



## Evaluación de propiedades fisicoquímicas y físicas de dos alimentos lácteos (yogur y queso) enriquecidos con nanopartículas de Ca, Fe y Zn

### Evaluation of physicochemical and physical for two dairy products (yogurt and cheese) fortified with nanoparticles of Ca, Fe and Zn

Esmeralda Santillán U.<sup>1</sup>, Jorge Fernando Vélez R.

Recibo: 12.07.2018 Aceptado: 30.04.2019

Santillán E., Vélez J. (2019). Evaluación de propiedades fisicoquímicas y físicas de dos alimentos lácteos (yogur y queso) enriquecidos con nanopartículas de Ca, Fe y Zn. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 6(1), 52-80

#### Resumen

La El yogur y el queso son dos productos lácteos altamente consumidos en todo el mundo. Debido a sus características estructurales, representan una excelente estructura para la incorporación de diversos nutrientes. El objetivo de este estudio fue fortificar, yogur asentado y queso Panela con nanopartículas de hierro, zinc y calcio, para realizar una comparación de su incorporación en forma nanoparticulada y en forma convencional (micro) y así determinar su efecto sobre las propiedades fisicoquímicas y reológicas, durante 28 días de almacenamiento. Se observó que el pH del yogur disminuyó, la acidez aumentó durante el almacenamiento. La densidad y la humedad no mostraron diferencias entre muestras, tampoco en almacenamiento. El color varió en yogur con hierro, el cambio neto aumentó en almacenamiento para todas las muestras. La sinéresis aumentó en yogures con micro-minerales y fue menor en nano-fortificados; mientras que durante el almacenamiento también aumentó significativamente. El modelo de Herschel-Bulkley mostró mejor ajuste para el comportamiento no newtoniano del yogur. Los yogures con nanopartículas de calcio y zinc aumentaron su consistencia y firmeza, ambos parámetros disminuyeron durante el almacenamiento; el esfuerzo de cedencia y el índice de flujo no cambiaron significativamente durante el almacenamiento. El pH, la acidez y la humedad del queso, se mantuvieron estables y no se observaron variaciones durante el almacenamiento. Los parámetros de color mostraron variaciones en los quesos con hierro (nano y micro), las muestras fortificadas con calcio y zinc no mostraron diferencias; durante el periodo de almacenamiento hubo un incremento en el cambio neto de color. La textura de muestras con el nivel más alto de calcio registró mayor dureza y menor adhesividad; durante el almacenamiento se observó un incremento significativo en dureza y una disminución en adhesividad en todos los quesos. En general, la fortificación con nanopartículas mostró ventajas sobre la fortificación convencional

**Palabras clave:** Yogur, queso, fortificación, nanopartículas, propiedades fisicoquímicas y físicas.

<sup>1</sup>Universidad de las Américas Puebla; Correo: [esantillan@uap.edu.mx](mailto:esantillan@uap.edu.mx); México

## Abstract

Yogurt and cheese are two dairy products with high consumption. Due to their characteristics, they are excellent structures for nutrients incorporation, a liquid food and a solid food. The objective of this research was to fortify a set yogurt and a Panela cheese, with nanoparticles of iron, zinc and calcium, to study and compare the effect of nanoparticles and conventional (micro) minerals on the physicochemical and rheological properties, through 28 days of storage. Yogurt pH decreased, acidity increased during storage, whereas density and moisture did not show differences between samples and either with storage. Color varied in yogurt with iron, and the net change of color augmented with storage for all samples. Syneresis increased significantly in yogurt with micro-minerals and was lower in yogurt nano-fortified, also it increased through storage time. Herschel and Bulkley model did the best fitting for the non-Newtonian behavior of yogurt. Yogurt with nanoparticles of Ca and Zn increased their consistency and firmness, both parameters decreased with time; yield stress and flow index were stable during storage, without significant change. In cheese, pH, acidity and moisture were stable and did not change with storage. Color parameters showed variations in cheese with iron (nano and micro), cheese with calcium and zinc did not exhibit differences and the net change of color augmented through storage for all samples. Texture of cheese with high level of Ca had higher hardness and lower adhesivity; during storage a significant increase in hardness and a decrease in adhesivity was observed for all cheeses. In general, the fortification with nanoparticles exhibited advantages in comparison with conventional fortification.

**Keywords:** *Yogurt, cheese, fortification, nanoparticles, physicochemical and physical properties.*

## Introducción

El bajo consumo o absorción de minerales como el calcio, el hierro y el zinc puede generar deficiencias asociadas con problemas en la salud humana, incluyendo un mal crecimiento en niños, huesos débiles y trastornos del sistema inmunológico. La fortificación de alimentos puede desempeñar un rol importante para superar estos problemas. El yogur como producto lácteo novedoso por un lado y el queso, como producto tradicional han ganado mucha aceptación y aumentado su demanda por parte de los consumidores, ya que se perciben como productos saludables, ricos en nutrientes como calcio y proteínas de alta calidad (Mckinley, 2005). Sin embargo, como es común con todos los productos lácteos, el contenido de hierro y

zinc es muy bajo naturalmente (Mehar-Afroz, Swaminathan, Karthikeyan, Pervez y Umesh, 2012). Debido a su naturaleza y consumo generalizado, ambos productos pueden ser vehículos adecuados para suministrar estos minerales.

La fortificación de alimentos con minerales es un método para controlar y disminuir las deficiencias nutricionales en los seres humanos de cualquier edad. Los productos lácteos como el yogur y el queso al ser alimentos altamente consumidos constituyen un vehículo potencial para la adición de componentes que ayuden a mejorar la nutrición humana. Se han publicado varios estudios sobre la fortificación del yogur con minerales (Gahruie, Eskandari, Meshashi y Hanifpour, 2015; Karam, Gaiani, Hosri, Burgain y Scher, 2013, Ocak y Köse, 2010).

Sin embargo el calcio, el hierro y el zinc pueden interactuar químicamente con diversos ingredientes alimentarios, que pueden causar cambios en las propiedades fisicoquímicas importantes para la calidad. La calidad de los productos lácteos fortificados depende de la fuente mineral seleccionada, la concentración y los efectos potenciales sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales (Fayed, 2015).

Los minerales como el calcio, el hierro y el zinc tienen especial importancia, ya que cada uno de ellos se relaciona con un aspecto concreto del crecimiento y mantenimiento de la salud en ser humano, el calcio se relaciona con el crecimiento de la masa ósea, el hierro con el desarrollo de glóbulos rojos y tejidos musculares, el zinc con el desarrollo de la masa ósea y muscular, también está relacionado con crecimiento del cabello y uñas (Heaney, Rafferty, Dowell y Bierman, 2005). Éstos minerales son absorbidos en la mucosa intestinal, lo cual está fuertemente influenciado por la solubilidad y la biodisponibilidad de los minerales. Por lo tanto, la adición de minerales en forma de nanopartículas puede facilitar la absorción, permitiendo la liberación de los minerales, como una opción alternativa para la fortificación en la industria alimentaria (Santillán-Urquiza, Ruiz-Urquiza, Angulo-Molina, Vélez-Ruiz y Méndez-Rojas, 2017; Mehar-Afroz et al., 2012). El uso de nanomateriales en la fortificación de alimentos ha experimentado un crecimiento significativo en los últimos años y es muy prometedor (Santillán-Urquiza, et al., 2017). Esta tendencia ha sido impulsada por la capacidad de estas estructuras para mejorar la biodisponibilidad y la solubilidad de los ingredientes activos debido a su gran relación superficie-volumen.

Las nanoestructuras tipo núcleo-coraza utilizadas para la fortificación del yogur y del queso Panela, han sido previamente diseñadas, preparadas y evaluadas (Santillán-Urquiza, Arteaga-Cardona, Hernández-Herman, Pacheco-García, González-Rodríguez, Coffey, Mendoza-Álvarez, Vélez-Ruiz, y Méndez-

Rojas, 2015), las nanopartículas están recubiertas con inulina. La inulina contribuye a que estos minerales sean más solubles y biodisponibles, reduciendo al mismo tiempo su reactividad. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la adición de nanopartículas de fosfato de calcio, óxido de hierro y óxido de zinc recubiertas con inulina en un yogur de tipo asentado y en un queso fresco tipo Panela, evaluando los posibles cambios en las propiedades fisicoquímicas, reológicas, texturales y sensoriales inmediatamente después de su elaboración y durante el almacenamiento en refrigeración, comparando los resultados de la adición de estos minerales en su forma directa o micro y con un producto control.

## Materiales y Métodos

Para la fortificación se utilizaron nanopartículas de  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y  $\text{ZnO}$  recubiertas con inulina (Fructagave SP750, Monterrey, México) y micro minerales comercialmente disponibles de  $\text{CaHPO}_4$ ,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  y  $\text{ZnO}$  (Sigma-Aldrich, México). Se utilizó leche comercial líquida pasteurizada (Alpura®, México) y leche en polvo desnatada (Svelty®, México) para la elaboración de las diferentes formulaciones de ambos productos lácteos. Microorganismos liofilizados Choozit® (Danisco, México) que contienen: *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* y *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*. Se empleó cuajo líquido estandarizado (enzimas coagulantes microbianas) marca Cuamix (CuamexM.R., México). Y para el análisis de la digestión se utilizaron las enzimas pepsina (Golden Bell, México) y pancreatina (Sigma-Aldrich, México).

### Preparación de yogur

Para la preparación de yogur, se estandarizó la leche añadiendo 6 g de leche en polvo por 100 mL de leche pasteurizada. A continuación, se aplicó un tratamiento térmico elevando la temperatura de la leche a 90°C durante 20 min y luego enfriando hasta 40-45°C. Después de

Enfriar a 42°C, se añadió el cultivo liofilizado directamente y se agitó durante 10 min, y se vertió en envases de plástico de 100 mL. Enseguida los minerales se añadieron a una concentración como se describe en la Tabla 1 y se agitaron durante 20 min (120 agitaciones/min) hasta la disolución completa. Posteriormente, se incubó la leche con minerales a 45°C durante 5 h hasta alcanzar un pH de 4.6 (Lee y Lucey, 2010) y los productos se almacenaron durante 28 días a 4 ± 1°C.

### Elaboración del queso fresco

Para la elaboración del queso Panela, la leche estandarizada a 20% de sólidos, recibió un tratamiento térmico de 63 ± 1°C por 30 min, luego se enfrió hasta 43 ± 1°C. Luego se añadieron los minerales para la fortificación del queso de acuerdo a las formulaciones de la Tabla 2 (previamente disueltos en 10 mL de agua destilada), en seguida se realizó la coagulación mediante la adición de 0.15 mL/L de cuajo (CuamexM.R., México) diluido en 50 mL de agua destilada. Una vez formada la

cuajada se cortó en cubos de 1 cm<sup>3</sup>, se dejó reposar durante 10 min, para luego eliminar el exceso de suero. Se realiza la adición de sal a la cuajada (5 g de sal por, 200 g de masa de cuajo), se dejó reposar durante 10 min. Finalmente, se realiza el desuerado, el moldeo de la cuajada y el envasado de quesos en bolsas de polietileno selladas. Después de la elaboración los quesos se almacenaron en refrigeración a 4 ± 1°C hasta su análisis posterior. Se llevó a cabo el mismo procedimiento para todas las muestras de quesos fortificados (Jiménez-Guzmán, Flores-Nájera, Cruz-Guerrero y Gracia-Garibay, 2009; Lobato-Calleros, Ramos-Solís, Santos-Moreno y Rodríguez-Hueso, 2006).

### Síntesis de nanopartículas

Se prepararon nanopartículas inorgánicas de ZnO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@ZnO y CaHPO<sub>4</sub>, todas recubiertas con inulina, de acuerdo con los métodos presentados por Santillán-Urquiza et al. (2015).

**Tabla 1.** Formulaciones de yogures fortificados y control (100 g de muestra).

| Muestras          | Mineral | Tamaño | Cantidad (mg) | IDR (%) | Inulina (mg) | Humedad (%) | Sólidos totales (%) |
|-------------------|---------|--------|---------------|---------|--------------|-------------|---------------------|
| Control           | 0       | 0      | 0             | 0       | 0            | 84.02       | 15.98               |
| Ca <sub>30N</sub> | Ca      | nano   | 240           | 30      | 15           | 82.08       | 17.98               |
| Ca <sub>30M</sub> | Ca      | micro  | 240           | 30      | 15           | 82.24       | 17.76               |
| Ca <sub>15N</sub> | Ca      | nano   | 120           | 15      | 15           | 82.67       | 17.33               |
| FZ <sub>50N</sub> | Fe/Zn   | nano   | 7.5/12        | 50/80   | 15           | 83.50       | 16.50               |
| FZ <sub>50M</sub> | Fe/Zn   | micro  | 7.5/12        | 50/80   | 15           | 83.76       | 16.24               |
| FZ <sub>25N</sub> | Fe/Zn   | nano   | 3.7/6         | 25/40   | 15           | 82.70       | 17.30               |
| Zn <sub>50N</sub> | Zn      | nano   | 7.5           | 50      | 15           | 82.59       | 17.41               |
| Zn <sub>50M</sub> | Zn      | micro  | 7.5           | 50      | 15           | 82.96       | 17.04               |
| Zn <sub>25N</sub> | Zn      | nano   | 3.7           | 25      | 15           | 82.11       | 17.89               |

IDR: Ingesta Diaria Recomendada, 15, 25, 30, 40, 50, 80: Concentración de mineral, N: nanopartículas, M: micro.

**Tabla 2.** Formulaciones de quesos fortificados y control (100 g de muestra).

| Muestras           | Minerales | Tamaño | Cantidad (mg) | IDR (%) | Humedad (%) | Sólidos totales (%) |
|--------------------|-----------|--------|---------------|---------|-------------|---------------------|
| Control            | 0         | 0      | 0             | 0       | 56.43       | 43.57               |
| Ca <sub>30</sub> N | Ca        | calcio | nano          | 240     | 54.78       | 45.22               |
| Ca <sub>30</sub> M | Ca        | calcio | nano          | 120     | 55.76       | 44.24               |
| Ca <sub>15</sub> N | Ca        | hierro | nano          | 7.5     | 55.41       | 44.59               |
|                    |           | zinc   |               | 12      |             |                     |
| FZ <sub>50</sub> N | Fe/Zn     | hierro | nano          | 3.75    | 55.27       | 44.73               |
|                    |           | zinc   |               | 6       |             |                     |
| FZ <sub>50</sub> M | Fe/Zn     | zinc   | nano          | 7.5     | 55.46       | 44.54               |
| FZ <sub>25</sub> N | Fe/Zn     | zinc   | nano          | 3.75    | 55.28       | 44.72               |
| Zn <sub>50</sub> N | Zn        | calcio | micro         | 240     | 54.90       | 45.10               |
|                    |           | hierro |               | 7.5     |             |                     |
| Zn <sub>50</sub> M | Zn        | zinc   | micro         | 12      | 55.19       | 44.81               |
|                    |           | zinc   |               | 12      |             |                     |
| Zn <sub>25</sub> N | Zn        | zinc   | micro         | 7.5     | 55.49       | 44.51               |

IDR: Ingesta Diaria Recomendada, 15, 25, 50: Concentración de mineral, N: nanopartículas, M: micro.

