánchez et al., 2016; Holdt & Kraan, 2011) and for the use of natural antioxidants of food sources instead of synthetic antioxidants that have been restricted due to their toxic and carcinogenic effects (Abdel-Hameed, Nagaty, Salman, & Bazaid, 2014; Zambonin et al., 2012); it would very important to analyze the changes that occur in the ripening of Manchego-type cheese through the addition of the bioactive compound curcumin, which is extracted from the turmeric plant (*Curcuma longa* L.) and whose antioxidant properties have been recognized (Grynkiewicz & Slifirski, 2012; Li et al., 2011; Witkin & Li, 2013); as well as its therapeutic potential for the treatment of different diseases (Akram et al., 2010; Di Martino et al., 2017; Košťálová, Bezáková, Račková, Mošovská, & Šturdíka, 2013). However, curcumin is practically insoluble in water and presents low bioavailability (Modasiya & Patel, 2012), so is necessary to nanoemulsify it to improve its solubility and availability (Mohanty & Sahoo, 2010). That is why in the present research work is intended to evaluate the changes that occur in the bromatological composition, lipid profile, antioxidant capacity, color, proteolysis and lipolysis during the ripening of manchego cheese made from pelibuey sheep's milk and nanoemulsified curcumin.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1. Manufacturing Manchego cheese with sheep's milk Pelibuey

Sheep's milk Pelibuey was obtained from the ranch "El Rodeo", which is located at 14 km from the Villahermosa-Jalapa road, Tabasco, Mexico. The 75 liters of milk used was subjected to filtration to remove the impurities. Then it was pasteurized at 63 °C for 30 minutes and CaCl<sub>2</sub> was added. To impart color to the cheeses, 10 ppm of the bixin colorant was added to a treatment that would be the control cheese and the nanoemulsions were added to the three remaining treatments in such a way that they contained 5, 7.5, 10 ppm of curcumin, respectively. Afterwards the milk was cooled to 37 °C, the lactic culture was added and it was left to rest for 30 minutes. For the coagulation process to occur, the rennet was added, left to rest for 30 to 40 minutes for the gel to form, and then cut with horizontal and vertical lyres forming cubes of 1 cm<sup>3</sup>. It was then stirred for 1 minute slowly and it was left to rest for 15 minutes; the temperature was raised to 40 °C for 30 minutes for the blanching of the grain to occur, its contraction and the expulsion of the whey. Then it proceeded to salt to impart flavor. The disheveled and molding of the curd was carried out, it pressed for 18 hours to expel the whey from the cheese pieces and form a resistant crust. Finally, ripening was carried out for a period of 80 days in a chamber at 10 °C. The cheeses had an approximate weight of 0.5 kg.

The curcumin nanoemulsion was prepared with Tween 40, by the method of thin layer hydration-emulsification, previously reported by Anuchapreeda, Fukumori, Okonogi, & Ichikawa, (2012), with some modifications. The particle size of the

nanoemulsion was  $59.98 \pm 1.15$  nm, polydispersity index  $0.45 \pm 0.02$ , and zeta potential  $-6.88 \pm 1.03$ . Its concentration of curcumin was  $2.59 \pm 0.09$  mg / g, which was determined by HPLC according to the method described by Shaikh, Ankola, Beniwal, Singh, & Kumar, (2009), and its entrapment efficiency of  $103.43 \pm 3.54\%$ , calculated according to Anuchapreeda (2012).

## **2.2. Chemical composition and profile of fatty acids in Manchego cheese**

Moisture, fat, proteins, total solids, ashes and fatty acid profile were determined in accordance with Mexican Standard NMX-F-462-1984. The fatty acid profile in the cheese was determined in the same way as in milk according to (NMX-F-490-1987-NORMEX), previous extraction of the lipids with Chloroform: Methanol (1: 2 v: v), according to Aziz, Azlan, Ismail, Alinafiah, & Razman, (2013).

## **2.3. Determination of total phenolic compounds and antioxidant capacity in Manchego cheese**

Preparation of samples and extraction of antioxidants. To carry out the extraction process, following the method reported by Rashidinejad, Birch, Sun-Waterhouse, & Everett, (2013) with slight modifications, 10 g of cheese were weighed and 50 mL of methanol (95% aqueous solution) which contained 1% HCl was added. Then it were homogenized for 1 minute at 2000 rpm using the Ultra-Turrax, and placed on an orbital shaker at 200 rpm for 30 minutes at  $50^{\circ}$  C. Once concluded this time, it were centrifuged at 4500 rpm for 10 minutes, conserving the supernatant.

Total phenol content. The content of phenols was determined following the method proposed by Moo-Huchin et al. (2015). 2.90 mL of deionized water and 250  $\mu$ L of Folin-Ciocalteu reagent were added to 100  $\mu$ L of the extract. It was left to rest for 8

minutes and 750  $\mu\text{L}$  of 20% sodium carbonate and 950  $\mu\text{L}$  of deionized water were added. After 30 minutes of rest, the absorbance was measured at 765 nm using a spectrophotometer. The calculation was made based on a calibration curve of gallic acid in a concentration range of 0-10  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . The result was expressed in mg equivalents of gallic acid per g of sample.

Ferric Reducing Antioxidant Potential (FRAP). To determine the antioxidant capacity by the FRAP method; the procedure proposed by Benzie & Strain (1996) was followed. The FRAP assay consisted in adding 4 500  $\mu\text{L}$  of the FRAP reagent and 450  $\mu\text{L}$  of deionized water to the test tubes containing 150  $\mu\text{L}$  of the extracts. The reaction was carried out at room temperature in the dark, measuring the absorbance at 593 nm after 1 hour. Trolox was used as the standard substance for the calibration curve and solutions of known concentration in the range of 100-800  $\mu\text{mol}$  were prepared. The results of the antioxidant capacity by this method were expressed in  $\mu\text{moles}$  equivalent of Trolox / g of sample.

DPPH radical scavenging activity. This determination was carried out as proposed by Brand-Williams, Cuvelier, & Berset,(1995), with slight modifications. It consisted of taking 125  $\mu\text{L}$  of the extracts and adding 4.875 mL of the DPPH reagent, leaving it to stand for one hour in the dark at room temperature. After this time, the absorbance at 517 nm was read. The calibration curve was the same as that used in the FRAP test.

#### **2.4. Analysis of color in Manchego cheese**

It was made using the CIE color space, of coordinates  $L^*$   $a^*$   $b^*$ . These color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) in a food sample, designate:  $L^*$ , luminosity;  $a^*$ , the color

red (positive values) or green (negative values) and  $b^*$ , the color yellow (positive values) or blue (negative values). For this, the ColorMatch v1.0 application was used through a 5 megapixel camera with an image resolution of 2560x1536, once the image was taken, the reading of the values of  $L^*$   $a^*$   $b^*$  was made approaching the image closer to a 55x55 resolution.

## **2.5. Lipolysis in Manchego cheese**

The levels of lipolysis of the cheese samples, expressed as acid-grade values (ADV), were determined according to the method of Deeth and Fitz-Gerald (Deeth & Fitz-Gerald, 1976). To 3 g of cheese was added 5 mL of distilled water and 10 mL of a mixture of (Isopropanol: Petroleum ether: 4N sulfuric acid) 4: 10: 1. They were homogenized and transferred to test tubes with a screw cap. Subsequently, 6 mL of petroleum ether was added and placed in a sonicator bath at 40 ° C for 10 minutes. Once this time had elapsed, they were removed and allowed to stand for 1 hour. After the hour, the upper phase was removed with the help of a Pasteur pipette, placing them in other test tubes. Finally the titration with KOH was carried out to know the  $\mu$  Eq / g of free fatty acids.

## **2.6. Proteolysis in Manchego cheese**

Determination of soluble nitrogen in water (WSN). The method of Kuchroo & Fox (1982) was used. 10 g of cheese were homogenized with 50 mL of distilled water by means of an ultraturax. The sample was then kept in a water bath at 40 ° C for 30 min, centrifuged at 4 500 rpm for 10 min and then filtered through Whatman No. 40 paper. An aliquot of 2 mL was used for the determination of nitrogen according to the Kjeldahl technique (AOAC, 1995).



Soluble Nitrogen Content in sodium citrate (SN-pH 4.6). 10 g of the sample were weighed in a beaker and homogenized with 20 mL of 0.5 M sodium citrate solution in the ultraturrax, then distilled water was added to complete a volume of approximately 90 mL. A 20% v / v HCl solution was added dropwise to the suspension, under mechanical stirring, until a pH value of 4.6 was reached. Once this value was stabilized, it was centrifuged at 4 500 rpm for 10 minutes, obtaining two fractions, one soluble and the other insoluble (Gripon, Desmazeaud, Le Bars, & Bergere, 1975). Of the soluble fraction, 10 mL were taken for the determination of the nitrogen content by the Kjeldahl method (AOAC, 1995).