### Caracterización de nanopartículas

Las nanopartículas se caracterizaron por diversos métodos instrumentales, tales como la difracción de rayos X en polvo (DRX), la espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier (FT-IR), la microscopía electrónica de transmisión (TEM) y el análisis termogravimétrico (TGA) (Yue-Jian, 2010; Santillán-Urquiza et al., 2015).

### Determinación de la solubilidad de nano y micro minerales por digestión in vitro

Se aplicó el protocolo de digestión in vitro a las muestras de Ca<sub>30</sub>N, Ca<sub>30</sub>M, FZ<sub>50</sub>N, FZ<sub>50</sub>M, Zn<sub>50</sub>N y Zn<sub>50</sub>M, de acuerdo a Cilla, Perales, Lagarda, Reyes Barbera y Farre (2008), con modificaciones menores. Comprende dos etapas secuenciales: una gástrica y otra intestinal.

Para evaluar la digestibilidad gástrica de nanopartículas y micro minerales, se realizó el proceso de disolución de 8 g de las muestras de yogur fortificado en una solución de HCl (6 mol/L) ajustada a pH 2. Como siguiente paso se adicionó una solución de la enzima pepsina (20 mg por gramo de muestra), la mezcla se

incubó a 37°C con agitación durante 2 h (120 agitaciones por minuto). La incubación continuó durante 2 h, después de ajustar el pH a 7.2 con una solución de NaOH 0.5 mol/L. Las muestras se centrifugaron a 1252 gravedades durante 20 minutos y se filtraron. La concentración de iones Ca (II), Zn (II) y Fe (III) se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Varian SpectrAA 220Fs, Midland, ON, Canadá). Las concentraciones de los iones especificados se midieron en una llama de aire/acetileno para Zn y Fe y llama de NO<sub>2</sub>/acetileno para Ca. La cantidad de iones metálicos liberados se calculó a partir de una curva de calibración obtenida previamente (Argyri, Birba, Miller, Komaitis y Kapsokfalou., 2009). Al final la mezcla se mantuvo en hielo durante 15 min para detener la digestión enzimática.

### Análisis Físicoquímicos

El pH se midió por inmersión con un potenciómetro digital (Beckman, Denver, CO, EU), previamente calibrado, a temperatura ambiente. Las muestras de queso fueron trituradas y colocadas en agua (5 g de queso en

25 mL de agua destilada). El contenido de humedad se determinó mediante evaporación de agua (método 16.032, A.O.A.C. 2000). La acidez se cuantificó por titulación de 9 mL de yogur, mientras que para el queso se cuantificó por titulación de 5 g de queso triturado en 25 mL de agua, usando fenolftaleína e NaOH (método 16.023, 135 A.O.A.C. 2000). La densidad se determinó mediante un método gravimétrico usando picnómetros de aluminio (Fisherbrand, ON, Canadá). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

El color del yogur y del queso se midieron por medio de un colorímetro Color Gard System 05 (Hunter Labs, Reston, VA, EU), previamente calibrado con una placa blanca, con valores de reflectancia estandarizados de  $L = 93.82$ ,  $a^* = -3.58$  y  $b^* = 6.50$  y expresada por los parámetros  $L$ ,  $a$ ,  $b$  de la escala Hunter. Las pruebas también se realizaron por triplicado con muestras de 20 mL cada una. Adicionalmente se calculó el cambio neto de color usando la siguiente ecuación 1 (Díaz-Jiménez, Sosa-Morales y Vélez-Ruiz, 2004; Kahyaoglu, Kaya y Kaya, 2005):

$$\Delta E = [(L-L_0)^2 + (a-a_0)^2 + (b-b_0)^2]^{0.5}$$

Dónde:  $L$ ,  $a$ , y  $b$  son los parámetros medidos correspondientes a las muestras de yogurt en un tiempo determinado y  $L_0$ ,  $a_0$  y  $b_0$  son los parámetros de Hunter para el control.

Se determinó la sinéresis del yogur mediante un procedimiento de centrifugación, 10 g de yogur se transfirieron a un tubo de vidrio de 50 mL y se centrifugaron a 3000 rpm durante 20 min a 10°C (Rojas-Castro, Chacón-Villalobos y Pineda-castro, 2007). La sinéresis se estimó como el suero liberado sobre el peso original (Ecuación 2) y correspondió al promedio de tres determinaciones.

Sinéresis = (peso del sobrenadante / peso de yogur) \* 100 (2)

Mientras que el suero proveniente del queso se obtuvo por centrifugación de queso rallado a 12500 gravedades a 20°C, el suero se recogió en una probeta graduada previamente pesada (Guinee, Feeney, Auty y Fox, 2002).

### Mediciones reológicas

La respuesta de flujo de las muestras de yogur se llevó a cabo en un viscosímetro Brookfield (DV-III Brookfield Engineering Laboratories Inc., Middleboro, MA, EU). Los esfuerzos cortantes se determinaron a las velocidades de corte correspondientes obtenidas con las siguientes velocidades de giro: 5, 10, 20, 30, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 rpm a 20°C. Los datos experimentales se ajustaron al modelo de Herschel y Bulkley (Ecuac. 3) y al modelo de Ley de Potencia (Ecuación. 4) (Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz, 2013).

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad (4)$$

Dónde:  $\tau_0$  es el esfuerzo de cedencia (Pa),  $K$  es el coeficiente de consistencia (Pa sn) y  $n$  es el índice de comportamiento al flujo (adimensional).

Para caracterizar el comportamiento de flujo de muestras de yogur se utilizaron los tres parámetros, el esfuerzo de cedencia, el índice de flujo y el coeficiente de consistencia ( $K$ ) de estos modelos matemáticos. La raíz cuadrática media del error (RMSE) (Ecuación 5) se utilizó para determinar cuál de los dos modelos tiene un mejor ajuste.

$$RMSE = \left[ 1/d \sum_{i=1}^d (\tau_{exp} - \tau_{pred})^2 \right]^{1/2}$$

Dónde:  $\tau_{exp}$  y  $\tau_{pred}$  representan el esfuerzo cortante obtenido experimentalmente y predicho por cada modelo reológico y  $d$  es el número de datos experimentales.

### **Análisis de textura**

Para la prueba de textura, se realizó un análisis de perfil de textura (TPA) en yogur, para determinar dos parámetros, dureza y cohesividad (Díaz-Jiménez et al., 2004; Walia, Mishra y Pradyuman, 2009), usando un texturometro Texture Analyzer TA.XT2 (Stable Micro Systems, Haslemere, Inglaterra) utilizando el software Texture Expert (v.1.22, 1999). Se realizó la medición de la fuerza de la doble compresión (N) en las muestras fortificados y el control (50 mL) utilizando un cuerpo cilíndrico de 4.3 cm de diámetro y descendiendo a una velocidad de 0.5 mm/s (hasta una profundidad de 20 mm). Todas las mediciones se llevaron a cabo a una temperatura de 20°C después de 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento y por triplicado.

Para los quesos, se cortaron cubos de 15 mm de lado y se dejaron equilibrar a temperatura ambiente (20°C) durante 15 min. Las pruebas se realizaron utilizando un analizador de textura Shimadzu (EZ Test, Kyoto, Japon) por triplicado. Se empleó una placa de compresión de aluminio de 4.8 cm de diámetro, con una velocidad de ensayo de 1 mm/s, y un porcentaje de deformación del 75%. La recolección y el cálculo de los datos se llevó a cabo utilizando el software Trapezium X.

### **Creep y relajación del esfuerzo**

Las muestras de queso fresco se cortaron en cubos de 15 mm de grosor y 15 mm de diámetro, las muestras se equilibraron a temperatura ambiente durante 1 h antes de la prueba. Las mediciones se realizaron utilizando un analizador de textura Shimadzu (EZ Test, Kyoto Japón) por triplicado. Se utilizó una placa de compresión de aluminio de 4.8 cm de diámetro. Las pruebas de creep se realizaron utilizando una fuerza constante de 1 N durante 180 s. Mientras que las pruebas de relajación del esfuerzo se llevaron a cabo con una deformación constante durante 180 s, posteriormente se llevó a cabo la recuperación de la muestra durante 180 s (Osorio-Tobón, Ciro-Velázquez y Mejía,

2005). Las curvas de deformación en porcentaje y de fuerza en Newtons vs tiempo en segundos, se obtuvieron utilizando el software Trapezium X.

### **Determinación de la microestructura**

Se utilizó la microscopía electrónica de barrido (MEB JEOL, Modelo JSM 5600 LV) para determinar cambios en microestructura. Las muestras fueron deshidratadas por liofilización durante 48 h. Posteriormente, las muestras de queso fueron montadas y recubiertas con una fina capa de oro (Sombreador DENTON VACUUM, modelo DES V) para ser observadas al microscopio. Las imágenes de electrones secundarios se lograron excitando la muestra con voltajes de aceleración de 30 kV (Escobar et al., 2012).

### **Análisis sensorial**

Con el fin de determinar la aceptación sensorial de los yogures fortificados, se realizó una evaluación sensorial de siete muestras de yogur con un panel de 30 jueces no entrenados, en dos sesiones, evaluando tres muestras en la primera sesión y cuatro muestras en la segunda sesión. La evaluación sensorial se basó en una escala hedónica simple de nueve puntos, 1 para me disgusta extremadamente y 9 para me gusta extremadamente (Singh y Muthukumarappan, 2008; Dello-Staffolo, Bertola, Martino y Bevilacqua, 2004).

Los panelistas evaluaron las muestras de yogur el séptimo día (para permitir la estabilización del yogur y cualquier fermentación residual a través del almacenamiento refrigerado) con base en cinco atributos: color, olor, sabor, textura y aceptabilidad general. Las siete muestras utilizadas fueron las siguientes: el yogur natural o control y seis yogures fortificados, tres con nanopartículas (Ca30N, FZ50N y Zn50N) y tres con micro minerales (Ca30M, FZ50M y Zn50M).

Por otro lado, con la finalidad de determinar el grado de aceptación sensorial de los quesos, también se realizó una evaluación sensorial de

cinco muestras de yogur con un panel de 25 individuos no entrenados. La evaluación sensorial se basó en la misma escala hedónica de nueve puntos, de 1 a 9 (Singh y Muthukumarappan, 2008; Dello-Staffolo et al., 2004). Los panelistas evaluaron las muestras de queso en el séptimo día para los mismos atributos, color, olor, sabor, textura y aceptabilidad general. Utilizando en este caso cinco formulaciones: el queso control y cuatro quesos fortificados, tres con nanopartículas (Ca30N, FZ50N y Zn50N) y uno con micro minerales (Zn50M).

### Diseño experimental

El yogur fortificado se hizo con tres minerales: calcio, hierro y zinc de dos fuentes diferentes: micro-minerales (convencional) y nanominerales (nanopartículas). Las cantidades adicionadas fueron 240 mg de Ca, 7.50 mg de Fe y 7.50 mg de Zn para microminerales, mientras que para los nanominerales se utilizaron 240 y 120 mg de Ca, 7.50 y 3.75 mg de Fe, y 7.50 y 3.75 mg de Zn en 100 mL de yogur (Tabla 1), además del yogur control. Todas las muestras de yogur control y fortificado se analizaron al día 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento. Las cantidades del mineral adicionado fueron calculadas en base a proporcionar una cantidad del IDR (Ingesta Diaria Recomendada) que se consideró adecuada (15-80%).

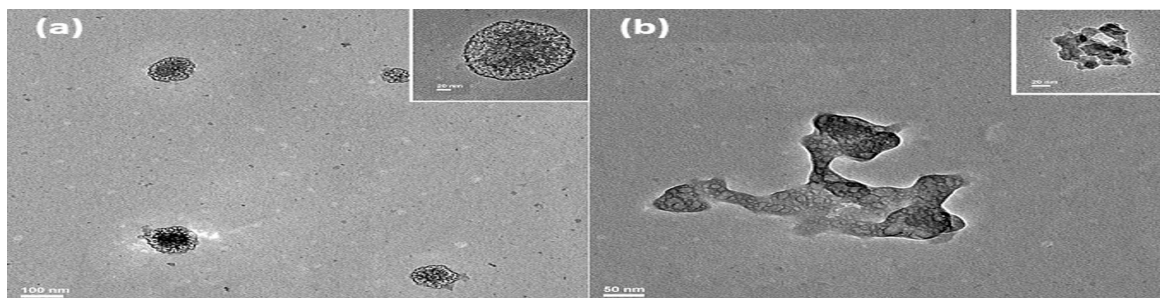
Las variables de respuesta identificadas como propiedades fisicoquímicas, reológicas y texturales se examinaron estadísticamente con el software Minitab (v.16, Minitab Inc., Pennsylvania, EU.). El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza

(ANOVA). La prueba de Tukey se aplicó para comparaciones múltiples de los valores medios. Análogamente, los quesos se elaboraron incorporando los tres minerales, de las mismas dos fuentes micro y nano minerales. Las cantidades añadidas fueron 7.50 mg de Zn para micro minerales, mientras que para los nano minerales se utilizaron 120 y 240 mg de Ca, 3.75 y 7.50 mg de Fe, y 3.75 y 7.50 mg de Zn en 100 g de queso (Tabla 1), además del queso control. Todas las muestras de queso se analizaron el día 1, 8, 15, 22 y 29. Las variables de respuesta identificadas como propiedades fisicoquímicas, texturales y sensoriales se examinaron estadísticamente con el software Minitab (v.16, Minitab Inc., Pennsylvania, EU.). El análisis estadístico se realizó mediante análisis de varianza (ANOVA). Y la prueba de Tukey se aplicó para comparaciones múltiples de los valores medios.

### Discusión

#### Caracterización de Nanopartículas

Las nanopartículas con el núcleo inorgánico de Ca, Fe o Zn tuvieron un tamaño medio en el rango de 50 a 80 nm y resultaron solubles en agua. La inulina se seleccionó como material de recubrimiento debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y bioactividad como un compuesto prebiótico bien conocido. Una imagen de las nanopartículas, obtenida por microscopía electrónica de transmisión (MET), se presenta en la Figura 1. La caracterización completa de las nanopartículas fue reportada previamente por Santillán-Urquiza et al. (2015).





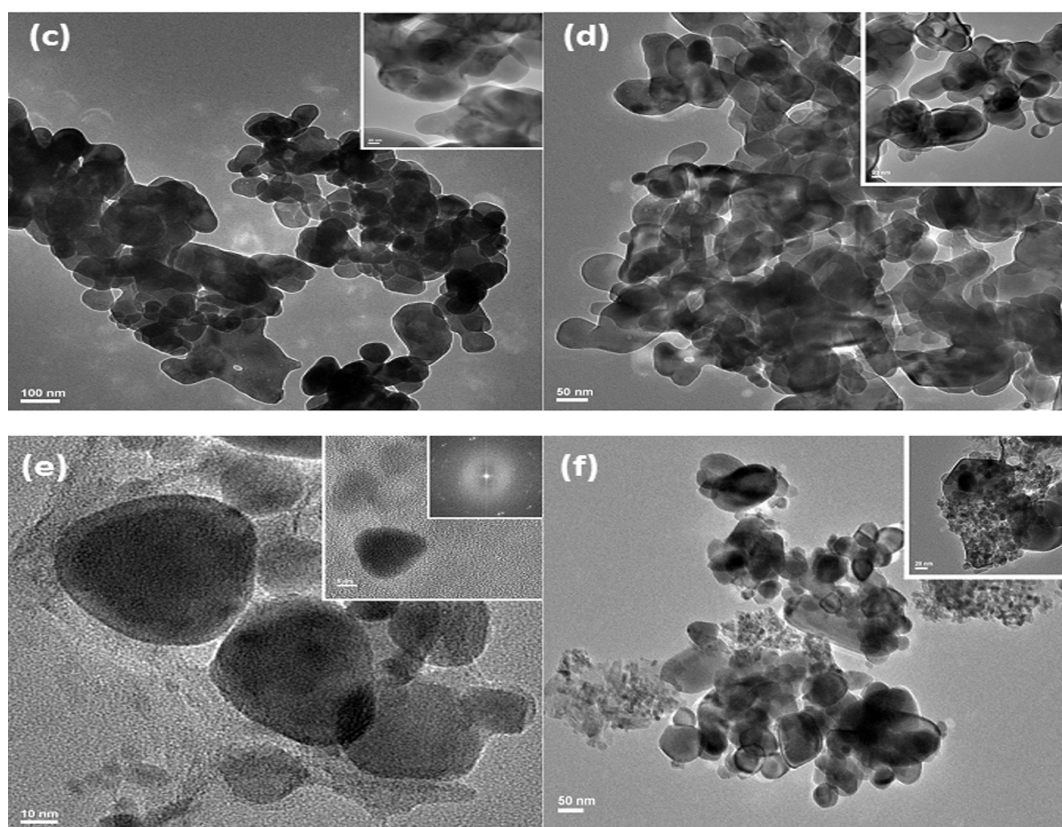


Figura 1: Micrografías obtenidas por MET: (a)  $\text{CaHPO}_4$ , (b)  $\text{CaHPO}_4$  recubiertas con inulina, (c)  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , (d)  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  recubiertas con inulina, (e)  $\text{ZnO}$ , (f)  $\text{ZnO}$  recubiertas con inulina. Elaboración propia

## Yogur Asentado

### Determinaciones fisicoquímicas en yogures fortificados pH y acidez

En los alimentos y particularmente en productos lácteos, la determinación de acidez es muy importante para expresar la influencia tanto de los componentes y sus reacciones bioquímicas, como de los cambios durante su procesamiento, además de que permite inferir sobre la calidad de los mismos. Los resultados de pH y acidez para yogur se incluyen en la Tabla 3, mismas que no mostraron diferencias significativas entre las formulaciones frescas tanto con nanopartículas como con micro-minerales y no se observaron diferencias con respecto al control. No se encontraron diferencias significativas porque los yogures fortificados tienen el mismo

comportamiento que el yogur control. Los valores de pH mostraron una tendencia significativa a disminuir ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento de todas las muestras. La disminución del pH durante el almacenamiento se debe a la producción de ácido láctico por las bacterias presentes en el yogur. El mismo comportamiento de disminución del pH durante el almacenamiento fue reportado por El-Kholy, Osman, Gouda y Ghareeb. (2011) en un yogur fortificado con hierro y leche de búfala durante diez días de almacenamiento. Los valores de acidez incrementaron significativamente a lo largo de 28 días de almacenamiento en todas las muestras (Tabla 3). Los valores obtenidos son consistentes, pero inferiores con los observados por Drago y Valencia, (2000) que reportaron valores de 0.80 a 1.80 g/100 mL de ácido láctico en productos lácteos fortificados con hierro y zinc.

**Tabla 3.** Propiedades fisicoquímicas de yogures fortificados (28 días de almacenamiento).

| Muestras                | Tiempo (días) | pH                        | Acidez (g/100mL)          | Sinéresis (g/100mL)        | Humedad (g/100g)           | Densidad (kg/m <sup>3</sup> ) |
|-------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------|
| <b>Control</b>          | 0             | 4.68 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 43.51 ± 0.01 <sup>cC</sup> | 84.02 ± 0.03 <sup>aA</sup> | 1046.14 ± 0.12 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.65 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 48.76 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.73 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 1043.25 ± 0.32 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.43 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 52.72 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 1043.83 ± 0.93 <sup>a</sup>   |
| <b>Ca<sub>30N</sub></b> | 0             | 4.65 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.87 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 42.10 ± 0.01 <sup>cC</sup> | 83.90 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 1045.32 ± 0.52 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.62 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.75 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.75 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1053.23 ± 0.83 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.41 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 51.54 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 83.90 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1046.89 ± 0.59 <sup>a</sup>   |
| <b>Ca<sub>15N</sub></b> | 0             | 4.65 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.87 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 42.33 ± 0.01 <sup>cC</sup> | 83.90 ± 0.02 <sup>aA</sup> | 1049.66 ± 0.18 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.60 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 0.87 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 50.80 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.59 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 1054.90 ± 0.74 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.33 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 53.54 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 1049.12 ± 0.80 <sup>a</sup>   |
| <b>FZ<sub>50N</sub></b> | 0             | 4.62 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 46.52 ± 0.01 <sup>cB</sup> | 83.50 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 1047.84 ± 0.32 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.63 ± 0.07 <sup>b</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 48.51 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.90 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1046.56 ± 0.76 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.30 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.90 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 53.45 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.04 <sup>a</sup>  | 1044.01 ± 0.08 <sup>a</sup>   |
| <b>FZ<sub>25N</sub></b> | 0             | 4.74 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.87 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 43.54 ± 0.01 <sup>cC</sup> | 83.81 ± 0.03 <sup>aA</sup> | 1048.81 ± 0.26 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.60 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.87 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 51.95 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.94 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1043.22 ± 0.61 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.44 ± 0.00 <sup>c</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 53.40 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1046.96 ± 0.98 <sup>a</sup>   |
| <b>FZ<sub>50M</sub></b> | 0             | 4.71 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 55.39 ± 0.01 <sup>cA</sup> | 83.71 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 1051.33 ± 0.92 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.54 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.86 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 52.45 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.94 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1047.41 ± 0.54 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.25 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.91 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 56.30 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1048.18 ± 0.09 <sup>a</sup>   |
| <b>Zn<sub>50N</sub></b> | 0             | 4.77 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 48.48 ± 0.01 <sup>cB</sup> | 83.67 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 1049.44 ± 0.70 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.53 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 0.86 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 46.84 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.87 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1050.44 ± 0.34 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.32 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1042.39 ± 0.78 <sup>a</sup>   |
| <b>Zn<sub>25N</sub></b> | 0             | 4.68 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 40.93 ± 0.01 <sup>cD</sup> | 83.76 ± 0.00 <sup>aA</sup> | 1046.32 ± 0.19 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.63 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 46.08 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.80 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 1043.41 ± 0.05 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.34 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.21 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 83.94 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1044.41 ± 0.47 <sup>a</sup>   |
| <b>Zn<sub>50M</sub></b> | 0             | 4.77 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 48.48 ± 0.01 <sup>cB</sup> | 83.67 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 1049.44 ± 0.70 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.53 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 0.86 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 46.84 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.87 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1050.44 ± 0.34 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.32 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.88 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 1042.39 ± 0.78 <sup>a</sup>   |
| <b>Zn<sub>25M</sub></b> | 0             | 4.68 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>bA</sup> | 40.93 ± 0.01 <sup>cD</sup> | 83.76 ± 0.00 <sup>aA</sup> | 1046.32 ± 0.19 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.63 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.88 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 46.08 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.80 ± 0.09 <sup>a</sup>  | 1043.41 ± 0.05 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.34 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.89 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.21 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 83.94 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1044.41 ± 0.47 <sup>a</sup>   |
| <b>Zn<sub>50M</sub></b> | 0             | 4.68 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.86 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 51.18 ± 0.01 <sup>cA</sup> | 83.62 ± 0.05 <sup>aA</sup> | 1045.24 ± 0.47 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 4.53 ± 0.03 <sup>b</sup>  | 0.86 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 54.15 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 83.81 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1043.22 ± 0.61 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 4.30 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 0.90 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 54.44 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 84.00 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 1047.41 ± 0.54 <sup>a</sup>   |

Media de tres replicas. Los valores con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Letras minúsculas = diferencias durante el almacenamiento, letras mayúsculas = diferencias entre muestras.

### **Sinéresis**

La sinéresis como separación de las fases en una suspensión es un fenómeno natural que ocurre en productos lácteos como yogur, es un atributo importante en la calidad del yogur y otros productos lácteos (Ocak y Köse, 2010). Los yogures fortificados con micro minerales (Ca30M, FZ50M y Zn50M) tuvieron los valores más altos de sinéresis con 46.5, 55.4 y 51.2 g/100 mL respectivamente, en comparación con los yogures fortificados con nanopartículas y el yogur control (Tabla 3). Las muestras fortificadas con nanopartículas fueron las más estables, lo que se puede atribuir al tamaño de las nanopartículas y a la presencia de inulina, que promueve la retención de agua. Está de acuerdo con los resultados obtenidos por Achanta, Aryana y Boeneke (2007), para yogur fortificado con hierro, zinc y magnesio.

Los valores de sinéresis mostraron diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) durante el almacenamiento, aumentando en todas las muestras. Estos resultados son comparables con los reportados por Díaz-Jiménez et al. (2004) quienes prepararon un yogur con fibra reportando valores de sinéresis de 45 a 65 g/100mL.

### **Humedad**

El contenido de humedad no mostró diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los yogures fortificados con micro-minerales, con nanopartículas y el control (Tabla 3). Como se esperaba, la humedad no cambió por la adición de minerales. Durante el almacenamiento, los valores de humedad oscilaron entre 83 y 84 g/100 g. Resultando valores similares a los reportados por Karam et al. (2013), en el intervalo de 80 a 85% para un yogur fortificado con diferentes proteínas de leche.

### **Densidad**

Similarmente y como se esperaba, dado que las formulaciones son semejantes, los valores de densidad no mostraron una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) y durante el

almacenamiento, tampoco hubo cambios para ninguna muestra (Tabla 2). Debido a que la densidad está relacionada con la humedad y con el contenido total de sólidos en las muestras; al no haber cambios en éstos, la densidad se conservó estable. Los resultados son comparables a los reportados por Donkor, Henriksson, Vasiljevic y Shah (2007) y Singh y Muthukumarappan (2008).

### **Color**

Los tres parámetros de color basados en la escala de Hunter para todas las muestras se incluyen en la Tabla 4. L, a y b, en las muestras frescas fortificadas con calcio y zinc y el control, no tuvieron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), debido a que los minerales añadidos son de color blanco. Pero las muestras fortificadas con hierro sí mostraron diferencia significativa en comparación con el control o con las muestras fortificadas con calcio y zinc. Esto se debe a que el óxido de hierro añadido es rojo, lo que produjo una disminución de la luminosidad (L), un aumento significativo del parámetro a, con tendencia al rojo, y una reducción del parámetro b\* que muestra una disminución del color amarillo de las muestras de yogur. Estos valores concuerdan con lo reportado por Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz (2013) para muestras con alta concentración de caramelo y de fibra en la formulación de yogur.

Durante el almacenamiento, se observó una disminución significativa en L y b, mientras que el parámetro a mostró un aumento significativo en todas las muestras (Tabla 4). La presencia de minerales favorece la oxidación de los lípidos del yogur durante el almacenamiento, disminuyendo así la luminosidad y provocando cambios en los otros dos parámetros. Estos valores son comparables a los reportados por Achanta et al. (2007) en yogures fortificados con varios minerales. El análisis del parámetro global  $\Delta E$ , a través del almacenamiento, mostró cambios significativos en todas las muestras, como resultado de las variaciones observadas en los tres parámetros de color.