Soluble nitrogen in trichloroacetic acid (TCA-SN). An aliquot of 10 mL of the sodium citrate filtrate was taken and 10 mL of 24% TCA was added. Subsequently, it was incubated at room temperature for one hour, after which time it was centrifuged at a speed of 4500 r.p.m. for 10 minutes (Polychroniadou, Michaelidou, & Paschaloudis, 1999). Finally, the entire soluble fraction was determined by the Kjeldahl method (AOAC, 1995).

Soluble nitrogen in 5% phosphotungstic acid (PTA-SN). This fraction is formed by small peptides and amino acids of molecular weight less than 600 daltons. The method followed for its determination was that of Bütikofer et al. (1993) with some modifications and consists of: To an aliquot of 10 mL of filtrate of soluble nitrogen in sodium citrate, 10 mL of a mixture of equal parts of 10% phosphotungstic acid and 25% sulfuric acid, prepared immediately before use, was added. It was left to stand for 24 hours under refrigeration until precipitation occurred. It was then centrifuged at 4500 r.p.m for 10 minutes, performing the Kjeldahl to 20 mL of filtrate.

### 3. RESULTS AND DISCUSSION

#### 3.1. Chemical composition of Manchego cheese

The moisture content is shown in Table 1; it decreased as the ripening time increased as a result of the syneresis, which occurs by the reorganization of the protein network that produces large amounts of serum expulsion (Lobato-Calleros, Aguirre-Mandujano, Vernon-Carter, & Sánchez-García, 2000). This was also evident in the study conducted by Valsamaki, Michaelidou, & Polychroniadou (2000) in feta cheese. Lobato-Calleros et al. (2003) reported moisture values similar to those of this research in Mexican Manchego cheese, however, these values were lower than those reported by Salazar-Montoya, González-Cuello, Flores-Girón, & Ramos-Ramírez, (2018) also in Manchego type cheese, and this may be due to differences in the methodologies used in cheese making.

Total solids increased throughout the ripening process (Table 1) as a result of the aforementioned syneresis, these results were similar to those published by Poveda, García, Martín-Alvarez, & Cabezas, (2004). Salazar-Montoya et al. (2018) obtained lower values of total solids, although Cabezas, Sánchez, Poveda, Seseña, & Palop, (2007) showed total solids values between 57.54 and 54.95% at the beginning of ripening and approximately 60% at 60 days. Table 1 also shows the fat content throughout the ripening period. These results with respect to fat levels were lower than those reported by Cabezas et al. (2007) in Manchego cheese; this difference is caused by the type of raw material used and the type of microorganisms that carry out the maturity. In the investigations carried out by

Salazar-Montoya et al. (2018) and Lobato-Calleros et al. (2003) also obtained higher levels of fat in manchego cheese with microorganisms in free state.

On the other hand, protein values were similar to those reported by Salazar-Montoya et al. (2018) and Lobato-Calleros et al. (2003) in Manchego type cheese and by Lee, Choi, Kim, Chun, & Baen, (2015) in appenzeller cheese (control).

### **3.2. Profile of fatty acids in Manchego cheese**

Excels the high content of saturated fatty acids palmitic (C16: 0), myristic (C14: 0) and stearic (C18: 0), and as monounsaturated fatty acid oleic acid (C18: 1n-9), which also coincides with the research conducted by (Cortes & Guedes, 2010).

In Fig.1d the graph representing the C4: 0 fatty acid is observed, which showed differences in its concentration with respect to the ripening time, as well as the medium chain fatty acids C6: 0 and C12: 0 which are shown in Fig. 1e. The interpretation of these results can be explained by the position of the fatty acids in the triacylglyceride. In a study conducted by De la Fuente, Fontecha, & Jufirez, (1993), where they established a comparison between the levels of different fatty acids in the fractions of triglycerides and free fatty acids, showed that there were differences for the short and medium chain fatty acids (C4: 0, C6: 0 and C8: 0) in both fractions, particularly in the case of butyric and caproic acids. The C4: 0 and C6: 0 fatty acids are found predominantly in the sn-3 position and the sn-1 and sn-3 positions, respectively; as the length of the chain increases to C16: 0, they are esterified at position sn-2. C18: 0 is generally found in the sn-1 position, whereas unsaturated fatty acids are esterified mainly in positions sn-1 and sn-3 (Collins, McSweeney, & Wilkinson, 2003).

According to De la Fuente et al. (1993) lipases involved in cheese ripening hydrolyze mainly short-chain fatty acids and tend to be specific for the sn-3 position. In the butyric acid and the medium chain fatty acids, variations were observed in the four treatments without showing an increasing or decreasing order in time; however, an increase between 20 and 60 days was observed in the case of butyric acid. This does not coincide with the studies of Kurcubic et al. (2015) and Ahmad, Nadeem, Ayaz, & Jaspal, (2015) that described an increase in the concentration of short and medium chain fatty acids depending on the ripening of the cheese; due to the breakdown of unsaturated fatty acids during lipolysis.

In the case of long-chain fatty acids (Fig. 1f), a specific order (increasing or decreasing) in time is not observed either; this does not agree with the results of Ahmad et al. (2015) that reported a decrease in fatty acids during the maturation of Cheddar cheese.

### **3.3. Total phenolic compounds and antioxidant capacity in Manchego cheese**

The antioxidant capacity and total phenolic compounds in sheep's milk cheese at different stages of storage are shown in Table 2. Antioxidant capacity increased during the ripening time in all treatments. This evolution is in agreement with reports in the literature and can be attributed in part to the progressive proteolysis of proteins that produce soluble peptides and amino acids containing sulfur, with antioxidant capacity (Perna, Intaglietta, Simonetti, & Gambacorta, 2015; Rashidinejad et al., 2013). In the work carried out by González-Martín, Hernández-Hierro, Vivar-Quintana, Revilla, & González-Pérez, (2009) in cheeses of cow, sheep and goat revealed that the total content of water-soluble peptides increased throughout ripening, being more extensive in the first month of maturity. This

increase in antioxidant capacity is also evident in the current study because, according to Gupta, Mann, Kumar, & Sangwan, (2009), the antioxidant activity is higher in cheeses with a greater degree of early proteolysis.

Khan, Nadeem, Imran, Ajmal, & Ali, (2018) determined antioxidant capacity in Gouda cheese enriched with mango kernel fat at different concentrations. One of the methods used was that of DPPH, where the treatments with the highest concentration of this additive had higher values of antioxidant capacity by this method. These authors also determined the content of phenols in the cheeses and the results behaved in the same way as by the DPPH method, that is to say, the higher the concentration of mango fat, the higher the content of phenols.

Khan et al. (2018) also reported an increase in antioxidant capacity determined by the DPPH method in all cheese samples, including control, throughout the 90-day ripening period and all test intervals indicated an increasing trend in capacity antioxidant. In the study conducted by Batool et al. (2018) determined the free radical scavenging activity (DPPH) of Cheddar cheese made with milk of cows and buffalo which went on increasing in conventional and accelerated ripening up to four months of ripening. Abadía-García et al. (2013) determined the antioxidant activity of the soluble extracts of Cottage cheese using the DPPH assay, which increased during the 28 days of storage. Gupta et al. (2009) determined antioxidant capacity in Cheddar cheese by means of ABTS and DPPH tests and reported a constant increase of it until the fourth month of ripening, while during the later period of aging (ninth month) a decrease in antioxidant capacity was observed, suggesting that eventual antioxidant peptides were not resistant to additional proteolysis.

In the study conducted by Perna et al. (2015) where they determined the antioxidant activity of Caciocavallo cheese made with two-breed milk and matured for 150 days by the FRAP and ABTS assays, concluded that it increased during ripening for both types of cheeses.

### **3.4. Color of the Manchego cheese**

The color is an important criterion to evaluate the quality of the cheese; so it is often a primary consideration of consumers when making decisions on their purchases. Table 3 shows the color in units of  $L^* a^* b^*$  in the cheese.

The level of whiteness is represented in the CIELAB color scale as the  $L^*$  value, which ranges from 0, which represents black, to 100, which represents white (Ibáñez, Waldron, & McSweeney, 2016). In spite of the slight increase in the  $L^*$  value shown in Table 3 from time 40, there is generally a decreasing tendency during ripening, indicating cheeses with lower luminosity. The decrease in this parameter was also observed in studies conducted by Pinho, Mendes, Alves, & Ferreira (2004) in Terrincho cheese with sheep's milk, Pillonel et al. (2002) in Emmentaler cheese, Rohm & Jaros (1997) in hard cheese, El-Nimr et al. (2010) in Egyptian Gouda cheese, Tarakci et al. (2011) in Herby Pickled cheese and Lee et al. (2015) in Appenzeller cheese. Juric et al. (2003) studied the changes in color induced by light in semi-hard cheeses packaged in modified atmosphere; these authors also came to the conclusion that the  $L^*$  parameter decreases as the ripening time elapses. Ibáñez et al. (2016) observed a reduction in  $L^*$  as the age of cheddar increases, which could be influenced by an increase in proteolysis and a reduction in the proportion of insoluble calcium.