**Tabla 4.** Parámetros de color de yogures fortificados a los 28 días de almacenamiento

| Muestras          | Tiempo (d) | L                          | a                          | b                           | $\Delta E$               |
|-------------------|------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| Control           | 0          | 89.71 ± 0.41 <sup>aA</sup> | -4.02 ± 0.02 <sup>cA</sup> | 12.08 ± 0.00 <sup>aA</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                   | 14         | 88.27 ± 0.09 <sup>b</sup>  | -2.19 ± 0.01 <sup>b</sup>  | -11.31 ± 0.05 <sup>b</sup>  | 2.28 ± 0.08 <sup>b</sup> |
|                   | 28         | 82.31 ± 0.01 <sup>c</sup>  | 1.57 ± 0.04 <sup>a</sup>   | 9.76 ± 0.04 <sup>c</sup>    | 4.17 ± 0.03 <sup>a</sup> |
| Ca <sub>30N</sub> | 0          | 90.12 ± 0.18 <sup>aA</sup> | -4.12 ± 0.02 <sup>cA</sup> | -11.68 ± 0.12 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>b</sup> |
|                   | 14         | 88.12 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 2.21 ± 0.01 <sup>b</sup>   | -10.95 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 2.01 ± 0.41 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 83.56 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 1.58 ± 0.13 <sup>a</sup>   | 9.60 ± 0.01 <sup>c</sup>    | 2.06 ± 0.76 <sup>a</sup> |
| Ca <sub>15N</sub> | 0          | 89.76 ± 0.25 <sup>aA</sup> | -4.17 ± 0.02 <sup>cA</sup> | 11.80 ± 0.04 <sup>aA</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>b</sup> |
|                   | 14         | 87.69 ± 0.40 <sup>b</sup>  | -2.17 ± 0.02 <sup>b</sup>  | 10.84 ± 0.05 <sup>b</sup>   | 2.14 ± 0.09 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 82.77 ± 0.44 <sup>c</sup>  | -1.87 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.47 ± 0.03 <sup>c</sup>    | 3.38 ± 0.17 <sup>a</sup> |
| Ca <sub>30M</sub> | 0          | 89.93 ± 0.11 <sup>aA</sup> | -4.15 ± 0.04 <sup>cA</sup> | 11.74 ± 0.02 <sup>aA</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                   | 14         | 86.23 ± 0.05 <sup>b</sup>  | -1.97 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 10.50 ± 0.01 <sup>b</sup>   | 3.46 ± 0.23 <sup>b</sup> |
|                   | 28         | 83.11 ± 0.14 <sup>c</sup>  | -1.72 ± 0.06 <sup>a</sup>  | 9.78 ± 0.01 <sup>c</sup>    | 3.38 ± 0.22 <sup>a</sup> |
| FZ <sub>50N</sub> | 0          | 86.69 ± 0.28 <sup>aB</sup> | 0.78 ± 0.09 <sup>cB</sup>  | 10.58 ± 0.02 <sup>aB</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>b</sup> |
|                   | 14         | 84.44 ± 0.10 <sup>b</sup>  | 0.31 ± 0.04 <sup>b</sup>   | 8.38 ± 0.04 <sup>b</sup>    | 2.93 ± 0.00 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 78.96 ± 0.60 <sup>c</sup>  | 3.34 ± 0.04 <sup>a</sup>   | 7.41 ± 0.23 <sup>c</sup>    | 5.51 ± 0.00 <sup>a</sup> |
| FZ <sub>25N</sub> | 0          | 85.91 ± 0.07 <sup>aB</sup> | -0.04 ± 0.01 <sup>cB</sup> | 10.87 ± 0.09 <sup>aB</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                   | 14         | 83.34 ± 0.10 <sup>b</sup>  | 1.86 ± 0.02 <sup>b</sup>   | 9.11 ± 0.01 <sup>b</sup>    | 2.93 ± 0.23 <sup>b</sup> |
|                   | 28         | 78.40 ± 0.26 <sup>c</sup>  | 2.12 ± 0.14 <sup>a</sup>   | 8.36 ± 0.10 <sup>c</sup>    | 5.51 ± 0.16 <sup>a</sup> |
| FZ <sub>50M</sub> | 0          | 86.03 ± 0.12 <sup>aB</sup> | -0.01 ± 0.01 <sup>bB</sup> | 10.71 ± 0.02 <sup>aB</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                   | 14         | 83.49 ± 0.25 <sup>b</sup>  | 0.50 ± 0.08 <sup>ab</sup>  | 9.48 ± 0.08 <sup>b</sup>    | 4.29 ± 0.23 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 81.05 ± 0.11 <sup>c</sup>  | 1.16 ± 0.05 <sup>a</sup>   | 8.83 ± 0.05 <sup>c</sup>    | 2.90 ± 0.20 <sup>b</sup> |
| Zn <sub>50N</sub> | 0          | 89.79 ± 0.34 <sup>aA</sup> | -4.18 ± 0.00 <sup>bA</sup> | -11.76 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>b</sup> |
|                   | 14         | 86.16 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 1.99 ± 0.10 <sup>a</sup>   | 10.08 ± 0.04 <sup>b</sup>   | 3.99 ± 0.20 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 82.11 ± 0.19 <sup>c</sup>  | -1.82 ± 0.06 <sup>a</sup>  | 9.67 ± 0.00 <sup>c</sup>    | 4.40 ± 0.07 <sup>a</sup> |
| Zn <sub>25N</sub> | 0          | 89.57 ± 0.13 <sup>aA</sup> | -4.17 ± 0.00 <sup>cA</sup> | 11.80 ± 0.03 <sup>aA</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>b</sup> |
|                   | 14         | 86.41 ± 0.06 <sup>b</sup>  | -1.79 ± 0.04 <sup>b</sup>  | 10.27 ± 0.02 <sup>b</sup>   | 4.27 ± 0.01 <sup>a</sup> |
|                   | 28         | 83.48 ± 0.07 <sup>c</sup>  | -1.87 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 9.59 ± 0.03 <sup>c</sup>    | 3.17 ± 0.13 <sup>a</sup> |
| Zn <sub>50M</sub> | 0          | 90.44 ± 0.48 <sup>aA</sup> | -4.10 ± 0.02 <sup>cA</sup> | 11.83 ± 0.06 <sup>aA</sup>  | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                   | 14         | 88.03 ± 0.14 <sup>b</sup>  | -2.12 ± 0.01 <sup>b</sup>  | 10.01 ± 0.02 <sup>b</sup>   | 2.60 ± 0.08 <sup>b</sup> |
|                   | 28         | 81.43 ± 0.12 <sup>c</sup>  | -1.67 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 8.93 ± 0.04 <sup>c</sup>    | 4.56 ± 0.10 <sup>a</sup> |

Media de tres replicas. Los valores con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).  $\Delta E$

= cambios durante el almacenamiento. Letras minúsculas para diferencias durante el almacenamiento. Letras mayúsculas para diferencias entre muestras.

### Propiedades reológicas

La naturaleza del flujo de los sistemas de yogur puede apreciarse en su respuesta a la deformación o reograma (Figura 2). Los cuales muestran un comportamiento de flujo característico, indicando que la viscosidad no

es constante. Todas las muestras, incluyendo el control, muestran una naturaleza plástica porque los esfuerzos cortantes no parten del origen. Ramírez-Sucre y Vélez-Ruiz (2013) y Damin, Alcántara, Nunes y Oliveira (2009), también reportan este comportamiento

no-newtoniano en yogur adicionado con diferentes ingredientes. De acuerdo con los valores RMSE, el modelo que mejor se ajustó fue el modelo de Herschel y Bulkley, mostrando

los valores más bajos de error ( $< 0.4$ ) en comparación con el modelo de Ley de Potencia ( $> 1.0$ ).

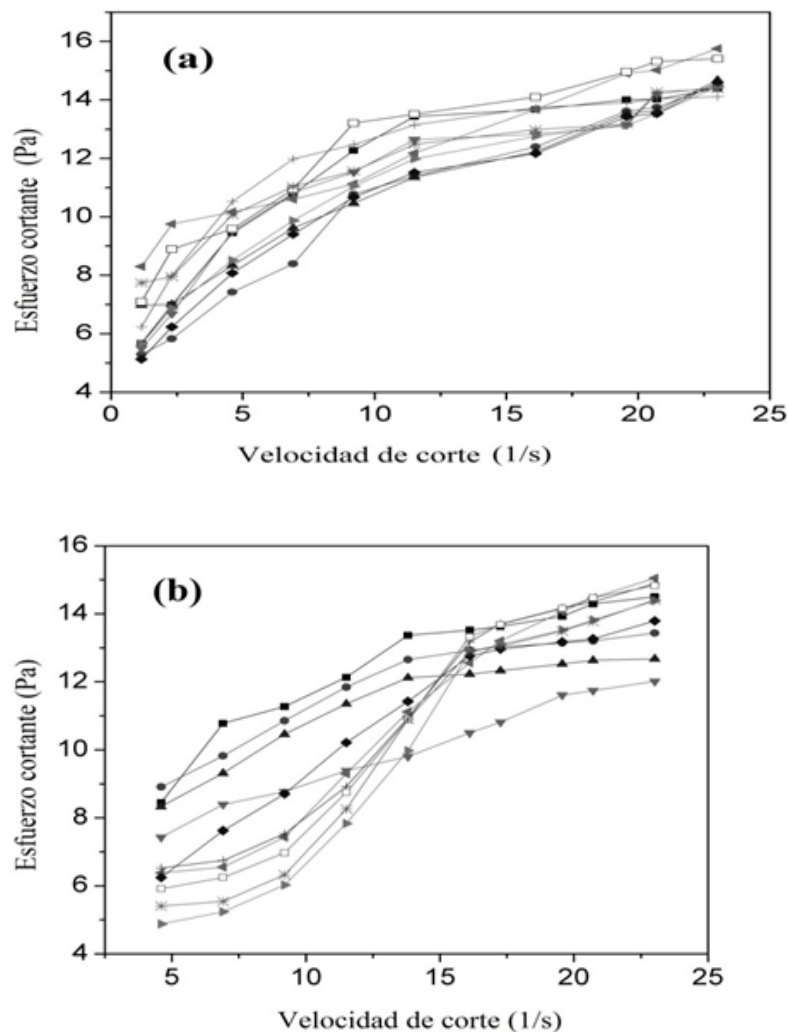


Figura 2. Reogramas de yogur fortificado: FZ50N (●), FZ25N (▲), FZ50M (▼), Ca15N (◄), Ca15N (►), Ca30M (◆), Zn50N (□), Zn25N (+), Zn50M (\*) y control (■), (a) Día 0 (a) y (b) Día 28. Elaboración propia.

Los resultados del índice de flujo fueron de 0.20 a 0.30 para el modelo de Ley de Potencia y de 0.22 a 0.33 para el modelo de Herschel-Bulkley, no mostraron diferencias significativas para ninguna de las muestras fortificadas con microminerales y nanopartículas, con respecto al control (Tabla 5). Todos los sistemas mostraron un comportamiento de reducción de corte, con índices de flujo inferiores a uno. Estos valores de  $n$  fueron comparables con los reportados por

Aportela-Palacios, Sosa-Morale, y Vélez-Ruiz, (2005) en los cuales  $n$  varió de 0.35 a 0.45 para el yogur fortificado con calcio.

Los valores del coeficiente de consistencia obtenidos con el modelo de Herschel-Bulkley al día 0 oscilaron entre 5.0 y 7.6 Pa sn; las muestras fortificadas con nanopartículas Ca30N y Zn50N mostraron una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) y tuvieron los valores más altos de KHB en comparación con las otras concentraciones y

con el control (Tabla 6). Esto indica una mayor interacción, misma que puede estar asociada con el tamaño de las nanopartículas. Puede considerarse que el calcio Ca30N favorece la interacción de nanopartículas de fosfato de calcio con la caseína y la presencia de inulina promueve el aumento de la consistencia del yogur (Sfakianakis y Tzia, 2014; Heaney et al., 2005). En el caso del yogur fortificado con

zinc, el aumento significativo de la consistencia puede estar asociado con la interacción del zinc mediante la unión a micelas de caseína y más específicamente al fosfato de calcio coloidal; lo que mejora la consistencia del yogur en presencia de zinc (Drago y Valencia, 2002). Estas interacciones no ocurren en presencia de hierro, ya que no mostró una influencia significativa (Tabla 5).

**Tabla 5.** Propiedades de flujo de yogures fortificados (28 días de almacenamiento).

| Muestras                | Tiempo (días) | $n_{LP}$                  | $K_{LP}$ (Pa·s <sup>n</sup> ) | $n_{HB}$                  | $K_{HB}$ (Pa·s <sup>n</sup> ) | $\tau_0$ (Pa)             |
|-------------------------|---------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|-------------------------------|---------------------------|
| <b>Control</b>          | 0             | 0.34 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.53 ± 0.03 <sup>aB</sup>     | 0.36 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.39 ± 0.03 <sup>aB</sup>     | 0.47 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.34 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 5.15 ± 0.09 <sup>b</sup>      | 0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.76 ± 0.09 <sup>b</sup>      | 0.42 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.05 ± 0.02 <sup>c</sup>      | 0.32 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.76 ± 0.02 <sup>c</sup>      | 0.30 ± 0.03 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>30</sub>N</b> | 0             | 0.21 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 8.19 ± 0.01 <sup>aA</sup>     | 0.22 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 7.55 ± 0.01 <sup>aA</sup>     | 0.57 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.27 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 5.94 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.29 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 6.21 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.61 ± 0.03 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.62 ± 0.08 <sup>c</sup>      | 0.30 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.31 ± 0.08 <sup>c</sup>      | 0.38 ± 0.09 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>15</sub>N</b> | 0             | 0.30 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.97 ± 0.02 <sup>aB</sup>     | 0.32 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.53 ± 0.02 <sup>aB</sup>     | 0.47 ± 0.08 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.34 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 4.00 ± 0.07 <sup>b</sup>      | 0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.73 ± 0.07 <sup>b</sup>      | 0.31 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.49 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.78 ± 0.04 <sup>c</sup>      | 0.37 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.55 ± 0.04 <sup>c</sup>      | 0.26 ± 0.00 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>30</sub>M</b> | 0             | 0.31 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.51 ± 0.01 <sup>aB</sup>     | 0.33 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.16 ± 0.01 <sup>aB</sup>     | 0.43 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.35 ± 0.05 <sup>a</sup>  | 4.00 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.71 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.32 ± 0.05 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.39 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 3.45 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.29 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.24 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.35 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>50</sub>N</b> | 0             | 0.27 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.41 ± 0.02 <sup>aB</sup>     | 0.28 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.01 ± 0.02 <sup>aB</sup>     | 0.42 ± 0.09 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.29 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 5.73 ± 0.01 <sup>a</sup>      | 0.30 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 5.32 ± 0.01 <sup>ab</sup>     | 0.35 ± 0.06 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.39 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.55 ± 0.04 <sup>b</sup>      | 0.29 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.44 ± 0.04 <sup>b</sup>      | 0.29 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>25</sub>N</b> | 0             | 0.24 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.15 ± 0.03 <sup>aB</sup>     | 0.25 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.19 ± 0.03 <sup>aB</sup>     | 0.35 ± 0.06 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.35 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 3.72 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.37 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.47 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.28 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.41 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 2.88 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.38 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.73 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.17 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>50</sub>M</b> | 0             | 0.30 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.06 ± 0.01 <sup>aB</sup>     | 0.32 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 5.58 ± 0.01 <sup>aB</sup>     | 0.50 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.32 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 4.42 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.34 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.11 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.33 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.34 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.83 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 2.68 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.19 ± 0.09 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>N</b> | 0             | 0.26 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 7.37 ± 0.01 <sup>aA</sup>     | 0.28 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.80 ± 0.01 <sup>aA</sup>     | 0.60 ± 0.07 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.32 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 4.89 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.33 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.93 ± 0.01 <sup>b</sup>      | 0.39 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.34 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.80 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.58 ± 0.01 <sup>c</sup>      | 0.40 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>25</sub>N</b> | 0             | 0.26 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.31 ± 0.00 <sup>aB</sup>     | 0.28 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.47 ± 0.00 <sup>aB</sup>     | 0.31 ± 0.09 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.33 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 4.18 ± 0.09 <sup>b</sup>      | 0.34 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.49 ± 0.09 <sup>b</sup>      | 0.32 ± 0.05 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.36 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.27 ± 0.08 <sup>b</sup>      | 0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.00 ± 0.08 <sup>c</sup>      | 0.35 ± 0.07 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>M</b> | 0             | 0.20 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.79 ± 0.05 <sup>aB</sup>     | 0.22 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 6.15 ± 0.05 <sup>aB</sup>     | 0.57 ± 0.07 <sup>aA</sup> |
|                         | 14            | 0.31 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 4.45 ± 0.08 <sup>b</sup>      | 0.32 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 4.13 ± 0.08 <sup>b</sup>      | 0.34 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 28            | 0.37 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.39 ± 0.08 <sup>c</sup>      | 0.29 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 3.21 ± 0.08 <sup>c</sup>      | 0.30 ± 0.04 <sup>a</sup>  |

Media de tres replicas. Los valores con letras diferentes denotan diferencias significativas (P<0.05).  $\tau_0$  = esfuerzo de cedencia, n = índice de flujo, K = coeficiente de consistencia, PL = modelo de Ley de potencia, HB = modelo de Herschel-Bulkley. Letras minúsculas = diferencias durante el almacenamiento, letras mayúsculas = diferencias entre muestras.

Este coeficiente de consistencia tuvo una disminución significativa en todas las muestras durante el almacenamiento. Esta reducción de la consistencia del yogur se debe principalmente a cambios estructurales en el gel, de acuerdo con la pérdida de firmeza o rigidez de la matriz proteica (Lee y Lucey, 2010). Esta tendencia de KHB a través de almacenamiento también fue reportada por Diaz-Jimenez et al. (2004) y Basak y Ramaswamy (1994) para un yogur bajo en grasa con fibra añadida y enriquecido con pectina y concentrados de frutas, respectivamente.

Los resultados del índice de flujo y el esfuerzo de cedencia, durante el período de almacenamiento, no mostraron diferencias significativas para todas las muestras. Esto sugiere que ambos parámetros de flujo, no se ven afectados por la adición de minerales ni por la presencia de inulina en las formulaciones analizadas. Los resultados son comparables a los reportados por Peng, Serra, Horne y Lucet (2009).

### **Análisis de textura**

Las propiedades físicas de los productos lácteos coagulados se ven afectadas por sus componentes estructurales. Según Walia et al. (2009), la disposición de la red estructural determina tanto las características reológicas como las texturales de yogur y queso, y está influenciada por factores como la composición y los procesos de fabricación.

Los resultados de la firmeza y cohesividad se resumen en la Tabla 6; en la cual la firmeza se determinó como la fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada, que es un parámetro comúnmente evaluado para expresar la textura del yogur. La firmeza del yogur aumenta en aquellas muestras con mayor concentración de minerales y principalmente en yogures fortificados con nanopartículas, reflejando una estructura de gel más fuerte. Los valores más altos de firmeza con 0.93 y 0.72 N, correspondieron a las muestras con Ca30N y Zn50N, respectivamente; resultados que pueden

atribuirse a la interacción de estos minerales con la matriz proteica del yogur, haciéndose más fuertes que las otras formulaciones y el yogur control. Los valores obtenidos en este estudio son comparables a los resultados de firmeza de 0.65 a 0.97 N para yogur fortificado con calcio, reportados por Damin et al. (2009).

En un producto semi-sólido como el yogur, la cohesividad representa la resistencia del producto a una segunda deformación con respecto a su respuesta en la primera deformación. El valor de cohesividad fue mayor en casi todas las muestras fortificadas con calcio, el valor más alto fue para la muestra Ca30N con - 0.65, lo que se puede atribuir a la adición de nanopartículas en mayor concentración. Ambos parámetros texturales del yogur fortificado se determinaron durante el almacenamiento (Tabla 6). Se observó una disminución significativa en los parámetros de firmeza y cohesividad para todas las muestras, relacionados con cambios en consistencia durante el almacenamiento.

### **Solubilidad y evaluación sensorial**

Los resultados de solubilidad a través de la prueba de digestibilidad mostraron que las nanopartículas de calcio, hierro y zinc fueron más solubles que los microminerales.

Por otro lado, los resultados de las pruebas sensoriales indican que las muestras fortificadas con nanopartículas mostraron diferencia significativa, en comparación con los yogures fortificados con micro-minerales en todos los atributos evaluados. Y de acuerdo a lo observado en la evaluación, se puede concluir que los niveles de calcio y zinc pueden ser incorporados en las muestras de yogur sin causar cambios significativos en la aceptación del consumidor. Singh y Muthukumarappan (2008) observaron resultados similares en su estudio de yogur fortificado con calcio.

**Tabla 6.** Propiedades de textura en yogures fortificados (28 días de almacenamiento).

| Muestras                | Tiempo (días) | Firmeza (N)               | Cohesividad (adimensional)  |
|-------------------------|---------------|---------------------------|-----------------------------|
| <b>Control</b>          | 0             | 0.60 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.42 ± 0.01 <sup>aC</sup>  |
|                         | 14            | 0.56 ± 0.03 <sup>b</sup>  | -0.41 ± 0.01 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 0.55 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.39 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
| <b>Ca<sub>30N</sub></b> | 0             | 0.93 ± 0.01 <sup>aA</sup> | -0.65 ± 0.01 <sup>aA</sup>  |
|                         | 14            | 0.86 ± 0.02 <sup>b</sup>  | -0.55 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.81 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.44 ± 0.01 <sup>c</sup>   |
| <b>Ca<sub>15N</sub></b> | 0             | 0.63 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.57 ± 0.01 <sup>aB</sup>  |
|                         | 14            | 0.60 ± 0.02 <sup>b</sup>  | -0.54 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.58 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.53 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
| <b>Ca<sub>30M</sub></b> | 0             | 0.60 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.46 ± 0.01 <sup>aC</sup>  |
|                         | 14            | 0.58 ± 0.05 <sup>b</sup>  | -0.43 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.55 ± 0.00 <sup>c</sup>  | -0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>   |
| <b>FZ<sub>50N</sub></b> | 0             | 0.60 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.43 ± 0.01 <sup>aC</sup>  |
|                         | 14            | 0.58 ± 0.07 <sup>b</sup>  | -0.41 ± 0.01 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 0.56 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.39 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
| <b>FZ<sub>25N</sub></b> | 0             | 0.62 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.43 ± 0.01 <sup>aC</sup>  |
|                         | 14            | 0.60 ± 0.03 <sup>b</sup>  | -0.40 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.58 ± 0.00 <sup>c</sup>  | -0.32 ± 0.01 <sup>c</sup>   |
| <b>FZ<sub>50M</sub></b> | 0             | 0.60 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.39 ± 0.01 <sup>aD</sup>  |
|                         | 14            | 0.59 ± 0.03 <sup>b</sup>  | -0.37 ± 0.01 <sup>a</sup>   |
|                         | 28            | 0.55 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.33 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
| <b>Zn<sub>50N</sub></b> | 0             | 0.72 ± 0.01 <sup>aB</sup> | -0.53 ± 0.01 <sup>aB</sup>  |
|                         | 14            | 0.69 ± 0.02 <sup>b</sup>  | -0.45 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.68 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.38 ± 0.01 <sup>c</sup>   |
| <b>Zn<sub>25N</sub></b> | 0             | 0.66 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.47 ± 0.01 <sup>aC</sup>  |
|                         | 14            | 0.63 ± 0.03 <sup>b</sup>  | -0.43 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.61 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>   |
| <b>Zn<sub>50M</sub></b> | 0             | 0.63 ± 0.01 <sup>aC</sup> | -0.48 ± 0.01 <sup>aBC</sup> |
|                         | 14            | 0.61 ± 0.03 <sup>b</sup>  | -0.45 ± 0.01 <sup>b</sup>   |
|                         | 28            | 0.58 ± 0.01 <sup>c</sup>  | -0.44 ± 0.01 <sup>b</sup>   |

Media de tres replicas. Los valores con letras diferentes denotan diferencias significativas (P<0.05). Letras minúsculas para diferencias durante el almacenamiento. Letras mayúsculas para diferencias entre muestras.

## Queso Panela

### Determinaciones fisicoquímicas en quesos fortificados pH y acidez

Aunque la evolución del pH y de la acidez en el queso son importantes, no lo son tanto como en el yogur donde su cambio está directamente relacionado a las bacterias ácido lácticas. Los resultados de las determinaciones de pH y acidez del queso se presentan en la Tabla 7. No se observaron diferencias significativas entre las formulaciones de queso con nanopartículas y con microminerales, ni con respecto al control. Debido a la escasa cantidad de lactosa contenida

en el queso y a su limitada participación en reacciones, hay estabilidad en el pH y la acidez de este producto lácteo (Ginee et al., 2002; Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012).

Durante el almacenamiento tampoco se observaron cambios significativos (P < 0.05) para los valores de pH en ninguna de las muestras, con valores de 5.8 de las muestras al día 1, a 6.0 a los 29 días de almacenamiento (Tabla 7). Los valores obtenidos en nuestro estudio concuerdan con Escobar et al. (2012), que reportaron valores de pH en el rango de 5.6-6.4 para queso Panela adicionado con microorganismos probióticos. Por otro lado, los valores de acidez no mostraron cambio significativo durante el almacenamiento



de 29 días en ninguna de las muestras fortificadas con nano y micro minerales y el queso control, la acidez fue prácticamente constante (0.61 g/100g). Este valor de acidez es comparable al reportado por Torres-Vitela et al. (2012) con 0.612 % de ácido láctico, también en queso Panela.

**Tabla 7.** Propiedades fisicoquímicas de quesos fortificados (29 días de almacenamiento)\*.

| Muestras                | Tiempo (días) | pH                        | Acidez (g/100g)           | Sinéresis (g/100g)         | Humedad (g/100g)           |
|-------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>Control</b>          | 1             | 5.93 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 13.70 ± 0.09 <sup>aA</sup> | 56.43 ± 0.03 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.93 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 13.70 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 56.40 ± 0.09 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.93 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 13.70 ± 0.08 <sup>a</sup>  | 56.39 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>30</sub>N</b> | 1             | 5.87 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.07 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 54.78 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.87 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.08 ± 0.05 <sup>a</sup>   | 54.76 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.87 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.07 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 54.48 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>15</sub>N</b> | 1             | 5.90 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.13 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.76 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.90 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.05 <sup>a</sup>   | 55.78 ± 0.07 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.90 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.70 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>30</sub>M</b> | 1             | 5.83 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.23 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 54.90 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.83 ± 0.05 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.23 ± 0.08 <sup>a</sup>   | 54.84 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.83 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.23 ± 0.03 <sup>a</sup>   | 54.80 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>50</sub>N</b> | 1             | 5.87 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.07 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.41 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.87 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.07 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.23 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.87 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.07 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 53.14 ± 0.04 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>25</sub>N</b> | 1             | 5.90 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.23 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.27 ± 0.03 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.90 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.23 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.17 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.90 ± 0.00 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.23 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 54.77 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>50</sub>M</b> | 1             | 5.80 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.33 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.19 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.80 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.33 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.20 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.80 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.33 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.16 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>N</b> | 1             | 5.93 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.13 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.46 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.93 ± 0.02 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.40 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.93 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.20 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>25</sub>N</b> | 1             | 5.93 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.17 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.28 ± 0.00 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.93 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.17 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.18 ± 0.09 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.93 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.17 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 54.98 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>M</b> | 1             | 5.97 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 0.61 ± 0.01 <sup>aA</sup> | 9.13 ± 0.01 <sup>aB</sup>  | 55.49 ± 0.05 <sup>aA</sup> |
|                         | 15            | 5.97 ± 0.03 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.44 ± 0.08 <sup>a</sup>  |
|                         | 29            | 5.97 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 0.61 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 9.13 ± 0.01 <sup>a</sup>   | 55.36 ± 0.08 <sup>a</sup>  |

\* Media de tres replicas. Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Letras minúsculas para diferencias durante el almacenamiento. Letras mayúsculas para diferencias entre muestras.

### Suero extraíble

Los quesos fortificados con nano y microminerales de hierro, calcio y zinc mostraron los valores más bajos de sinéresis con un rango de 9.1 a 9.3 g/100 g, y mostraron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en comparación con el queso control, que tuvo el valor más alto de sinéresis 13.70 g/100 g (Tabla 2). En general las muestras fortificadas con minerales fueron estables y tuvieron mejor retención de humedad; esto se puede atribuir al incremento de sólidos totales, interacción de los minerales con el agua y en el caso particular de las muestras fortificadas con Ca, que interactúa fisicoquímicamente con la estructura proteica, se promueve la retención de agua. Esta propiedad no mostró cambios significativos en las muestras durante el almacenamiento. Este efecto puede relacionarse al pH y la acidez, que al mantenerse constantes contribuyen a la estabilidad de las caseínas y la retención de agua (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012). Estos resultados son comparables con los reportados por Jiménez-Guzmán et al. (2009) quienes prepararon un queso Panela, reportando valores de suero extraíble de  $8.0 \pm 4.0\%$ .

### Humedad

La determinación de humedad no mostró diferencia significativa entre los quesos fortificados con micro-minerales, nanopartículas y el control (Tabla 7). La humedad no fue afectada por la adición de minerales. Durante el almacenamiento, los valores de humedad oscilaron entre 53 y 56 g/100 g y todas las muestras de queso, tampoco mostraron diferencias significativas. Guerra-Martínez, Montejamo y Martín-del-Campo (2012), obtuvieron 51-52 % de humedad, también en queso Panela. Por otro lado, Ramírez-López y Vélez-Ruiz. (2012) reportaron valores de humedad de 53 a 58 % para este tipo de queso.

### Parámetros de color

Los parámetros de color basados en la escala de Hunter para todos los quesos se incluyen

en la Tabla 8. No se observaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) para aquellos quesos fortificados con micro y nanominerales de Ca, Zn y control en los tres parámetros (L, a y b), debido a que los minerales añadidos son de color blanco. Por otro lado, las muestras fortificadas con FeM si mostraron diferencia significativa en comparación con el control y con las otras muestras fortificadas (nano y micro). Esto es debido a que el óxido de hierro añadido en la formulación es de color rojo. Lo que produjo una disminución de la luminosidad, un aumento del parámetro a, que indica la presencia del color rojo. Y un incremento del parámetro b, que muestra una tendencia al color amarillo de las muestras de queso.