The values of  $a^*$  increased during the ripening time; nevertheless, negative values were maintained, which represents a green color in the cheeses. In the study conducted by El-Nimr et al. (2010), this parameter also increases but unlike they are positive values, that is, the color of the cheeses turns red. Tarakci et al. (2011) also reported an increase of  $a^*$  in Herby Pickled cheese, with negative values as in the present study.

Kristensen, Orlie, Mortensen, Brockhoff, & Skibsted, (2000) studied light-induced oxidation in slices of Havarti cheese packaged in a modified atmosphere, where they reported an increase in  $a^*$  values during the ripening time. In the same way it happened in the study carried out by Juric et al. (2003) on slices of semi-hard cheeses; both studies reported negative values of  $a^*$ .

Although the parameter  $b^*$  decreased on days 40 and 80, an increase was observed on days 20 and 60, this indicates a yellow color in the cheeses because the values of  $b^*$  are positive. Pinho et al. (2004), Pillonel et al. (2002) and Rohm and Jaros (1997) reported an increase of this parameter in their studies, as well as Lee et al. (2015). On the other hand Tarakci et al. (2011) and Juric et al. (2003) reported a decrease in  $b^*$  during ripening in Herby Pickled cheese and semi-hard cheeses, respectively.

The change in color may be related to the chemical changes that occur during ripening. Kumar, Sharma, & Bector, (2006) confirmed that cheese is a biological and biochemically dynamic product, in which a series of sequential changes occur during its manufacture and subsequent ripening.

### 3.5 Lipolysis in Manchego cheese

In Fig.3 an increase in lipolysis can be observed up to day 40 of ripening. Although there is a slight decrease in it until day 80, it continues to be greater than on day zero. This is similar to the findings of Bontinis, Mallatoua, Pappaa, Massourasb, & Alichanidisc, (2012) who reported that the intensity of lipolysis decreased after 45 days of maturation in Xinotyri Cheese and Kalit et al. (2014) found a greater increase of free fatty acids in the first 45 days of ripening in Croatian cheese, and after that the intensity of release of them decreased.

Kondyli, Katsiaria, Masourasb, & Voutsinas, (2002) determined lipolysis in feta type cheese elaborated with an attached commercial crop where an increase was observed up to 180 days of ripening. Other authors such as Mei, Guo, Wu, Li, & Yu, (2015) also determined lipolysis in cheese type Camembert expressed as the value of the degree of acidity (Meq-KOH / 100 g of fat), which increased continuously until 35 days of ripening. In another work by Kumar, Kanawjia, & Kumar (2015) produced a feta type cheese with buffalo milk using an adjunct commercial crop of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus casei* together with standard mesophilic cheese cultures. It was observed that the free fatty acid content of the experimental cheeses increased consistently as the ripening period progressed. For their part, Karaca & Güven (2018) investigated the effects of lipolytic and proteolytic enzyme supplementation on the lipolysis and proteolysis characteristics of white cheeses and concluded that the total free fatty acids of all cheeses increased regularly with the progress of the ripening.



### 3.6. Proteolysis in Manchego cheese

The water soluble nitrogen fraction in cheese contains small and medium peptides, free amino acids, separated from large peptides and proteins, mainly as a result of the activity of chymosin and, to a lesser extent, plasmin (McSweeney & Fox, 1997). As the cheese ages, more caseins and high molecular weight peptides are being broken down into smaller peptides that can be water soluble, therefore, as cheese ages, the total content of water soluble peptides increases (Vivar-Quintana et al., 2009).

In Fig. 2a the content of water-soluble nitrogen is shown, which increased with the course of the ripening time. In the study conducted by Valsamaki et al. (2000) in feta cheese is observed as the content of soluble nitrogen in water increases as the ripening time increases. Cimbas & Kilic, (2006) investigated the differences in the proteolysis of white cheeses made by traditional and industrial production methods during ripening, where by both production methods, the content of water soluble nitrogen increased during the ripening time. Karaca & Güven, (2018) and Mallatou, Pappa, & Boumba, (2004) also reported the increase of soluble nitrogen in water in white cheeses and teleme cheese respectively. On the other hand, Lee et al. 2015 reported an increase also in appenzeller cheese supplemented with shrimp powder.

The soluble nitrogen content at pH 4.6 shown in Fig. 2b also increased with cheese ripening. In the studies conducted by Hannon et al. (2003) in cheddar cheese, Gaya, Medina, Rodriguez-Marin, & Nuñez, (1990) and Picon, Gaya, Medina, & Nuñez, (1995) in Manchego cheese, the increase in soluble nitrogen at pH 4.6 is shown as the ripening time advances. Ibáñez et al. (2016) also observed an

increase in soluble nitrogen at pH 4.6 as the age of cheddar increases; as well as Bergamini, Mallatoua, Pappaa, Massourasb, & Alichanidis (2006) in semi-hard cheese.

The fraction of soluble nitrogen in TCA in cheese contains small peptides (2-20 residues) and amino acids, resulting mainly from the proteolytic activity of bacteria (Christensen, Bech, & Werner, 1991). The Fig. 2c shows the proportions of soluble nitrogen in TCA of the cheeses that increased with the progress of ripening. Other authors found significant increases in the proportions of soluble nitrogen in TCA at 12% with the progress of ripening in Manchego cheese (Gaya et al., 1990) and Manchego cheese supplemented with neutral proteinases (Nuñez et al., 1991, Picon et al., 1995), also showed increasing values with the progress of ripening of Feta cheese (Valsamaki et al., 2000), white cheese (Güven & Karaca 2001, Cinbas & Kiliç (2006), Cheddar cheese (Hayashi, Revell, & Law, 1990), Teleme cheese (Mallatou et al., 2004) and semi-hard cheese (Bergamini et al., 2006).

Peptides and amino acids with a molecular weight of less than 600 dalton are significant indicators of cheese flavor levels (McSweeney & Sousa, 2000) and these substances are dissolved in 5% SN-PTA (Hannon et al., 2003). The Fig. 2d shows the content of soluble nitrogen in phosphotungstic acid (PTA), which also increased with the ripening time. Karaca & Güven, (2018) reported the increase of soluble nitrogen in phosphotungstic acid during the ripening of white cheeses. The increase in soluble nitrogen in phosphotungstic acid is also shown as the ripening time increases in the study carried out by Picon et al. (1995) in Manchego cheese, Mallatou et al. (2004) in Teleme cheese, Hannon et al. (2003) in Cheddar cheese and Bergamini et al. (2006) in semi-hard cheese.

#### 4. CONCLUSIONS

During the ripening of Manchego type cheese, moisture decreased, which corresponded to an increase in total solids. The short and long chain fatty acids also decreased. As the cheese aged, more caseins and high molecular weight peptides were divided into smaller peptides that were soluble in water, pH 4.6, TCA or PTA; which indicated an increase in proteolysis in the cheese. The antioxidant capacity and the content of total phenols increased during the time of ripening in all the treatments and could be attributed in part to the progressive proteolysis of the proteins that produced soluble peptides and amino acids with antioxidant capacity. The cheeses showed a progressive lipolysis until day 40, from there there was a slight decrease in it. Regarding color, the evaluated parameters indicated yellow-green and less luminous cheeses during ripening.

#### 5. REFERENCES

- Abadía-García,L., Cardador,A., Martín del Campo,S. T., Arvízu,S. M., Castaño-Tostado,E., Regalado-González,C., et al. (2013). Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions.*International Dairy Journal*, 33, 191-197.
- Abdel-Hameed, E.S., Nagaty, M.A., Salman, M.S.,& Bazaid, S.A. (2014). Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry*, 160, 31-38.

- Ahmad, S., Nadeem, M., Ayaz, M., &Jaspal, M.H. (2015). Effect of low melting fractions of milk fat on lipolysis of cheddar cheese. *Journal Food Process Preservation*, 39, 2516-2522.
- Akram, M., Shahab, U., Afzal, A., Usmanghani, K., Abdul, E., & Mohiuddin, M. (2010). *Curcuma Longa* L. and Curcumin: A review article. *Romanian Journal of Biology - Plant Biology*, 55, 65-70.
- Anuchapreeda, S., Fukumori, Y., Okonogi, S., &Ichikawa, H. (2012). Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy. *Journal of Nanotechnology*, 2012, 1-11.
- AOAC.(1995). *Kjeldahl method, method no. 960.52*. In P.Cuniff(Ed.), Official methods of analysis of AOAC International (16th ed.). (p. 7). Washington, DC,USA: AOAC International.
- Aziz, N.A., Azlan, A., Ismail, A., Alinafiah, S.M., &Razman, M.R. (2013). Quantitative determination of fatty acids in marine fish and shellfish from warm water of straits of malacca for nutraceutical purposes. *BioMed Research International*, 2013, 1-12.
- Batool, M., Nadeem, M., Imran, M., Khan, I. T., Bhatti, J.A., &Ayaz, M. (2018). Lipolysis and antioxidant properties of cow and buffalo cheddar cheese in accelerated ripening. *Lipids in Health and Disease*,17, 228-238.
- Benzie, I.F.F., &Strain, J.J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

- Bergamini, C. V., Hynes, E. R., & Zalazar, C. A. (2006). Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 16, 856-866.
- Bontinis, Th. G., Mallatoua, H., Pappaa, E. C., Massourasb, Th., & Alichanidisc, E. (2012). Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek. *Small Ruminant Research*, 105, 193- 201.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 25-30.
- Bütikofer, U., Rüegg, M., & Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese, evaluation of a collaborative study. *LWT - Food Science and Technology*, 26, 271-275.
- Cabezas, L., Sánchez, I., Poveda, J.M., Seseña, S., & Palop, M.LL. (2007). Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control*, 18, 11-17.
- Christensen, T.M.I.E., Bech, A.M., & Werner, H. (1991). Methods for crude fractionation (extraction and precipitation) of nitrogen components in cheese. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 261, 4-9.
- Cinbas, T., & Kılıç, M. (2006). Proteolysis and lipolysis in White cheeses manufactured by two different production methods. *International Journal of Food Science Technology*, 41, 530-537.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., & Wilkinsonc, M.G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13, 841-866.

- Cortés, J., & Guedes, A. (2010). Fatty acid and CLA composition of Brazilian dairy products, and contribution to daily intake of CLA. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 782-789.
- Cortés-Sánchez, A., León-Sánchez, J.R., Jiménez-González F.J., Díaz-Ramírez, M., Villanueva-Carvajal, A., & Guzmán-Medina, C.A. (2016). Alimentos funcionales, alfalfa y fitoestrógenos. *Mutis*, 6, 28-40.
- De la Fuente, M. A., Fontecha, J., & Jufirez, M. (1993). Fatty acid composition of the triglyceride and free fatty acid fractions in different cows-, ewes- and goats- milk cheeses. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung*, 196, 155-158.
- Deeth, H. C. & Fitz-Gerald, C.H. (1976). Lipolysis in dairy products: A review. *Australian Journal of Dairy Technology*, 31, 53-64.
- Di Martino, R.M.C., Luppi, B., Bisi, A., Gobbi, S., Rampa, A., Abruzzo, A., & Belluti, F. (2017). Recent progress on curcumin-based therapeutics: a patent review (2012-2016). Part I: Curcumin. *Expert opinion on therapeutic patents*, 27, 579-590.
- El-Nimr, A.A., Eissa, H. A., El-Abd, M.M., Mehriz, A.A., Abbas, H. M., & Bayoumi, H. M. (2010). Water Activity, Color Characteristics and Sensory Properties of Egyptian Gouda Cheese during Ripening. *Journal of American Science*, 6, 447-453.
- FAO. (2016). Producción y productos lácteos. <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/leche-y-productos-lacteos/composicion-de-la-leche/es/#.V-r-FSHhC00>. Consultado el 27 de septiembre de 2016.

- Fox, P.F. (1989). Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy Science*, 72, 1379-1400.
- Gaya, P., Medina, M., Rodriguez-Marin, M.A., & Nuñez, M. (1990). Accelerated ripening of ewes' milk Manchego cheese: The effect of elevated ripening temperatures. *Journal of Dairy Science*, 73, 26-32.
- González-Martín, I., Hernández-Hierro, J.M., Vivar-Quintana, A., Revilla, I., & González-Pérez, C. (2009). The application of near infrared spectroscopy technology and a remote reflectance fibre-optic probe for the determination of peptides in cheeses (cow's, ewe's and goat's) with different ripening times. *Food Chemistry*, 114, 1564-1569.
- Gripon, J.C., Desmazeaud, M.J., Le Bars, D., & Bergere, J.L. (1975). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. II.-Influence de la presure commerciale. *Le Lait*, 55, 502-15.
- Gryniewicz, G., & Slifirski, P. (2012). Curcumin and curcuminoids in quest for medicinal status. *Acta Biochimica Polonica*, 59, 201-212.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R., & Sangwan, R.B. (2009). Antioxidant capacity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 339-347.
- Güven, M., & Karaca, O.B. (2001). Proteolysis levels of White cheeses salted and ripened in brines prepared from various salts. *International Journal of Dairy Technology*, 54, 29-33.
- Hannon, J.A., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M., Wallace, J.M., Morrissey, P.A., & Beresford, T.P. (2003). Use of autolytic starter systems to accelerate the ripening of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 13, 313-323.

Hayashi, K., Revell, D.F., & Law, B.A. (1990). Effect of partially purified extracellular serine proteinases produced by *Brevibacterium Linens* on the accelerated ripening of Cheddar cheese. *Journal Dairy Science*, 73, 579-583.

Holdt, S.L., & Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. *Journal Applied Phycology*, 23, 543-597.

Ibáñez, R.A., Waldron, D.S., & McSweeney, P.L.H. (2016). Effect of fat content and temperature on the translucency of Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 54, 33-42.

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2017). Producción y ventas netas de los establecimientos manufactureros por clase de actividad familia y productos elaborados. Disponible en: [www.inegi.org.mx](http://www.inegi.org.mx).

Juric, M., Bertelsen, G., Mortensen, G., Petersen, M. A. (2003). Light-induced colour and aroma changes in sliced, modified atmosphere packaged semi-hard cheeses. *International Dairy Journal*, 13, 239-249.

Kalit, M. T., Kalit, S., Delaš, I., Keňava, N., Karolyi, D., & Kaić, D., et al. (2014). Changes in the composition and sensory properties of croatian cheese in a lamb skin sack (Sir iz mišine) during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 67, 255-264.

Karaca, O. B., & Güven, M. (2018). Effects of Proteolytic and Lipolytic Enzyme Supplementations on Lipolysis and Proteolysis Characteristics of White Cheeses. *Foods*, 7, 125.

Khan, I.T., Nadeem, M., Imran, M., Ajmal, M., & Ali, S. (2018). Antioxidant activity, fatty acids characterization and oxidative stability of Gouda cheese fortified



- with mango (*Mangifera indica* L.) kernel fat. *Journal of Food Science and Technology*, 55, 992-1002.
- Kondyli, E., Katsiaria, M. C., Masourasb, T., & Voutsinas, L. P. (2002). Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Feta-type cheese made with a commercial adjunct culture. *Food Chemistry*, 79, 199-205.
- Košťálová, D., Bezáková, L., Račková, L., Mošovská, S., & Šturdíka, E. (2013). Therapeutic potential of curcumin in medicinal chemistry. *Acta Chimica Slovaca*, 6, 89-99.
- Kristensen, D., Orlien, V., Mortensen, G., Brockhoff, P., & Skibsted, L.H. (2000). Light-induced oxidation in sliced Havarti cheese packaged in modified atmosphere. *International Dairy Journal*, 10, 95-103.
- Kuchroo, C. N., & Fox, P. E. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331-335.
- Kumar V. V., Sharma V., & Bector B. (2006). Effect of ripening on total conjugated linoleic acid and its isomers in buffalo Cheddar cheese. *Internal Journal of Dairy Technology*, 59, 257-260.
- Kumar, S., Kanawjia, S. K. & Kumar, S. (2015). Incorporation of *Lactobacillus* adjuncts culture to improve the quality of Feta-type cheese made using buffalo milk. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 5021-5029.
- Kurcubic, V.S., Vujic, J.M., Ilicic, M.D., Vranic, D., Veskovc-Moracanin, S.M., & Maskovic, P.Z. (2015). Effect of plant extracts of *Kitaibelia vitifolia* on antioxidant activity, chemical characteristics, microbiological status and sensory properties of Pirotski Kachkaval cheese. *Hemijska Industrija*, 69, 85-93.

- Lee, J.S., Choi, H.Y., Kim, K. H., Chun, S.S., & Baen, I. (2015). Physicochemical and Sensory Properties of Appenzeller Cheese Supplemented with Shrimp Powder. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35, 232-239.
- Li, S., Yuan, W., Deng, G., Wang, P., Yang, P., & Aggarwal, B. B. (2011). Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (*Curcuma longa* L.). *Pharmaceutical Crops*, 5, 28-54.
- Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, E. J., & Sánchez-García, J. (2000). Viscoelastic properties of white fresh cheese filled with sodium caseinate. *Journal of Texture Studies*, 31, 379-390.
- Lobato-Calleros, C., Velázquez-Varela, J., Sánchez-García, J., Vernon-Carter, E.J. (2003). Dynamic rheology of Mexican Manchego cheese-like products containing canola oil and emulsifier blends. *Food Research International*, 36, 81-90.
- Mallatou, H., Pappa, E. C., & Boumba, V. A. (2004). Proteolysis in Teleme cheese made from ewes', goats' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 14, 977-987.
- McSweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 127-144.
- McSweeney, P. L. H., & Fox, P.F. (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 77, 41-76.
- McSweeney, P. L. H., & Sousa, M.J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80, 293-324.