Durante el almacenamiento, se observó una disminución significativa ( $P < 0.05$ ) en los parámetros L y b, mientras que el parámetro a mostró un aumento significativo en todas las muestras (Tabla 8). La presencia de minerales en el almacenamiento favorece la oxidación de los lípidos, disminuyendo así la luminosidad y provocando cambios en los parámetros a y b. Esta evolución de los tres parámetros de color, también lo reportan Wadhvani y McMahon (2012) en quesos Cheddar comerciales.

El análisis del cambio neto ( $\Delta E$ ) durante el almacenamiento, mostró cambios significativos ( $P < 0.05$ ) en todas las muestras, como resultado de las variaciones observadas en los tres parámetros de color. A partir de los 15 días de almacenamiento, se observó el cambio significativo para las muestras de queso fortificadas y el control.

Esto se puede interpretar como el tiempo necesario para que un producto lácteo con características como el que fue elaborado presente los cambios más notables generados por reacciones de oxidación de las grasas y otros cambios bioquímicos (Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012).

**Tabla 8.** Parámetros de color de quesos fortificados y el control (29 días de almacenamiento).

| Muestras                | Tiempo (d) | L                          | a                          | b                         | $\Delta E$               |
|-------------------------|------------|----------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <b>Control</b>          | 1          | 93.49 ± 0.21 <sup>aA</sup> | -2.61 ± 0.02 <sup>cD</sup> | 8.76 ± 0.04 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                         | 15         | 93.44 ± 0.13 <sup>b</sup>  | -2.31 ± 0.23 <sup>b</sup>  | 11.38 ± 0.05 <sup>b</sup> | 6.12 ± 0.57 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 92.45 ± 0.23 <sup>c</sup>  | 2.29 ± 0.15 <sup>a</sup>   | 14.47 ± 0.04 <sup>c</sup> | 7.04 ± 0.20 <sup>b</sup> |
| <b>Ca<sub>30</sub>N</b> | 1          | 93.15 ± 0.09 <sup>aA</sup> | -2.56 ± 0.02 <sup>cD</sup> | 8.65 ± 0.04 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                         | 15         | 93.37 ± 0.11 <sup>a</sup>  | 2.26 ± 0.22 <sup>b</sup>   | 11.38 ± 0.51 <sup>b</sup> | 2.45 ± 0.10 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 93.42 ± 0.13 <sup>b</sup>  | 2.00 ± 0.17 <sup>a</sup>   | 12.70 ± 0.07 <sup>c</sup> | 0.57 ± 0.05 <sup>b</sup> |
| <b>Ca<sub>15</sub>N</b> | 1          | 94.14 ± 0.50 <sup>aA</sup> | -2.66 ± 0.03 <sup>cD</sup> | 8.54 ± 0.19 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                         | 15         | 93.46 ± 0.72 <sup>b</sup>  | -2.15 ± 0.39 <sup>b</sup>  | 11.66 ± 0.25 <sup>b</sup> | 3.98 ± 0.33 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 93.05 ± 0.12 <sup>c</sup>  | -1.80 ± 0.12 <sup>a</sup>  | 13.26 ± 0.40 <sup>c</sup> | 1.89 ± 0.07 <sup>b</sup> |
| <b>Ca<sub>30</sub>M</b> | 1          | 93.76 ± 0.87 <sup>aA</sup> | -2.61 ± 0.00 <sup>cD</sup> | 8.47 ± 0.02 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
|                         | 15         | 93.16 ± 0.87 <sup>b</sup>  | -2.49 ± 0.09 <sup>b</sup>  | 12.21 ± 0.41 <sup>b</sup> | 4.85 ± 0.84 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 92.20 ± 0.46 <sup>c</sup>  | -2.35 ± 0.19 <sup>a</sup>  | 14.45 ± 0.33 <sup>c</sup> | 1.86 ± 0.07 <sup>b</sup> |
| <b>FZ<sub>50</sub>N</b> | 15         | 79.72 ± 0.74 <sup>b</sup>  | 13.10 ± 0.86 <sup>b</sup>  | 13.84 ± 0.04 <sup>b</sup> | 5.14 ± 0.10 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 78.98 ± 0.33 <sup>c</sup>  | 13.90 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 15.26 ± 0.23 <sup>c</sup> | 2.09 ± 0.31 <sup>b</sup> |
|                         | 1          | 81.22 ± 0.18 <sup>aC</sup> | 10.99 ± 0.04 <sup>cB</sup> | 9.30 ± 0.04 <sup>aB</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
| <b>FZ<sub>25</sub>N</b> | 15         | 81.00 ± 0.32 <sup>b</sup>  | 11.56 ± 0.42 <sup>b</sup>  | 11.58 ± 0.08 <sup>b</sup> | 4.66 ± 0.16 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 79.94 ± 0.18 <sup>c</sup>  | 12.10 ± 0.34 <sup>a</sup>  | 13.18 ± 0.06 <sup>c</sup> | 4.32 ± 0.16 <sup>b</sup> |
|                         | 1          | 88.65 ± 0.14 <sup>aB</sup> | 3.12 ± 0.15 <sup>bC</sup>  | 6.27 ± 0.08 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
| <b>FZ<sub>50</sub>M</b> | 15         | 87.36 ± 0.82 <sup>b</sup>  | 3.53 ± 0.14 <sup>ab</sup>  | 8.57 ± 0.08 <sup>b</sup>  | 4.29 ± 0.45 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 86.74 ± 0.71 <sup>c</sup>  | 3.66 ± 0.18 <sup>a</sup>   | 10.78 ± 0.25 <sup>c</sup> | 4.15 ± 0.33 <sup>b</sup> |
|                         | 1          | 94.55 ± 0.15 <sup>aA</sup> | -2.61 ± 0.02 <sup>bD</sup> | 8.10 ± 0.11 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
| <b>Zn<sub>50</sub>N</b> | 15         | 93.14 ± 0.17 <sup>b</sup>  | 2.51 ± 0.20 <sup>a</sup>   | 12.27 ± 0.34 <sup>b</sup> | 5.92 ± 0.65 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 92.71 ± 0.10 <sup>c</sup>  | -2.18 ± 0.10 <sup>a</sup>  | 15.06 ± 0.19 <sup>c</sup> | 5.99 ± 0.08 <sup>b</sup> |
|                         | 1          | 94.96 ± 0.16 <sup>aA</sup> | -2.56 ± 0.02 <sup>cD</sup> | 7.96 ± 0.14 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
| <b>Zn<sub>25</sub>N</b> | 15         | 94.69 ± 0.27 <sup>b</sup>  | -2.35 ± 0.15 <sup>b</sup>  | 10.61 ± 0.77 <sup>b</sup> | 4.27 ± 0.01 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 93.55 ± 0.41 <sup>c</sup>  | -2.36 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 14.00 ± 0.94 <sup>c</sup> | 3.17 ± 0.13 <sup>b</sup> |
|                         | 1          | 94.38 ± 0.15 <sup>aA</sup> | -2.56 ± 0.02 <sup>cD</sup> | 8.13 ± 0.08 <sup>aA</sup> | 0.00 ± 0.00 <sup>c</sup> |
| <b>Zn<sub>50</sub>M</b> | 15         | 93.20 ± 0.69 <sup>b</sup>  | -2.23 ± 0.21 <sup>b</sup>  | 12.32 ± 0.02 <sup>b</sup> | 5.32 ± 0.68 <sup>a</sup> |
|                         | 29         | 93.11 ± 0.56 <sup>c</sup>  | -2.04 ± 0.10 <sup>a</sup>  | 13.97 ± 0.08 <sup>c</sup> | 1.84 ± 0.91 <sup>b</sup> |

\* Media de tres replicas. Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Letras minúsculas para diferencias durante el almacenamiento. Letras mayúsculas para diferencias entre muestras.  $\Delta E$  cambio neto de color durante el almacenamiento.

### Analisis de perfil de textura (TPA)

La evolución de las propiedades de textura analizadas por parámetros de TPA se muestra en la Tabla 9. Los resultados para la prueba de dureza como fuerza necesaria para alcanzar una deformación (Castro et al., 2014) mostraron que los quesos fortificados con nano y micro minerales de calcio con las concentraciones más altas del mineral (Ca30N y Ca30M) y la muestra control obtuvieron los valores más altos de dureza de 10.6 a 16.0 N para la muestra Ca30N y de 10.2 a 17.7 N para las muestras fortificadas con micro calcio Ca30M y de 8.8 a 15.6 N para el control, mostrando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) con respecto a las muestras fortificadas con hierro y zinc (nano y micro). Esto indica que el calcio interactúa con la estructura proteica de caseína haciendo el queso más firme (Ginee et al., 2002; Ramírez-López y Vélez-Ruiz, 2012).

Por otro lado, la adhesividad se considera como la medida del trabajo necesario para vencer las fuerzas de atracción entre la superficie del alimento y la superficie de otros materiales (Castro, Novoa, Algecira y Buitrago, 2014) por ejemplo durante la masticación la adhesividad corresponde a la fuerza requerida para retirar el material que se adhiere al paladar durante el consumo de alimentos. Los resultados de adhesividad mostraron que los valores observados para la muestra fortificada con hierro micro (FZ50M) fueron significativamente más altos ( $P < 0.05$ ) en comparación con la muestra control, en el rango de -0.6 a -0.7 N-mm. Contrariamente, las muestras fortificadas con nanominerales de hierro y zinc (FZ50N y

Zn50N) tuvieron los valores más bajos de -1.2 a -1.3 y de -1.1 a -1.7 N-mm, respectivamente (Tabla 9). Los resultados obtenidos sugieren que los quesos con nanopartículas mostraron una ventaja, ya que se considera un atributo positivo que la muestra no se adhiere a los dientes y al paladar, este efecto puede ser debido a que los nanominerales son más solubles en comparación con los minerales micro, logrando mayor estabilidad en la estructura proteica (Santillán-Urquiza et al., 2017; Osorio-Tobón et al., 2005).

La cohesividad representa el punto límite hasta el cual puede deformarse el material antes de romperse (Osorio-Tobón et al., 2005). Los resultados muestran que no hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las muestras fortificadas con calcio, hierro y zinc (nano y micro), ni con respecto al control (Tabla 9). Este comportamiento puede deberse a que los quesos frescos no llevan a cabo un proceso de maduración, por lo tanto, los resultados de cohesividad para todas las muestras fortificadas y el queso control, no mostraron diferencia entre las muestras frescas al día 1 y a los 29 días de almacenamiento con valores obtenidos de 23 a 26. Los resultados observados concuerdan con los valores de dureza, adhesividad y cohesividad, para queso Panela también reportados por Lobato-Calleros, Lozano-Castañeda y Vernon-Carter (2009) y Guerra- Martínez et al. (2012). Durante el almacenamiento hubo un incremento significativo de dureza de todas las muestras, lo que sugiere un reordenamiento en la estructura de la caseína.

**Tabla 9.** Pruebas de textura de quesos frescos fortificados (29 días de almacenamiento)\*.

| Muestras | Tiempo (días) | Dureza (N)                 | Adhesividad (N-mm)          | Cohesividad (adimensional) |
|----------|---------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Control  | 1             | 8.77 ± 0.23 <sup>cAB</sup> | -0.47 ± 0.05 <sup>aAB</sup> | 0.23 ± 0.02 <sup>aA</sup>  |
|          | 15            | 14.74 ± 0.37 <sup>b</sup>  | -1.06 ± 0.08 <sup>b</sup>   | 0.23 ± 0.03 <sup>a</sup>   |
|          | 29            | 15.60 ± 0.03 <sup>a</sup>  | -1.87 ± 0.37 <sup>c</sup>   | 0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>   |

|                         |    |                             |                             |                           |
|-------------------------|----|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| <b>Ca<sub>30</sub>N</b> | 1  | 10.56 ± 0.26 <sup>cAB</sup> | -0.58 ± 0.09 <sup>aAB</sup> | 0.24 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 11.95 ± 0.43 <sup>b</sup>   | -1.20 ± 0.21 <sup>b</sup>   | 0.23 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 16.50 ± 0.35 <sup>a</sup>   | -1.42 ± 0.21 <sup>c</sup>   | 0.22 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>15</sub>N</b> | 1  | 5.33 ± 0.72 <sup>cCD</sup>  | -0.41 ± 0.02 <sup>aAB</sup> | 0.25 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 6.95 ± 0.39 <sup>b</sup>    | -1.12 ± 0.24 <sup>b</sup>   | 0.25 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 10.92 ± 0.75 <sup>a</sup>   | -1.23 ± 0.19 <sup>c</sup>   | 0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>Ca<sub>30</sub>M</b> | 1  | 10.21 ± 0.78 <sup>cA</sup>  | -0.72 ± 0.23 <sup>aAB</sup> | 0.24 ± 0.03 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 15.95 ± 0.29 <sup>b</sup>   | -0.81 ± 0.20 <sup>b</sup>   | 0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 17.72 ± 0.29 <sup>a</sup>   | -1.34 ± 0.25 <sup>b</sup>   | 0.23 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
| <b>FZ<sub>50</sub>M</b> | 1  | 4.98 ± 0.90 <sup>cCD</sup>  | -0.63 ± 0.16 <sup>aA</sup>  | 0.24 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 10.90 ± 0.12 <sup>b</sup>   | -0.72 ± 0.20 <sup>b</sup>   | 0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 11.89 ± 0.65 <sup>a</sup>   | -0.73 ± 0.01 <sup>c</sup>   | 0.22 ± 0.02 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>25</sub>N</b> | 1  | 6.28 ± 0.39 <sup>cCD</sup>  | -0.87 ± 0.08 <sup>aAB</sup> | 0.25 ± 0.01 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 7.15 ± 0.61 <sup>b</sup>    | -1.12 ± 0.26 <sup>b</sup>   | 0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 8.75 ± 0.13 <sup>a</sup>    | -1.15 ± 0.34 <sup>c</sup>   | 0.24 ± 0.00 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>N</b> | 1  | 3.57 ± 0.06 <sup>cD</sup>   | -1.13 ± 0.34 <sup>aB</sup>  | 0.24 ± 0.02 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 6.64 ± 0.29 <sup>b</sup>    | -1.19 ± 0.12 <sup>b</sup>   | 0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 7.53 ± 0.58 <sup>a</sup>    | -1.69 ± 0.14 <sup>b</sup>   | 0.24 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
| <b>Zn<sub>50</sub>M</b> | 1  | 6.58 ± 0.23 <sup>cCD</sup>  | -0.37 ± 0.03 <sup>aAB</sup> | 0.23 ± 0.00 <sup>aA</sup> |
|                         | 15 | 7.85 ± 0.93 <sup>b</sup>    | -1.10 ± 0.22 <sup>b</sup>   | 0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>  |
|                         | 29 | 8.75 ± 0.13 <sup>a</sup>    | -1.15 ± 0.06 <sup>c</sup>   | 0.25 ± 0.04 <sup>a</sup>  |

\* Media de tres replicas. Valores con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Letras minúsculas para diferencias durante el almacenamiento. Letras mayúsculas para diferencias entre muestras.  $\Delta E$  cambio neto de color durante el almacenamiento.