Mei, J., Guo, Q., Wu, Y., Li, Y., & Yu, H. (2015). Study of Proteolysis, Lipolysis, and Volatile Compounds of a Camembert-type Cheese Manufactured Using a Freeze-dried Tibetan Kefir Co-culture during Ripening. *Food Science and Biotechnology*, 24, 393-402.

Modasiya, M. K., & Patel, V. M. (2012). Studies on solubility of curcumin. *International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*, 3, 1490-1497.

Mohanty, C., & Sahoo, S. K. (2010). The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation. *Biomaterials*, 31, 6597-6611.

Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz-Vázquez, E., et al. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166, 17-22.

Norma Mexicana NMX-F-462-1984. Alimentos. Lácteos. Queso tipo manchego. Foods. Lacteous. Manchego type cheese. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

Norma Mexicana NMX-F-490-1987. Alimentos para humanos. Determinación de la composición de ácidos grasos a partir de C6 por cromatografía de gases en aceites y grasas. Foods for humans. Oils and fats. Determination of fat acids composition from C6 by gases chromatography. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

Núñez, M., Guillen, A. M., Rodríguez-Martin, M. A., Marcilla, A. M., Gaya, P., & Medina, M. (1991). Accelerated ripening of ewes' milk Manchego cheese: The effect of neutral proteinases. *Journal of Dairy Science*, 74, 4108-4118.

- Perna, A., Intaglietta, I., Simonetti, A., & Gambacorta, E. (2015). Short communication: Effect of genetic type on antioxidant activity of Caciocavallo cheese during ripening. *Journal Dairy Science*, 98, 3690-3694.
- Picon, A., Gaya, P., Medina, M., & Nuñez, M. (1995). The effect of liposome-encapsulated bacillus subtilis neutral proteinase on Manchego cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 78, 1238-1247.
- Pillonel, L., Badertscher, R., Bütikofer, U., Casey, M., Dalla, M., Lavanchy, P., et al. (2002). Analytical methods for the determination of the geographic origin of Emmentaler cheese. Main framework of the project; chemical, biochemical, microbiological, colour and sensory analyses. *European Food Research Technology*, 215, 260-267.
- Pinho, O., Mendes, E., Alves, M. M., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2004). Chemical, Physical, and Sensorial Characteristics of "Terrincho" Ewe Cheese: Changes During Ripening and Intravarietal Comparison. *Journal of Dairy Science*, 87, 249-257.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., & Paschaloudis, N. (1999). Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid soluble nitrogen of cheese. *International Dairy Journal*, 9, 559-568.
- Poveda, J.M., García, A., Martín-Alvarez, P.J., & Cabezas, L. (2004). Application of partial least squares (PLS) regression to predict the ripening time of Manchego cheese. *Food Chemistry*, 84, 29-33.
- Rashidinejad, A., Birch, E. J., Sun-Waterhouse, D., & Everett, D. W. (2013). Effects of catechin on the phenolic content and antioxidant properties of low-

- fat cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 2448-2455.
- Rohm, H., & Jaros, D. (1997). Colour of hard cheese. 2. Factors of influence and relation to compositional parameters. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A*, 204, 259-264.
- Salazar-Montoya, J. A., González-Cuello, R., Flores-Girón, E., & Ramos-Ramírez, E. G. (2018). Effect of free and microencapsulated *Lactococcus lactis* on composition and rheological properties of Manchego-type cheeses during ripening. *Food Research International*, 105, 59-64.
- Saldo, J., McSweeney, P.L.H., Sendra, E., Kelly, A.L., & Guamis, B. (2002). Proteolysis in caprine milk cheese treated by high pressure to accelerate cheese ripening. *International Dairy Journal*, 12, 35-44.
- Shaikh, J., Ankola, D.D., Beniwal, V., Singh, D., & Kumar, M.N. (2009). Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37, 223-230.
- SIAP. (2016). Panorama de la leche en México. [http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche\\_Diciembre2016.pdf](http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2016.pdf). Consultado el 1 de julio de 2017.
- Tarakci, Z., Temiz, H., Aykut, U., Turhan, S. (2011). Influence of wild garlic on color, free fatty acids, and chemical and sensory properties of Herby Pickled cheese. *International Journal of Food Properties*, 14, 287-299.

- Valsamaki, K., Michaelidou, A., & Polychroniadou, A. (2000). Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chemistry*, 71, 259-266.
- Villegas, A. (2003). *Los quesos mexicanos*. (2da edición). Universidad Autónoma Chapingo, México- Texcoco.
- Villegas, A., & Cervantes, F. (2011). La genuinidad y tipicidad en la revalorización de los quesos artesanales mexicanos. *Estudios sociales*, 19, 147-164.
- Vivar-Quintana, A. M., Blanco-López, M.A., Revilla, I., González-Martín, I., Hernández-Hierro, J. M., & González-Pérez, C. (2009). Seasonal Evolution of Hydrophilic and Hydrophobic Peptide Contents in Cheeses Made from Ewe's Goat's or Cow's Milk. *Czech Journal of Food Science*, 27, 106-108.
- Witkin, J.M., & Li, X. (2013). Curcumin, an active constituent [sic] of the ancient medicinal herb *Curcuma longa* L.: some uses and the establishment and biological basis of medical efficacy. *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*, 12, 1-11.
- Zambonin, L., Caliceti, C., Veceli Dalla Sèga, F., Fiorentini, D., Hrelia, S., Landi, L., et al. (2012). Dietary phenolic acids act as effective antioxidants in membrane models and in cultured cells, exhibiting proapoptotic effects in leukaemia cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-12.