## Creep

La prueba de fluencia o creep es una prueba dependiente del tiempo que representa deformaciones similares a las aplicadas cuando la cuajada es prensada para la expulsión del suero, causando el rompimiento de interacciones de componentes estructurales (Castro et al., 2014).

Se realizaron pruebas preliminares para determinar la fuerza necesaria para deformar el queso Panela de acuerdo a lo reportado en otros trabajos donde reportan fuerzas aplicadas para la deformación con una variación de 0.7 a 1.5%. Correspondiendo a 1 N, la fuerza necesaria para deformar los quesos fortificados con nano y micro minerales y el control elaborados en el laboratorio, determinándolo por medio del

análisis de las gráficas de creep (Castro et al., 2014; Osorio- Tobón et al., 2005). Las Figuras 3a y 3b muestran las curvas para la prueba de creep, donde se observa el porcentaje de deformación de los quesos Panela fortificados con nano y micro minerales al aplicarles 1N de fuerza durante 180 s. Se puede observar en la figura 1a, que el porcentaje de deformación aumentó con respecto al tiempo hasta llegar a un punto máximo para luego decaer un poco. Los quesos fortificados con nano minerales de calcio (Ca<sub>30</sub>N) mostraron diferencias significativas en el porcentaje de deformación con valores más bajos, entre 1 y 1.5 % (Figura 3a), lo que concuerda con los valores de dureza observados (Tabla 9), ya que a mayor dureza menor deformación; este comportamiento de

efecto de dureza en las curvas de creep fue reportado por Osorio-Tobón et al. (2005) en un queso Edam.

Por otro lado, los resultados del porcentaje de deformación con respecto al tiempo para todas las muestras analizadas de queso fortificado con nano y micro minerales y para el control al día 29 fue entre 1.5 y 3 %, sin mostrar diferencias significativas con los valores de las curvas observadas al día 1 (Figura 3a). Lo que sugiere que el tiempo de almacenamiento no tuvo efecto en el porcentaje de deformación debido

a que la estructura de las muestras se conservó estable durante este tiempo, este efecto puede estar relacionado con la estabilidad en los valores de humedad, pH y acidez reportados, debido a que variaciones en el pH relacionado con la producción de ácido láctico puede desestabilizar las fuerzas iónicas que mantienen la red de caseínas, generando quesos con mayor humedad y menos compactos, lo que pudiera generar una diferencia en el porcentaje de deformación de los quesos (Ramírez- López y Vélez- Ruiz, 2012).

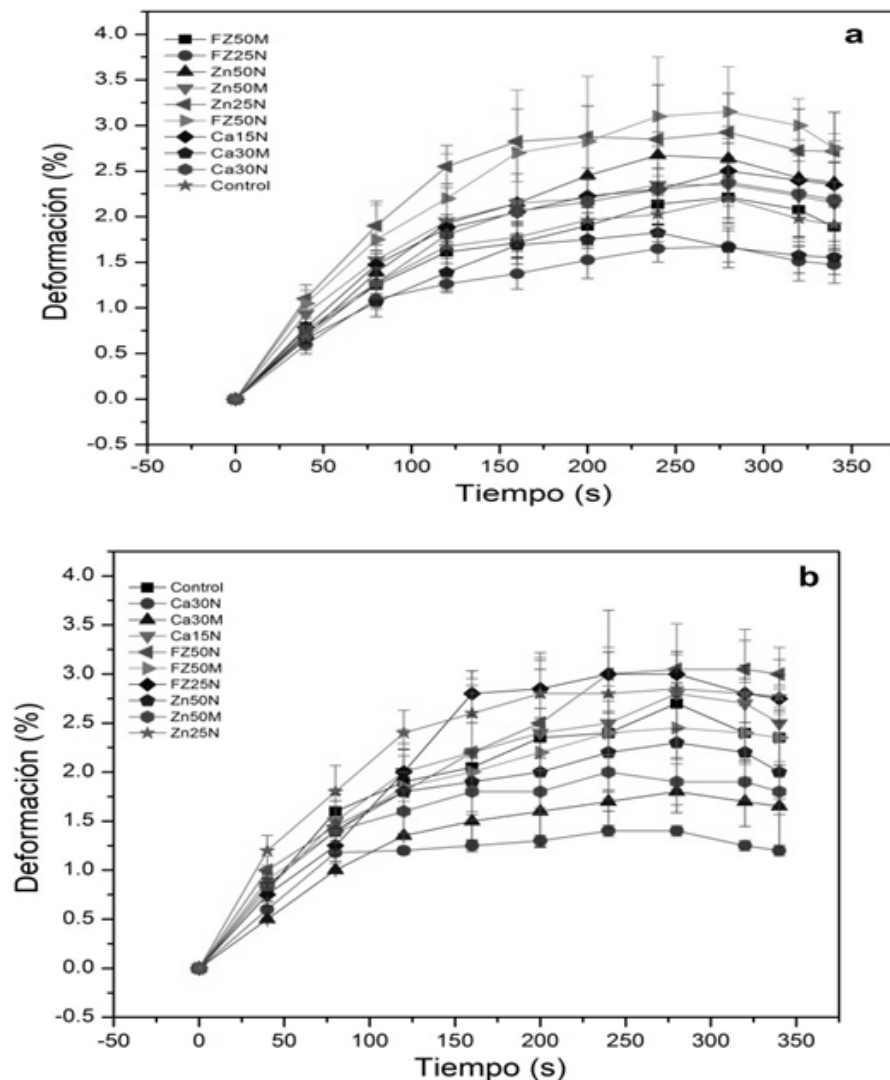


Figura 3. Curvas de creep para las muestras de queso fortificadas con am minerales y un queso control, ( a) día 1 y (b) 29 días de almacenamiento. Elaboración propia.

### Relajación del esfuerzo

En un ensayo de relajación, la muestra es expuesta a una deformación constante por compresión entre dos platos paralelos y se monitorea el esfuerzo resultante durante un tiempo determinado. La curva de fuerza (N) contra tiempo (s) se utiliza para determinar la fuerza necesaria para generar una deformación dada y posteriormente se hace el seguimiento de la relajación o disminución del esfuerzo (Castro et al., 2014).

Los resultados de las curvas de relajación sugieren que las muestras de queso fortificadas con nano y micro minerales, así como con el queso control tuvieron el mismo comportamiento, es decir no hubo diferencia significativa. En las figuras 4a y 4b, se observa que los quesos

fortificados con nano y micro minerales y el control mostraron una deformación máxima entre 1 y 1.1 N a los 90 s, posteriormente se presenta una fase estacionaria durante 200 s, expresando la parte sólida y ocupando la mayor parte de la prueba (57% del tiempo), para terminar propiamente con la relajación a partir de los 300 s. La relajación observada posteriormente a la fase estacionaria, representa 40-50% de la fuerza aplicada en la primera compresión, es decir del orden de 0.5-0.6 N. Lo que indica que la textura predominantemente sólida de las muestras, no fue afectada por la adición de los minerales en la fortificación. Un comportamiento semejante fue reportado por Osorio-Tobón et al. (2005) en un queso Edam.

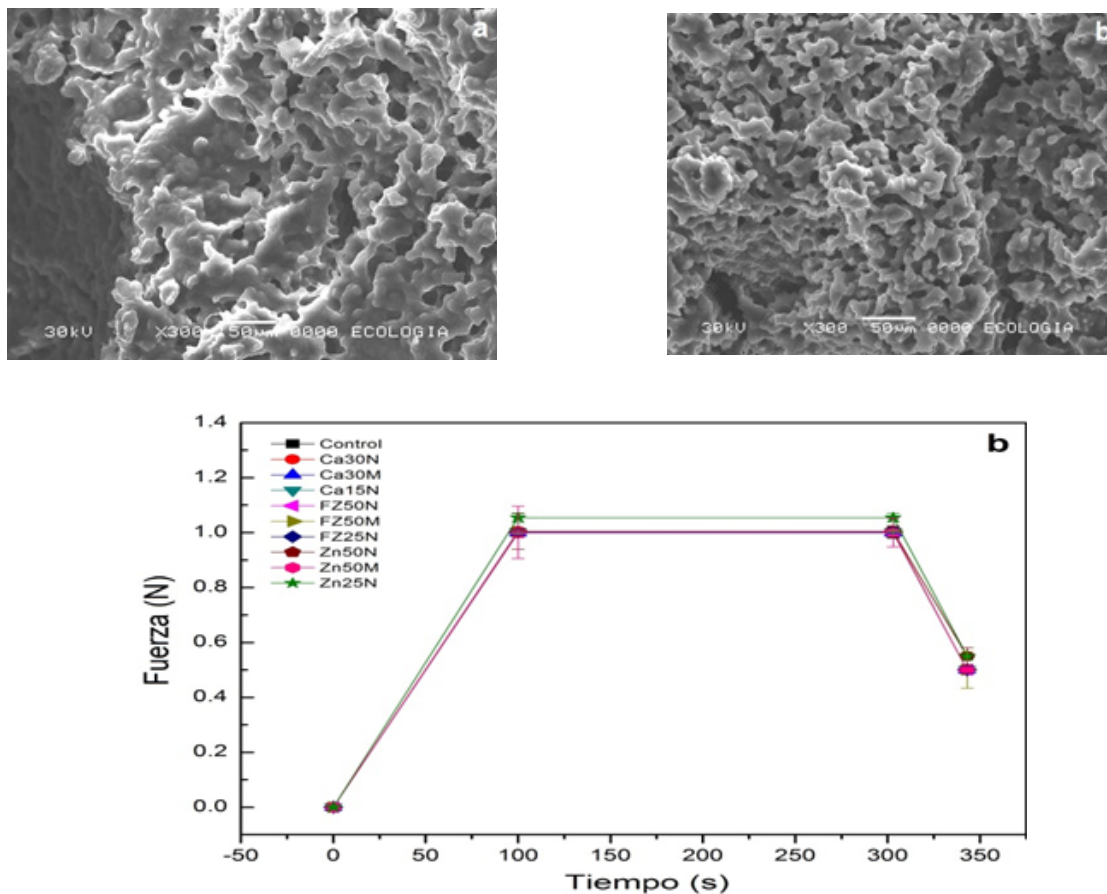


Figura 4. Curvas de relajación para quesos fortificadas con nano y micro minerales y queso control, (a) día 1, (b) 29 días almacenamiento. Elaboración propia.

### Microestructura (MEB)

Se utilizó microscopía electrónica de barrido para observar el efecto de la fortificación con nano y micro minerales de calcio, hierro y zinc en la microestructura de los quesos y en la muestra control. Algunas de las micrografías realizadas, están incluidas en la Figura 5. La micrografía 5a corresponde al queso control, la 5b a la muestra fortificada con nanopartículas de calcio, y la 5c a la muestra fortificada con nanopartículas de hierro. En las cuales se puede observar una red tridimensional continua con huecos romboides y circulares de diferentes tamaños uniformemente distribuidos en una

estructura compacta. Mientras que en las muestras de queso fortificadas con zinc nano (5d) y micro (5e), se puede observar una estructura más abierta o menos compacta en comparación con las otras.

En general en todas las micrografías se puede observar la estructura característica para muestras de queso fresco, lo que concuerda con las pocas diferencias que se pueden observar en las pruebas de textura. Las micrografías son parecidas a la observada por Escobar et al. (2012) para queso panela con probióticos y por Jiménez-Guzmán et al. (2009) en queso Panela, también.

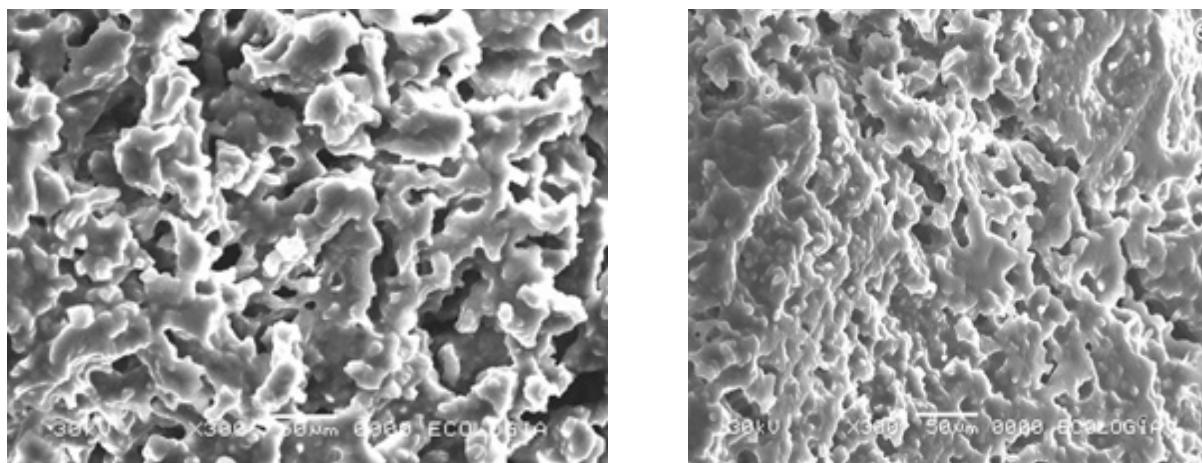


Figura 5. Micrografías de queso Panela, (a) control, (b) fortificado con nanopartículas de calcio, (c) fortificado con nanopartículas de hierro, (d) fortificado con nanopartículas de zinc, (e) fortificado con microminerales de zinc. Elaboración propia.

### Evaluación sensorial

Para determinar la aceptación sensorial de los quesos fortificados con calcio (Ca30N), zinc (Zn50N y Zn50M) y hierro (FZ50N) y el queso control, se realizó una prueba de aceptación con un grupo de 25 panelistas no entrenados. La Figura 6 muestra los resultados obtenidos en la degustación de las muestras de queso con nano y micro minerales y el queso control. En general las muestras fortificadas con calcio, zinc y el control, mostraron los valores más altos para los cinco atributos analizados y fueron evaluados como muestras similares, sin diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Por

su parte, la muestra fortificada con hierro mostro valores significativamente más bajos en los cinco atributos, debido al color rosa que adquirió por la adición del óxido de hierro.