**Table 1.** Basic chemical composition of the sheep's milk cheese at different stages of storages

Chesse samples	Ripening time (days)	Moisture (%)	Total solids (%)	Total Fat (%)	Total Protein (%)	Ash (%)	$a_w$
B 10 ppm	0	56.87 ± 1.29 <sup>c2</sup>	43.13 ± 1.29 <sup>a1</sup>	20.25 ± 0.79 <sup>b1</sup>	22.88 ± 0.42 <sup>a1</sup>	3.60 ± 0.03 <sup>cd2</sup>	0.975 ± 0.001 <sup>b1</sup>
	20	53.31 ± 2.50 <sup>bc1</sup>	46.69 ± 2.50 <sup>a1</sup>	16.41 ± 1.45 <sup>b1</sup>	22.28 ± 0.10 <sup>a1</sup>	3.40 ± 0.03 <sup>a1</sup>	0.973 ± 0.001 <sup>b1</sup>
	40	52.32 ± 2.80 <sup>b1</sup>	47.68 ± 2.80 <sup>b1</sup>	21.72 ± 0.80 <sup>a1</sup>	22.04 ± 0.27 <sup>a1</sup>	3.50 ± 0.02 <sup>b1</sup>	0.972 ± 0.003 <sup>ab1</sup>
	60	50.87 ± 0.94 <sup>b2</sup>	49.13 ± 0.94 <sup>b1</sup>	21.82 ± 1.22 <sup>b1</sup>	22.43 ± 0.43 <sup>a1</sup>	3.64 ± 0.03 <sup>d1</sup>	0.969 ± 0.001 <sup>a1</sup>
	80	45.89 ± 0.91 <sup>a23</sup>	54.11 ± 0.91 <sup>c12</sup>	22.20 ± 0.44 <sup>b12</sup>	22.22 ± 0.13 <sup>a1</sup>	3.53 ± 0.02 <sup>bc1</sup>	0.973 ± 0.003 <sup>b2</sup>
C 5 ppm	0	53.43 ± 2.69 <sup>b1</sup>	46.57 ± 2.69 <sup>a12</sup>	19.29 ± 2.22 <sup>a1</sup>	22.69 ± 0.30 <sup>a1</sup>	3.72 ± 0.06 <sup>b3</sup>	0.972 ± 0.000 <sup>a1</sup>
	20	53.27 ± 1.85 <sup>b1</sup>	46.73 ± 1.85 <sup>a1</sup>	19.68 ± 1.25 <sup>ab2</sup>	22.16 ± 0.18 <sup>a1</sup>	3.60 ± 0.09 <sup>a2</sup>	0.970 ± 0.002 <sup>a1</sup>
	40	51.08 ± 2.18 <sup>b1</sup>	48.92 ± 2.18 <sup>a1</sup>	22.37 ± 0.55 <sup>bc1</sup>	22.36 ± 0.39 <sup>a1</sup>	3.70 ± 0.03 <sup>b2</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>a1</sup>
	60	49.42 ± 0.77 <sup>b2</sup>	50.58 ± 0.77 <sup>a1</sup>	22.50 ± 1.47 <sup>bc1</sup>	22.85 ± 0.41 <sup>a1</sup>	3.66 ± 0.04 <sup>a2</sup>	0.972 ± 0.001 <sup>a1</sup>
	80	41.91 ± 2.52 <sup>a1</sup>	58.09 ± 2.52 <sup>b3</sup>	23.91 ± 2.47 <sup>c1</sup>	22.50 ± 0.23 <sup>a12</sup>	3.71 ± 0.06 <sup>b2</sup>	0.973 ± 0.004 <sup>a2</sup>
C 7.5 ppm	0	52.38 ± 2.60 <sup>b1</sup>	47.62 ± 2.56 <sup>a2</sup>	21.01 ± 2.12 <sup>ab12</sup>	22.74 ± 0.54 <sup>ab1</sup>	3.71 ± 0.06 <sup>a2</sup>	0.973 ± 0.001 <sup>b1</sup>
	20	51.11 ± 2.18 <sup>ab1</sup>	48.89 ± 2.18 <sup>ab1</sup>	20.37 ± 2.18 <sup>a2</sup>	22.12 ± 0.19 <sup>a1</sup>	3.67 ± 0.04 <sup>a2</sup>	0.972 ± 0.001 <sup>b1</sup>
	40	49.60 ± 3.31 <sup>ab1</sup>	50.40 ± 3.31 <sup>ab1</sup>	21.89 ± 0.54 <sup>ab1</sup>	21.83 ± 0.35 <sup>a1</sup>	3.68 ± 0.02 <sup>a1</sup>	0.971 ± 0.002 <sup>ab1</sup>
	60	49.34 ± 2.36 <sup>ab2</sup>	50.66 ± 2.36 <sup>ab1</sup>	23.57 ± 0.61 <sup>b1</sup>	23.31 ± 0.12 <sup>b12</sup>	3.71 ± 0.18 <sup>a1</sup>	0.972 ± 0.003 <sup>ab1</sup>
	80	48.06 ± 1.21 <sup>a3</sup>	51.94 ± 1.21 <sup>b1</sup>	22.64 ± 1.17 <sup>ab1</sup>	23.42 ± 0.37 <sup>b2</sup>	3.70 ± 0.02 <sup>a1</sup>	0.968 ± 0.003 <sup>a1</sup>
C 10 ppm	0	54.28 ± 1.83 <sup>b12</sup>	45.72 ± 1.83 <sup>a12</sup>	22.58 ± 2.31 <sup>a2</sup>	22.35 ± 0.62 <sup>a1</sup>	3.48 ± 0.11 <sup>a1</sup>	0.974 ± 0.001 <sup>b1</sup>
	20	53.58 ± 0.11 <sup>b1</sup>	46.42 ± 0.11 <sup>a1</sup>	19.41 ± 0.72 <sup>b1</sup>	23.10 ± 0.38 <sup>ab1</sup>	3.68 ± 0.03 <sup>b2</sup>	0.971 ± 0.001 <sup>ab1</sup>
	40	53.49 ± 0.44 <sup>b1</sup>	46.51 ± 0.44 <sup>a1</sup>	23.12 ± 1.22 <sup>b2</sup>	22.76 ± 0.64 <sup>ab1</sup>	3.67 ± 0.05 <sup>b1</sup>	0.970 ± 0.001 <sup>a1</sup>
	60	44.17 ± 4.67 <sup>a1</sup>	55.83 ± 4.67 <sup>b2</sup>	24.46 ± 2.00 <sup>b1</sup>	23.54 ± 0.63 <sup>b2</sup>	3.75 ± 0.01 <sup>c1</sup>	0.973 ± 0.004 <sup>ab1</sup>
	80	43.56 ± 1.17 <sup>a12</sup>	56.44 ± 1.17 <sup>b23</sup>	25.08 ± 1.31 <sup>b1</sup>	23.39 ± 1.43 <sup>b2</sup>	3.72 ± 0.06 <sup>b1</sup>	0.973 ± 0.003 <sup>ab2</sup>

Results are expressed as mean (n = 3) ± standard deviation. <sup>a-d</sup> Means in each column with different letters were significantly affected by ripening time (p < 0.05); <sup>1-3</sup> means with different numbers were significantly different between cheese samples at a similar ripening time (p < 0.05).

**Table 2.** Total phenolic compounds and antioxidant capacity (FRAP and DPPH) in sheep's milk cheese at different stages of storages

Chesse samples	Ripening time (days)	*Total Phenolic Compounds	*Antioxidant Capacity by DPPH	*Antioxidant Capacity by FRAP
B 10 ppm	0	104.62 ± 4.37 <sup>a1</sup>	10.24 ± 0.08 <sup>a1</sup>	2.67 ± 0.18 <sup>a1</sup>
	20	171.95 ± 7.71 <sup>b1</sup>	10.79 ± 0.23 <sup>ab1</sup>	2.78 ± 0.21 <sup>a1</sup>
	40	206.30 ± 3.33 <sup>c1</sup>	10.95 ± 0.17 <sup>b1</sup>	3.33 ± 0.19 <sup>b1</sup>
	60	213.49 ± 3.56 <sup>c1</sup>	11.66 ± 0.81 <sup>c1</sup>	3.45 ± 0.03 <sup>bc1</sup>
	80	251.53 ± 13.81 <sup>d1</sup>	10.62 ± 0.42 <sup>ab1</sup>	3.61 ± 0.12 <sup>c1</sup>
C 5 ppm	0	111.96 ± 2.98 <sup>a12</sup>	10.57 ± 0.37 <sup>a12</sup>	2.98 ± 0.05 <sup>a2</sup>
	20	183.62 ± 3.31 <sup>b2</sup>	11.30 ± 0.10 <sup>b12</sup>	3.44 ± 0.10 <sup>b2</sup>
	40	241.84 ± 3.85 <sup>c2</sup>	11.48 ± 0.14 <sup>b12</sup>	3.58 ± 0.08 <sup>bc12</sup>
	60	245.65 ± 8.81 <sup>c2</sup>	11.90 ± 0.39 <sup>b1</sup>	3.74 ± 0.30 <sup>c2</sup>
	80	286.04 ± 14.66 <sup>d2</sup>	11.28 ± 0.27 <sup>b2</sup>	3.82 ± 0.12 <sup>c2</sup>
C 7.5 ppm	0	119.23 ± 0.06 <sup>a2</sup>	11.04 ± 0.27 <sup>a23</sup>	3.27 ± 0.01 <sup>a3</sup>
	20	187.73 ± 4.58 <sup>b23</sup>	11.51 ± 0.04 <sup>ab2</sup>	3.63 ± 0.05 <sup>b23</sup>
	40	253.29 ± 7.41 <sup>c2</sup>	11.91 ± 0.17 <sup>b23</sup>	3.90 ± 0.11 <sup>c2</sup>
	60	280.90 ± 3.13 <sup>d3</sup>	12.66 ± 0.47 <sup>c2</sup>	4.27 ± 0.09 <sup>d3</sup>
	80	309.68 ± 5.44 <sup>e3</sup>	11.75 ± 0.14 <sup>b23</sup>	4.27 ± 0.03 <sup>d3</sup>
C 10 ppm	0	137.22 ± 7.41 <sup>a3</sup>	11.44 ± 0.17 <sup>a3</sup>	3.59 ± 0.12 <sup>a4</sup>
	20	197.20 ± 6.00 <sup>b3</sup>	12.22 ± 0.41 <sup>b3</sup>	3.89 ± 0.24 <sup>b3</sup>
	40	267.24 ± 1.02 <sup>c3</sup>	12.41 ± 0.20 <sup>b3</sup>	4.55 ± 0.10 <sup>c3</sup>
	60	307.91 ± 4.41 <sup>d4</sup>	13.73 ± 0.64 <sup>c3</sup>	4.73 ± 0.10 <sup>c4</sup>
	80	318.34 ± 8.03 <sup>d3</sup>	12.30 ± 0.54 <sup>b3</sup>	4.64 ± 0.11 <sup>c4</sup>