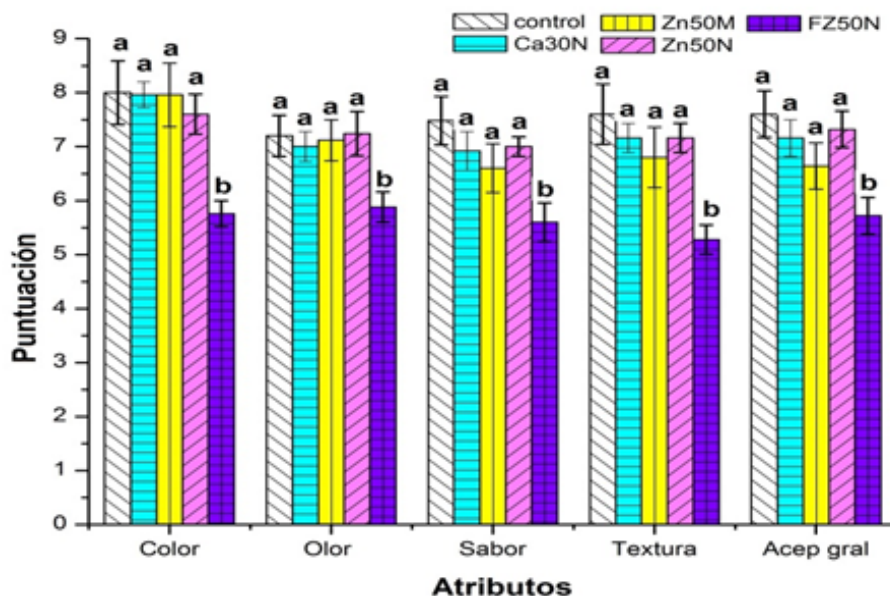


Figura 6. Resultados de la evaluación sensorial de quesos fortificados con calcio (Ca30N), zinc (Zn50N y Zn50M) y hierro (FZ50N) y el control, para los atributos de color; olor, sabor, textura y aceptación general, las muestras con letras diferentes denotan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ). Elaboración propia.

Los resultados sugieren que los quesos fortificados con nanopartículas de zinc mostraron buena aceptación, lo que le brinda un valor agregado, debido a que el queso Panela es un producto con valor nutricional y ampliamente consumido, pero con bajos niveles de zinc. Por otro lado, las nanopartículas de calcio y zinc se incorporaron en las muestras de queso en niveles de IDR de 30% para Ca y de 50% para Zn, sin causar cambios significativos en su aceptación. Los resultados de nuestra evaluación sensorial del queso Panela son similares a los reportados por Escobar et al. (2012) y Jiménez-Guzmán et al. (2009) para el mismo tipo de queso, aun utilizando diferentes formulaciones.

## Conclusiones

Este trabajo condujo a la preparación de un yogur y un queso fortificados con nanopartículas, para consumo humano, que potencialmente puede contribuir con iones de Ca (II), Fe (III) y Zn (II). Para determinar el efecto y las diferencias entre la fortificación con

nanopartículas y con micro minerales respecto a una muestra control (sin minerales), se realizó el análisis de las propiedades fisicoquímicas y reológicas en ambos productos lácteos, tanto en muestras frescas, como almacenadas.

El pH, la acidez, la humedad y la densidad no fueron significativamente diferentes, en ambos productos, los cambios con respecto al tiempo fueron notables en el yogur y no en el queso. Los resultados de los parámetros de color mostraron diferencias significativas sólo para el yogur y el queso fortificados con hierro. La sinéresis mostró una disminución importante en algunas de las muestras de yogur fortificadas con nanopartículas, lo que se considera como un valor añadido. Todos los yogures fortificados y el control mostraron un comportamiento no newtoniano, correspondiendo al modelo de Herschel-Bulkley un mejor ajuste. Los yogures fortificados con nanopartículas de calcio y zinc mostraron diferencias significativas en parámetros como la consistencia y la firmeza en comparación con las muestras que contienen hierro y el control.

En los resultados de la digestibilidad con el yogur, las nanopartículas de calcio, hierro y zinc mostraron más solubilidad que los microminerales. Y en términos generales, las muestras de yogur fortificado fueron sensorialmente bien aceptadas, se observó que las mejores puntuaciones fueron obtenidas por las muestras fortificadas con nanopartículas de Ca30N y Zn50N para todos los atributos. En general, las muestras fortificadas con nanopartículas presentaron ventajas frente a la fortificación convencional utilizando microminerales y comparadas con el control, debido a que presentan mejoras en aspectos que son importantes para determinar la calidad del yogur.

Los resultados de TPA, mostraron que la dureza de quesos fortificadas con calcio (nano y micro) tuvo los valores más altos y la prueba de adhesividad tuvo los valores más bajos. Por otro lado, en las curvas de creep y relajación del esfuerzo se observó que los quesos fortificados con calcio (nano y micro) obtuvieron la menor deformación y expresaron la naturaleza sólida de las muestras.

En general, las muestras fortificadas con nanopartículas de calcio y zinc presentaron buenos atributos y aceptación sensorial en los niveles de fortificación propuestos, mientras que las muestras fortificadas con hierro presentaron buenos atributos de textura, pero debido al color rosado no resultó atractivo para los consumidores, obteniendo los puntajes más bajos de la escala hedónica.

## Agradecimientos

La autora Santillán-Urquiza reconoce el apoyo financiero para sus estudios de doctorado en Ciencias de la Alimentación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT-México) y la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP). Agradecemos a Fernando Arteaga Cardona (UDLAP) por su valiosa participación y sugerencias.

## Referencias

- Achanta, K., Aryana, K.J., y Boeneke, C.A. (2007). Fat-free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT- Food Science and Technology*, 40, 424-429.
- A.O.A.C. (2000). Official methods of analysis of AOAC. Gaithersburg, Maryland. E.U.A.
- Aportela-Palacios, A., Sosa-Morales, M.E., y Vélez-Ruiz, J.F. (2005). Rheological and physicochemical behavior of fortified yogurt, with fiber and calcium. *Journal of Texture Studies*, 36, 333-349.
- Argyri, K., Birba, A., Miller, D., Komaitis, M., y Kapsokfalou, M. (2009). Predicting relative concentrations of bioavailable iron in foods using in vitro digestion: New developments. *Food Chemistry*, 113, 602-607.
- Basak, S., y Ramaswamy, H. (1994). Simultaneous evaluation of shear rate and time dependency of stirred yogurt rheology as influenced by added pectin and strawberry concentrate. *Journal of Food Engineering*, 21, 385-393.
- Castro, A.C., Novoa, C.F. Algecira, N., y Buitrago, G. (2014). Reología y textura de quesos bajos en grasa. *Reunión Especializada de Ciencia y Tecnología*, 22, 58-66.
- Cilla, A., Perales, S., Lagarda, M.J., Reyes Barbera, E. y Farre, R. (2008). Iron bioavailability in fortified fruit beverages using ferritin synthesis by Caco-2 cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 8699-8703.
- Damin, M.R., Alcántara, M.R., Nunes, A.P. y Oliveira, M.N. (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and

- Estructure of nonfat stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1744-1750.
- Dello-Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M., y Bevilacqua, A. (2004). Influence of dietary fibre addition on sensory and rheological properties of yoghurt. *International Dairy Journal*, 14, 263-268.
- Díaz-Jiménez, B., Sosa-Morales, M.E. y Vélez-Ruíz, J.F. (2004). Efecto de la adición de fibra y la disminución de grasa en las propiedades fisicoquímicas del yogur. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 3, 287-305.
- Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., y Shah, N.P. (2007). Rheological properties and sensory characteristics of set-type soy yogurt. *Agricultural and Food Chemistry*, 55, 9868-9876.
- Drago, S., y Valencia, M.E. (2002). Effect of fermentation on iron, zinc, and calcium availability from iron-fortified dairy products. *Journal of Food Science*, 67, 3130-3134.
- El-Kholy, A.M., Osman, M., Gouda, A., y Ghareeb, W.A. (2011). Fortification of yoghurt with iron. *World Journal of Dairy and Food Sciences*, 6, 159-165.
- Escobar, M. C., Van Tassell, M. L., Martínez-Bustos, F., Singh, M., Castaño-Tostado, E., Amaya-Llano, S. L. y Miller, M. J. (2012). Characterization of a Panela cheese with added probiotics and fava bean starch. *Journal of Dairy Science*, 95:6, 2779–2787.
- Fayed, A. (2015). Health benefits of some physiologically active ingredients and their suitability as yoghurt fortifiers. *Journal of Food Science and Technology*, 52 (5), 2512-2521.
- Gahruie, H.H., Eskandari, M.H., Mesbahi, G., y Hanifpour, M. A. (2015). Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. *Food Science and Human Wellness*, 4, 1-8.
- Guerra-Martínez, J.A. Montejano, J.G. y Martín-del-Campo, S.T. (2012). Evaluación de cambios proteolíticos y fisicoquímicos durante almacenamiento de queso panela de Querétaro, México, y su impacto en la textura. *Ciencia y Tecnología de los Alimentos CyTA*, 10:4, 296–305.
- Guinee, T.P., Feeney, M.A., Auty, E., y Fox, P.F. (2002). Effect of pH and calcium concentration on some textural and functional properties of mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 85:7, 1655-1669.
- Heaney, R.P., Rafferty, K., Dowell, M.S., y Bierman, J. (2005). Calcium fortification systems differ in bioavailability. *Journal of the American Dietetic Association*, 105, 807-809.
- Jiménez -Guzmán, J., Flores-Nájera, A., Cruz-Guerrero, E., y García-Garibay, M. (2009). Use of an exopolysaccharide-producing strain of *Streptococcus thermophilus* in the manufacture of Mexican Panela cheese. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 1508–1512.
- Kahyaoglu, T., Kaya, S., y Kaya, A. (2005). Effects of fat reduction and curd dipping temperature on viscoelasticity, texture and appearance of gaziantep cheese. *Food Science and Technology International*, 11, 191-198.
- Karam, M., Gaiani, C., Hosri, C., Burgain, J., y Scher, J. (2013). Effect of dairy powders fortification on yogurt textural and sensorial properties: a review. *Journal of Dairy Research*, 80, 400–409.
- Lee, W.J., y Lucey, J.A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 23, 1127-1136.
- Lobato-Calleros, C., Lozano-Castañeda, I., y Vernon-Carter, E.J. (2009). Textura y

microestructura de quesos tipo panela bajos en grasa y en colesterol: diferentes metodologías. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 1:1, 39-48.

Lobato-Calleros, C., Ramos-Solís, L., Santos-Moreno, A., y Rodríguez-Huezo, M. E. (2006). Microestructura y textura de productos imitación de queso panela: uso de pectina de bajo metoxilo y aceite de canola como sustitutos de la grasa láctea. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 5, 71-79.

Mckinley, M. C. (2005). The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 58 (1), 1-12.

Mehar-Afroz, Q., Swaminathan, K., Karthikeyan, P., Pervez, K., y Umesh, M. (2012). Application of nanotechnology in food and dairy processing: An overview. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 22 (1), 23-31.

Ocak, E., y Köse, S. (2010). The effects of fortifying milk with Cu, Fe and Zn minerals on the production and texture of yoghurt. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8, 122-125.

Osorio-Tobón, J.F., Ciro-Velásquez, H. J., y Mejía, L., G. (2005). Rheological and textural characterization of the edam cheese. *DYNA*, 72: 147, 33 - 45.

Peng, Y., Serra, M., Horne, D.S., y Lucey, J.A. (2009). Effect of fortification with various types of milk proteins on the rheological properties and permeability of nonfat set yogurt. *Journal of Food Science*, 74, C666-673.

Ramírez-López, C., y Vélez-Ruiz J.F. (2012). Quesos frescos: propiedades, métodos de determinación y factores que afectan su calidad. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6: 2, 131-148.

Ramírez-Sucre, M.O., y Vélez-Ruiz, J.F. (2013).

Physicochemical, rheological and stability characterization of a caramel flavored yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 51, 233-241.

Rojas-Castro, W.N., Chacón-Villalobos, A., y Pineda-Castro, M.L. (2007). Características del yogurt batido de fresa derivadas de diferentes proporciones de leche de vaca y cabra. *Agronomía Mesoamericana*, 18, 221-237.

Santillán-Urquiza, E., Arteaga-Cardona, F., Hernández-Herman, E., Pacheco-García P.F., González-Rodríguez, R., Coffey, J.L., Mendoza-Álvarez, M.E., Vélez-Ruiz, J.F., y Méndez-Rojas, M.A. (2015). Inulin as a novel biocompatible coating: Evaluation of surface affinities toward CaHPO<sub>4</sub>, -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO, CaHPO<sub>4</sub>@ZnO and -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@ZnO nanoparticles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 460, 339-348.

Santillán-Urquiza, E., Ruiz-Espinosa, H., Angulo-Molina, A., Velez-Ruiz, J.F., y Méndez-Rojas, M.A. (2017). Applications of nanomaterials in functional fortified dairy products: benefits and implications for human health. A. M. Grumezescu (Ed.), in *Nanotechnology in the Agri-Food Industry, Nutrient Delivery* (pp. 293-328). Netherlands, Elsevier Inc.

Sfakianakis, P., y Tzia, C. (2014). Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: a review. *Review Foods*, 3, 176-192.

Singh, G., y Muthukumarappan, K. (2008). Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1145-1152.

Torres-Vitela, M.R., Mendoza-Bernardo, M., Castro-Rosas, J., Gómez-Aldapa, C. A., Garay-Martínez, L. E., Navarro-Hidalgo V., y

Villarruel- López, A. (2012). Incidence of salmonella, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, and Staphylococcal enterotoxin in two types of mexican fresh cheeses. *Journal of Food Protection*, 75:1, 79-84.

Wadhvani, R. y McMahon, D. J. (2012). Color of low-fat cheese influences flavor perception and consumer liking. *Journal of Dairy Science*, 95: 5, 2336-2346.

Walia, A., Mishra, N., y Pradyuman (2009). Effect of fermentation on physicochemical, textural properties and yoghurt bacteria in mango soy fortified yoghurt. *African Journal of Food Science*, 7, 120-127.

Yue-Jian, C. (2010). Synthesis, self-assembly and characterization of PEG-coated iron oxide nanoparticles as potential MRI contrast agent. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 36, 1235-1244.