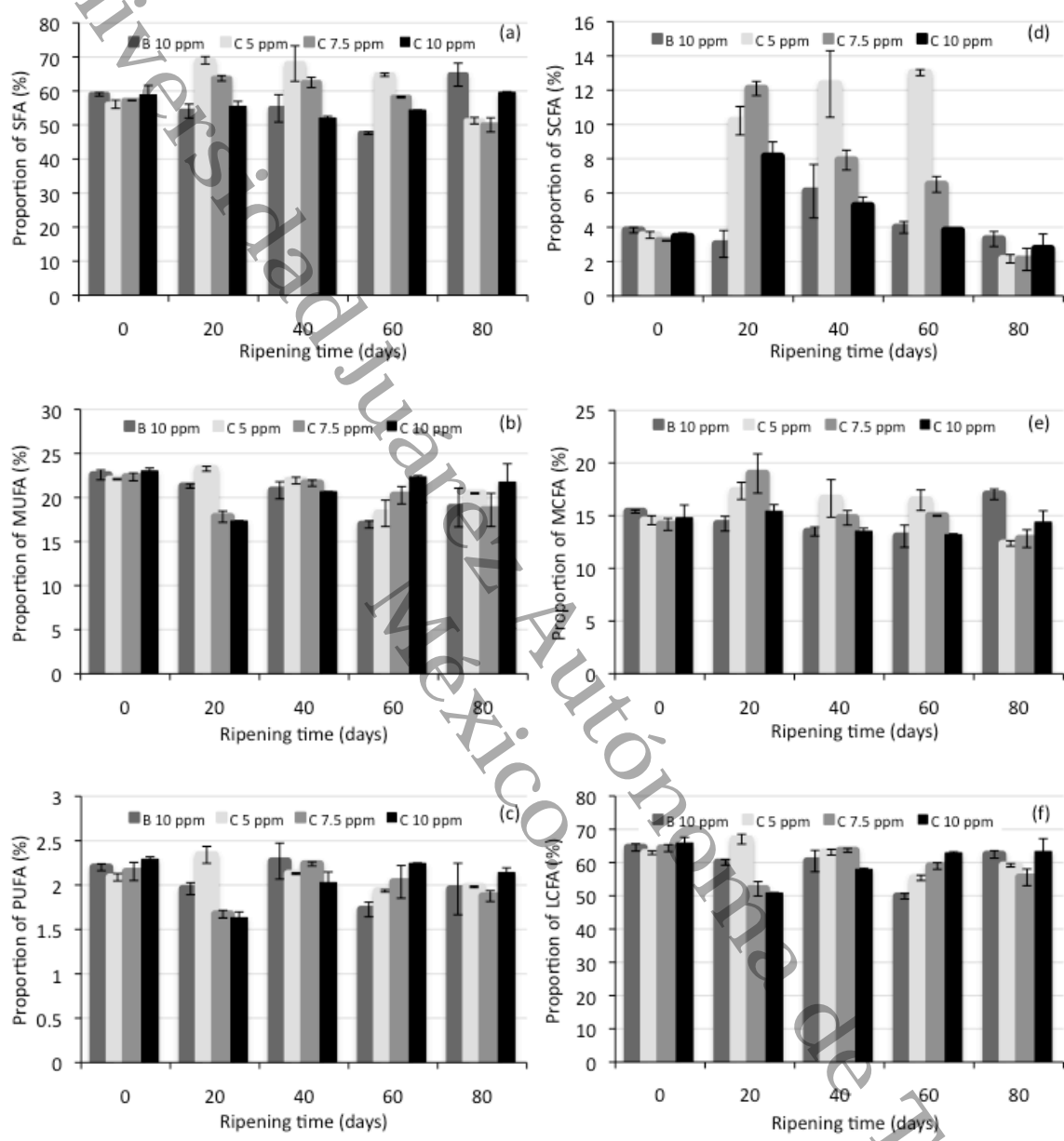
\*Total phenolic compounds values are expressed in mg eq GAE/100g sample and whey, and antioxidant capacity values are expressed in mM eq Trolox/g sample. Results are expressed as mean (n = 3) ± standard deviation. <sup>a-e</sup> Means in each column with different letters were significantly affected by ripening time (p < 0.05); <sup>1-4</sup> means with different numbers were significantly different between cheese samples at a similar ripening time (p < 0.05).



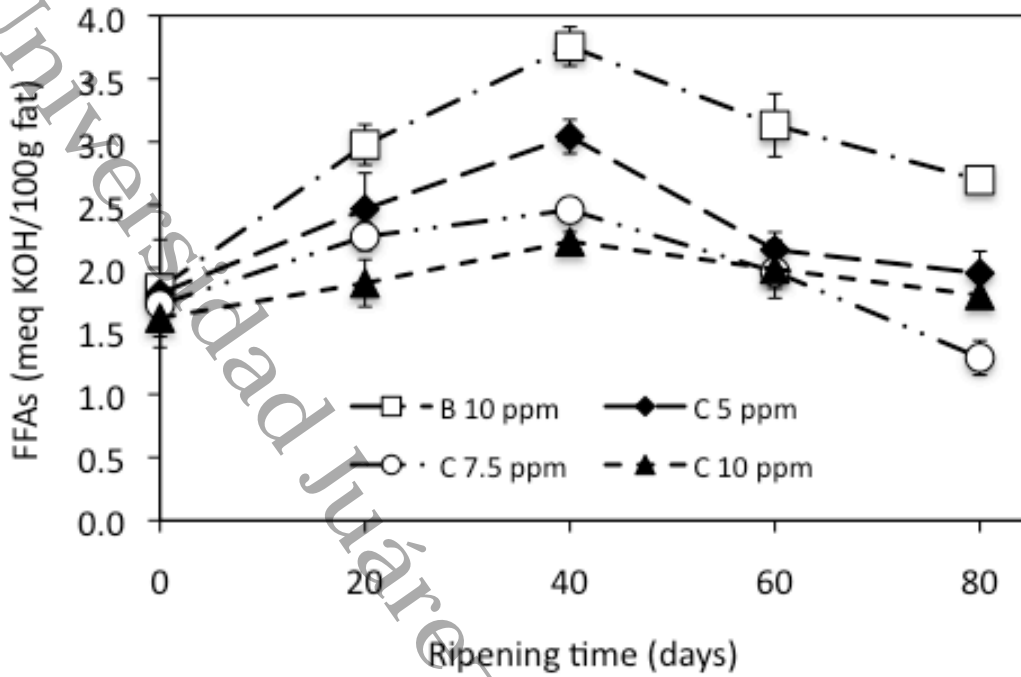
**Table 3.** Color, in units of  $L^*$   $a^*$   $b^*$ , in sheep's milk cheese at different stages of storages

Chesse samples	Ripening time (days)	$L^*$	$a^*$	$b^*$
B 10 ppm	0	78.27 ± 0.85 <sup>a1</sup>	-2.27 ± 0.15 <sup>a1</sup>	6.00 ± 0.75 <sup>a1</sup>
	20	77.67 ± 0.45 <sup>a1</sup>	0.23 ± 0.49 <sup>b1</sup>	9.93 ± 0.90 <sup>b1</sup>
	40	77.90 ± 0.70 <sup>a1</sup>	0.67 ± 0.12 <sup>b1</sup>	9.73 ± 1.65 <sup>b1</sup>
	60	77.13 ± 1.51 <sup>ab1</sup>	0.57 ± 0.67 <sup>b1</sup>	11.57 ± 1.66 <sup>c1</sup>
	80	75.33 ± 1.27 <sup>b2</sup>	0.43 ± 0.29 <sup>b1</sup>	11.70 ± 2.29 <sup>c1</sup>
C 5 ppm	0	76.57 ± 1.50 <sup>a1</sup>	-3.17 ± 0.15 <sup>a1</sup>	10.53 ± 0.98 <sup>a2</sup>
	20	76.43 ± 1.50 <sup>a1</sup>	-3.20 ± 0.69 <sup>a2</sup>	13.57 ± 0.99 <sup>b2</sup>
	40	74.80 ± 0.96 <sup>ab2</sup>	-1.47 ± 0.83 <sup>b2</sup>	18.90 ± 0.82 <sup>c3</sup>
	60	75.03 ± 0.49 <sup>ab2</sup>	-0.90 ± 0.78 <sup>bc2</sup>	18.07 ± 2.12 <sup>c2</sup>
	80	72.97 ± 0.35 <sup>b1</sup>	-0.27 ± 0.50 <sup>c1</sup>	17.70 ± 2.21 <sup>c2</sup>
C 7.5 ppm	0	76.57 ± 0.25 <sup>b1</sup>	-4.93 ± 0.15 <sup>a2</sup>	12.37 ± 1.05 <sup>a23</sup>
	20	78.27 ± 1.31 <sup>a1</sup>	-4.87 ± 1.12 <sup>a3</sup>	15.20 ± 1.11 <sup>b23</sup>
	40	74.80 ± 1.23 <sup>c2</sup>	-1.40 ± 0.72 <sup>b2</sup>	19.00 ± 1.84 <sup>c3</sup>
	60	74.03 ± 1.04 <sup>c2</sup>	-0.73 ± 0.76 <sup>bc2</sup>	18.80 ± 1.77 <sup>c2</sup>
	80	74.77 ± 1.40 <sup>c2</sup>	-0.43 ± 0.55 <sup>c1</sup>	22.60 ± 2.51 <sup>d3</sup>
C 10 ppm	0	77.63 ± 0.78 <sup>a1</sup>	-5.17 ± 0.21 <sup>a2</sup>	14.17 ± 0.75 <sup>a3</sup>
	20	76.73 ± 2.12 <sup>a1</sup>	-5.80 ± 0.46 <sup>a3</sup>	18.43 ± 1.95 <sup>b3</sup>
	40	77.37 ± 1.02 <sup>a1</sup>	-2.13 ± 0.47 <sup>b2</sup>	13.80 ± 0.95 <sup>a2</sup>
	60	76.50 ± 0.36 <sup>a1</sup>	-1.90 ± 0.78 <sup>b3</sup>	20.30 ± 0.90 <sup>b2</sup>
	80	77.27 ± 1.12 <sup>a3</sup>	-2.10 ± 0.7 <sup>b2</sup>	24.10 ± 3.73 <sup>c3</sup>

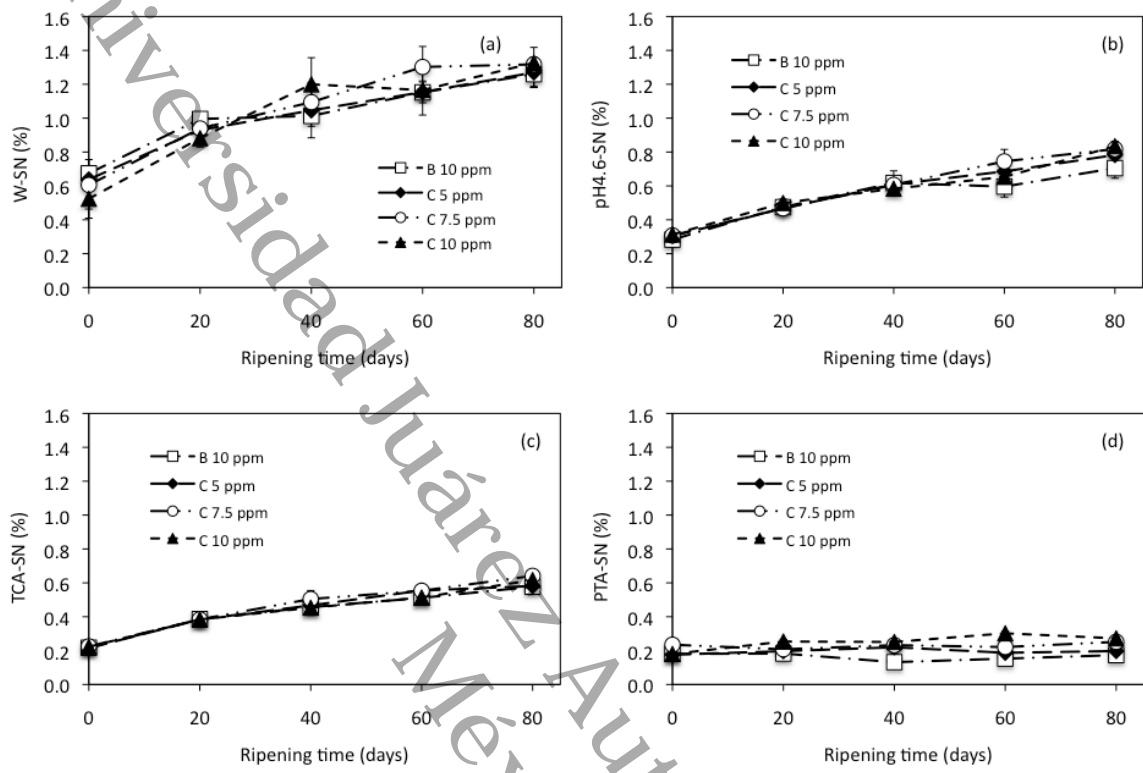
Results are expressed as mean (n = 3) ± standard deviation. <sup>a-e</sup>Means in each column with different letters were significantly affected by ripening time (p < 0.05); <sup>1-4</sup>means with different numbers were significantly different between cheese samples at a similar ripening time (p < 0.05).  $L^*$  brightness,  $a^*$  red / green coordinates,  $b^*$  yellow / blue coordinates.



**Figure 1.** The proportion of fatty acid groups in Manchego cheese with respect to the ripening time and the food colour added; (a) saturated (SFA), (b) mono-unsaturated (MUFA), (c) polyunsaturated fatty acids (PUFA), (d) short-chain (SCFA), (e) medium-chain (MCFA), and (f) long-chain (LCFA), SCFA = C4; MCFA = C6–C12; LCFA = C14–C18. B = bixin, C = curcumin added.



**Figure 2.** Lipolysis of Manchego cheese ripened at 10 °C, expressed as free fatty acids (FFAs). B = bixin, C = curcumin added.



**Figure 3.** Proteolysis of Manchego cheese ripened at 10 °C, expressed as soluble nitrogen (SN); (a) in water (W-SN), (b) in sodium citrate at pH 4.6 (pH 4.6-SN), (c) in trichloroacetic acid (TCA-SN) and (d) in phosphotungstic acid (PTA-SN). B = bixin, C = curcumin added

## V. CONCLUSIONES

La adición de curcumina nanoemulsionada en la elaboración de queso tipo manchego con leche de oveja pelibuey tuvo un efecto positivo en la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales del mismo al observarse que los quesos que contenían curcumina nanoemulsionada presentaron mayor capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales que el queso testigo. No se observaron diferencias estadísticas en la humedad, sólidos totales, sólidos no grasos, proteína, grasa, cenizas y actividad de agua. Los quesos fueron aceptados sensorialmente a pesar de presentar diferencias en el olor, sabor, textura, apariencia y color (característica que se vio más afectada al obtenerse quesos verde-amarillos y menos luminosos). A su vez el grado de proteólisis y lipólisis fue mayor en los quesos con curcumina nanoemulsionada. Durante la maduración, la humedad disminuyó, lo que correspondió a un aumento en los sólidos totales. Los ácidos grasos de cadena corta y larga también disminuyeron. A medida que el queso envejecía, más caseínas y péptidos de alto peso molecular se dividían en péptidos más pequeños que eran solubles en agua, pH 4.6, TCA o PTA; lo que indicó un aumento de la proteólisis. La capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales también aumentaron en todos los tratamientos y pudo atribuirse en parte a la proteólisis progresiva de las proteínas que producen péptidos solubles y aminoácidos con capacidad antioxidante. Los quesos mostraron una lipólisis progresiva hasta el día 40, a partir de ahí hubo una ligera disminución.

## VI. ANEXOS

[Responder](#) [Responder a todos](#) [Reenviar](#)

### [ERA] Acuse de recibo de envío

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro [editorera1@ujat.mx]

Para: ANGELICA ALEJANDRA OCHOA FLORES

miércoles, 20 de febrero de 2019 21:40

Dra. Angelica Alejandra Ochoa Flores:

Gracias por enviar el manuscrito "EFECTO DE CURCUMINA NANOEMULSIONADA EN EL CONTENIDO FENÓLICO Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE QUESO TIPO MANCHEGO" a Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. Con nuestro sistema de gestión de revistas en línea, podrá iniciar sesión en el sitio web de la revista y hacer un seguimiento de su progreso a través del proceso editorial.

URL del manuscrito:

<http://era.ujat.mx/index.php/rera/author/submission/2151>

Nombre de usuario/a: angelicaof

En caso de dudas, contacte conmigo. Gracias por elegir esta revista para publicar su trabajo.

Dr. Efraín de la Cruz Lázaro  
Ecosistemas y Recursos Agropecuarios

---

Ecosistemas y Recursos Agropecuarios

<http://era.ujat.mx>

Email secured by Check Point

[Responder](#) [Responder a todos](#) [Reenviar](#)

## Submission Confirmation

em.india.0.61706c.9ab566bf@editorialmanager.com en no...

Para: ANGELICA ALEJANDRA OCHOA FLORES

jueves, 21 de febrero de 2019 22:01

Title: Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin  
Article Type: Research Article

Dear Ochoa-Flores

We have received your article.

Title: "Changes during the ripening of manchego cheese elaborated with sheep's milk and nanoemulsioned curcumin"  
Article Type: Research Article

for consideration for publication in the International Dairy Journal.

Your manuscript will be given a reference number once an editor has been assigned.

To track the status of your paper, please do the following:

1. Go to this URL: <https://www.editorialmanager.com/inda/>
2. Enter these login details:  
Your username is: Angelicaof  
If you need to retrieve password details, please go to:  
[http://ees.elsevier.com/inda/automail\\_query.asp](http://ees.elsevier.com/inda/automail_query.asp)
3. Click [Author Login]  
This takes you to the Author Main Menu.
4. Click [Submissions Being Processed]

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System  
International Dairy Journal